

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária

Indicadores da distribuição espacial e temporal de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) associados às variáveis climáticas, ambientais e transmissão de dengue

por

Nildimar Alves Honório

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz para obtenção do grau de doutor em ciências. Área de concentração: Entomologia.

**Orientadores: Dr. Ricardo Lourenço-de-Oliveira
Dra. Cláudia Torres Codeço**

Julho 2009

Trabalho realizado durante o período de 2005 a 2009, no Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz-IOC, Fundação Oswaldo Cruz, sob orientação do Dr. Ricardo Lourenço-de-Oliveira e no Programa de Computação Científica-PROCC, Presidência da Fundação Oswaldo Cruz, sob a orientação da Dra. Cláudia Torres Codeço.

Honório, Nildimar Alves

Indicadores da distribuição espacial e temporal do *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) associados às variáveis climáticas, ambientais e transmissão de dengue. Rio de Janeiro, 2009. 174p.

Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) Instituto Oswaldo Cruz.

1- *Aedes aegypti* 2. indicadores 3. armadilhas 4. espaço-temporal 5. clima
6. dengue

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz
Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária

Indicadores da distribuição espacial e temporal do *Aedes*
(*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)
associados às variáveis climáticas, ambientais e
transmissão de dengue

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção de grau em Doutor em Biologia Parasitária, área de concentração em Entomologia.

Banca Examinadora

Dra. Denise Valle –Presidente da banca examinadora

FIOCRUZ/Instituto Oswaldo Cruz- Laboratório de Fisiologia e Controle de
Artrópodes Vetores-Laficave

Dr. Leon Phil Lounibos

Universidade da Flórida, USA

Dr. Guilherme Loureiro Werneck

UFRJ/Núcleo de Saúde Coletiva

Suplentes

Dr. Reinaldo Souza-Santos

FIOCRUZ/Escola Nacional de Saúde Pública/Departamento de Endemias

Dra. Flávia Barreto dos Santos

FIOCRUZ/Instituto Oswaldo Cruz- Laboratório de Flavivírus

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Maurílio Honório e Nizete Honório, ao meu querido filho, Pedro Henrique e ao meu adorado marido, Glauber Rocha, cujos exemplos de dedicação, amor, persistência me ampararam ao longo deste estudo.

Quero ainda dedicar a minha tese de doutorado aos agentes de endemias, cujo trabalho de campo, muitas vezes sem o reconhecimento devido, ajuda não só a apontar caminhos para o controle, mas também fundamenta a pesquisa básica auxiliando os pesquisadores a encontrar respostas e fazer novas perguntas para entender melhor a biologia e a ecologia dos vetores.

Agradecimentos

Ao Dr. Ricardo Lourenço-de-Oliveira, pela amizade, competência científica, orientação segura, incentivo durante a minha carreira científica e pelos preciosos ensinamentos no mundo da entomologia médica.

À Dra Claudia Torres Codeço, pela amizade, pelo entusiasmo, pela orientação incansável e pela preciosa troca de conhecimentos e informações que constituíram os pilares da presente tese.

À Dra. Denise Valle pela amizade, pela revisão criteriosa e segura dos manuscritos, assim como pelas valiosas discussões ao longo deste estudo.

Aos amigos do Laboratório de Transmissores de Hematozoários: Teresa Fernandes, Monique Motta, Andiária, Rafael Freitas, Izabel Reis, Cristiane Pereira, Maycon, Glauber Rocha, Roberto Peres, Alexandre, Roberta, Tassiana, Mariana, Gabriel e Anniely, pela amizade, pelo incentivo e apoio constantes, indispensáveis no desenvolvimento deste estudo.

Aos amigos Márcia Castro, André Figueiredo e Francisco Lourenço pela amizade, pelo apoio constante e pela revisão criteriosa do manuscrito da tese.

Em especial aos membros do Laboratório de Transmissores de Hematozoários e do Núcleo de Apoio às Pesquisas em Vetores da Fiocruz (NAPVE) incluídos na dedicatória – Marcelo Quintela, Mauro Menezes, Renato Carvalho, Marcelo Celestino, Crissie Ferraz, Reginaldo Rego, Priscila Pereira, Renata, Luciene Silva, Hosana, Tatiana Docile, Marcelo Vicente, Jefferson Fernandes e Kleber Soares – que atuaram ativamente no campo e no laboratório para que os objetivos desta tese fossem alcançados com êxito.

Aos amigos do Laboratório de Flavivírus: Flávia Barreto, Josélio Araújo, Dinair Couto, Eliane Saraiva, Monique Rocha, Niely, Fernanda, Jaqueline, Simone, Ana, Leda, José Farias, Solange e Denilde pelas discussões, ensinamentos e por viabilizarem as análises sorológicas e moleculares.

Aos amigos do Programa de Computação Científica: Aline Nobre, Oswaldo Cruz, Taynana Simões e Marcel, pela amizade, pelas análises estatísticas e por terem sido fundamentais na discussão dos modelos estatísticos. Especialmente, à Dra. Marília Carvalho agradeço pela amizade, competência científica, entusiasmo e destreza nas análises dos dados.

Aos amigos do Laboratório de Geoprocessamento do Instituto de

Comunicação e Informação Científica e Tecnológica – Mônica Magalhães e Christóvam Barcellos – pela amizade, pelos ensinamentos, discussões e estruturação do desenho do estudo da tese.

À todos os 80 agentes de endemias da Prefeitura Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e da Fundação Nacional de Saúde incluídos na dedicatória que participaram ativamente e com entusiasmo das atividades de campo da presente tese. Também quero agradecer à Denise Pio, à Camila, à Débora, ao André e ao Fernando Alves, que foram extremamente importantes nas atividades de laboratório e supervisão de campo, assim como ao Mauro Blanco, ao Fábio Castello e ao Iran, por terem coordenado com êxito os agentes de endemias.

Ao Leandro Borges e Célio Pinel da União defensora do Meio Ambiente (UADEMA) que foram indispensáveis à finalização da tese, pelo apoio e liberação dos agentes da UADEMA e infra-estrutura do NAPVE para a triagem de todo o material coletado no campo.

À todos os motoristas da Administração do Campus da Fiocruz (DIRAC), que sempre com muito carinho e dedicação nos conduziram para os nossos locais de coleta, assim como aos chefes Tadeu e Robson pela excelente atuação e competência, que nunca permitiram que estivéssemos ausentes do campo.

Aos moradores de Higienópolis, Tubiacanga e Palmares, por terem cedido suas residências para que as armadilhas de mosquitos pudessem ter sido avaliadas durante 18 meses ininterruptos. Também gostaria de agradecer à todos que participaram dos inquéritos sorológicos.

Aos amigos e amigas do Programa de Controle da Dengue em Manguinhos (PCDM) Elizabeth Campos, Cristina Barros, Mayalu Matos, Alexandre Pessoa, Carmen Romero, Lúcia Ballester, Maria de Lourdes, Leonídio Madureira, pela amizade, apoio, incentivo e troca de experiências sobre a dengue e seus vetores. Em especial agradeço ao Paulo Bruno pela amizade, competência e cuidado ao corrigir os manuscritos da tese.

À querida amiga Dra. Maria Goreti meus sinceros agradecimentos pela amizade, pelas discussões, pelos comentários, revisões e sugestões valiosas com relação aos manuscritos da tese.

Aos amáveis pesquisadores, Dra. Rita Nogueira e Dr. Herman

Schatzmayr, pela amizade, pela oportunidade de poder processar as amostras sorológicas em seus laboratórios, pela discussão e pelos ensinamentos valiosos relacionados à dengue.

Ao Dr. Antonio Camacho pela rica orientação, pela discussão e pelos ensinamentos relacionados aos inquéritos sorológicos.

Ao adorável amigo Paulo Sabroza, minha eterna gratidão por ter tido a oportunidade de compartilhar, discutir e aprender mais um pouco sobre a dinâmica de transmissão do dengue e dos seus vetores. Agradeço por todas as idéias, sugestões e críticas recebidas na elaboração da tese.

Aos amigos Phil Lounibos e Steven Juliano pela amizade, competência científica, revisão criteriosa de alguns manuscritos da tese e oportunidade de conviver com pesquisadores brilhantes comprometidos com a pesquisa científica.

À Esther e à Ângela do apoio administrativo do Instituto Oswaldo Cruz, pela amizade e pelo auxílio constante durante a feitura desta tese.

Ao Maurício Vilela, Elizabeth Rangel, Simone Freitas, Sílvia Menezes, Wagner Costa, Tamara Camara, Ronaldo Figueiró, Maria Luiza, Jerônimo Alencar, Heraldo Vasconcelos e Samuel Araújo pelo estímulo, apoio constante e amizade.

À coordenação da Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz pelo apoio durante a realização desta tese.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro ao trabalho.

Ao meu marido Glauber Rocha pelo carinho, amor, compreensão infinita, paciência e força em todos os momentos.

À minha família querida pelo carinho, apoio, convivência e por ter sempre acreditado em mim.

Enfim, a finalização desta tese só foi possível com o apoio de muitas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para o seu desenvolvimento.

Índice

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. Dengue.....	3
1.2. Dengue nas Américas.....	3
1.3. Dengue no Brasil.....	5
1.4. Espectro clínico do dengue.....	8
1.5. Diagnóstico laboratorial	9
1.6. Epidemiologia do dengue e importância dos estudos sorológicos no Brasil.....	11
1.7. Vetores do dengue	14
1.7.1. <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus 1762)	14
1.7.2. <i>Aedes albopictus</i> (Skuse 1894)	17
1.8. Ciclo do vírus do dengue em mosquitos.....	17
1.9. Determinantes da distribuição espacial e temporal do <i>Ae. aegypti</i>	18
1.10. Ferramentas de análises espaciais utilizadas em saúde	20
1.11. Inquéritos entomológicos baseados em pesquisas domiciliares	26
1.12. Indicadores de infestação com base em armadilhas.....	28
1.13. Associação entre nível de infestação medido pelos diversos indicadores e risco de transmissão de dengue.....	31
1.14. Justificativa.....	34
2. OBJETIVOS	35
2.1. Objetivo geral	35
2.2. Objetivos específicos	35
3. RESULTADOS	36
3.1. Artigo 1. Temporal distribution of <i>Aedes aegypti</i> in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps	37
3.2. Artigo 2. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil.	52
3.3. Artigo 3. Key Sites for Monitoring <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) Infestation in Three Different Dengue Endemic Environments of Rio de Janeiro, Brazil	89
3.4. Artigo 4. Egg and adult trap for <i>Aedes aegypti</i> suggest different spatial patterns of vector density and determination of dengue risk areas in Rio de Janeiro.....	117
4. DISCUSSÃO	141
5. CONCLUSÕES	151
6. PERSPECTIVAS	153
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	155
8. APÊNDICE	174
Publicações durante a vigência do doutorado relacionadas a biologia e ecologia do <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	

RESUMO

A transmissão do dengue e a densidade populacional do *Aedes aegypti* apresentam-se de forma heterogênea na cidade do Rio de Janeiro. Os padrões de transmissão do dengue são determinados pela combinação de fatores que envolvem o hospedeiro humano, o vírus, o vetor e o ambiente. Objetivou-se estudar os indicadores de distribuição espacial e temporal do *Ae. aegypti* e avaliar sua relação com variáveis climáticas, ambientais e transmissão de dengue em três áreas do Rio de Janeiro com diferentes padrões urbanísticos: urbano, suburbano e favela. Nessas áreas foram implantadas, aleatoriamente, 40 ovitrampas e 40 MosquiTRAPs. As coletas foram realizadas semanalmente de setembro de 2006 a março de 2008, período correspondente a uma grande epidemia no Rio de Janeiro. Soros de indivíduos residentes nas três áreas de estudo foram coletados de julho a novembro de 2007 e fevereiro a abril de 2008. Em nossos resultados obtivemos índices qualitativos e quantitativos característicos de um padrão sazonal da dinâmica populacional do vetor. A ovitrampa apresentou maior sensibilidade do que a MosquiTRAP para detectar a presença do vetor e discriminar áreas de alta infestação na série temporal. Espacialmente, contudo, as duas armadilhas revelaram padrões distintos. As ovitrampas só distinguiram áreas de risco relativo alto ou baixo em locais com pouca infestação. A MosquiTRAP identificou áreas com distintos riscos relativos, independente da densidade do vetor. Pontos estratégicos foram detectados e mapeados, apresentando alta heterogeneidade na produtividade de ovos e adultos de *Ae. aegypti*; evidenciamos ainda a associação entre a infestação nos domicílios e em determinados pontos estratégicos. Observamos nas três áreas o efeito da temperatura e da chuva na semana anterior à coleta sobre a densidade de ovos e adultos de *Ae. aegypti*; as chuvas acontecidas de 3 a 5 semanas antes exerceram um efeito positivo sobre a densidade de ovos e adultos nas áreas; a temperatura média semanal $>22-24^{\circ}\text{C}$ mostrou-se associada à alta abundância do vetor e ao aumento do risco de transmissão de dengue. Durante a epidemia de dengue em 2008, constatamos a co-circulação dos sorotipos DENV-2 e DENV-3 e a predominância das infecções recentes de dengue em crianças <15 anos de idade. Por outro lado, não observamos correlação espacial entre infecções recentes de dengue e a distribuição espacial de *Ae. aegypti* adultos nas áreas de estudo. Constatamos que a proporção de soroconversões de IgM e IgG diferiram por área e identificamos infecções assintomáticas em todas elas, o que sugere a ocorrência de uma circulação silenciosa dos vírus dengue. Identificamos associação entre idade e soroprevalência de dengue nas áreas urbana e de favela. Os resultados da soroprevalência apontaram para maior heterogeneidade espacial do dengue nas áreas suburbana e de favela, com maior soroprevalência nos pontos dos bairros com intensa atividade comercial e movimentação humana. Estudos longitudinais espaço-temporais do dengue e do *Ae. aegypti* em áreas urbanas propiciam melhor entendimento da dinâmica de transmissão e oferecem subsídios para a implementação de estratégias mais eficazes de controle do vetor.

ABSTRACT

Dengue transmission and *Aedes aegypti* population density display heterogeneous patterns in Rio de Janeiro city. Dengue transmission patterns are determined by a combination of factors involving the human host, the virus, the vector and the environment. Our aims were to study spatial and temporal distribution indices of *Ae. aegypti* abundance and their relation with meteorological and environmental variables, as well as dengue transmission, in three distinct urban landscapes of Rio de Janeiro: urban, suburban and slum. In each area 40 ovitraps and 40 MosquiTRAPs were randomly placed. Weekly collections were performed from September/ 2006 to March/ 2008. During this period, a severe dengue epidemic occurred. Sera were collected from individuals living in the studied areas from July to November 2007 and from February to April 2008. Qualitative and quantitative indices of mosquito abundance revealed a seasonal pattern of vector population dynamics. In the time series analysis ovitraps exhibited greater sensitivity than MosquiTRAPs to detect vector presence and to discriminate areas of high infestation. Spatially however, both traps revealed distinct spatial patterns. Ovitrap only distinguished low and high relative risk areas in scenarios of overall low mosquito infestation. MosquiTRAPs, on the other hand, identified areas of different relative risk, independent of vector density. Key sites were identified and mapped, and showed high heterogeneity in the productivity of *Ae. aegypti* adults and eggs. Concurrent infestation of some key sites and neighbor domiciles was also observed. Meteorological variables affecting positively the density of eggs and adults of *Ae. aegypti* and increased risk of transmission of dengue were observed for the three areas: temperature and rainfall in the week prior to collection; rainfall from 3 to 5 weeks lag time, weekly average temperature >22-24°C. During the 2008 dengue epidemic the co-circulation of serotypes DENV-2 and DENV-3 and the predominance of recent dengue infections in children <15 years were observed. No spatial correlation between recent dengue infections and *Ae. aegypti* spatial distribution was observed. IgM and IgG seroconversion proportions differed in the three study areas. Also, asymptomatic infections were detected in all three areas, suggesting a silent transmission of dengue viruses. There was an association between age and seroprevalence of dengue in the urban and slum areas. Dengue seroprevalence showed higher spatial heterogeneity in the suburban and slum areas, with a higher seroprevalence in specific points displaying intense commercial activity and human movements. Spatial and temporal longitudinal studies of dengue and *Ae. aegypti* in urban areas provide a better understanding of dengue transmission dynamics and subsidize the implementation of more effective vector control strategies.

1. INTRODUÇÃO

1.1. DENGUE

O dengue é atualmente considerado a mais importante arbovirose transmitida por mosquitos ao homem, em função da sua morbidade e mortalidade (Gubler & Kuno 1997). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a prevalência global do dengue cresceu exponencialmente nas últimas décadas. As estimativas sugerem que poderão ocorrer de 50 a 100 milhões de casos anuais de dengue, ocasionando aproximadamente 250.000 a 500.000 casos de febre hemorrágica e 24.000 mortes/ano em todo o mundo (OMS 1997, Halstead 2008). É caracterizado como uma doença infecciosa aguda causada por vírus (DENV) de genoma RNA pertencente à família Flaviviridae e ao gênero *Flavivirus*. Até o momento, são conhecidos quatro sorotipos antigenicamente distintos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Halstead 1988, 2008, Gubler 1998). Os sorotipos do vírus do dengue estão presentes em vários países tropicais e subtropicais (Gubler & Kuno 1997). São transmitidos aos seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*. A principal espécie vetora é *Aedes aegypti* (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Gubler & Kuno 1997, OMS 1997).

1.2. DENGUE NAS AMÉRICAS

Os primeiros relatos de dengue no continente americano referiam-se a um surto ocorrido na Filadélfia, Estados Unidos, e foram registrados, em 1780, por Benjamin Rush. Entre os anos de 1780 e 1820, os registros sobre epidemias de dengue na literatura científica foram poucos. Entretanto, epidemias importantes de dengue foram descritas no sul dos Estados Unidos e em países do Caribe, no período compreendido entre 1826 e 1828 (Gubler & Kuno 1997). O sorotipo DENV-3 foi identificado na Jamaica, em 1963, e logo se disseminou para a Martinica, Curaçau, Antigua, Saint Kitts, Sanguilla e Porto Rico, tendo sido responsável pelas principais epidemias das décadas de 1960 e 1970 (Gubler & Kuno 1997, Teixeira et al. 1999). A primeira introdução de vírus dengue devidamente identificado como sorotipo DENV-1 nas Américas ocorreu em 1977. No período que se estendeu até o ano de 1980, mais de

700.000 casos da doença foram notificados nas Américas, quase todos causados pelo DENV-1 (OPAS 1989). Neste mesmo período, o DENV-3 apresentou pouca atividade no continente, com o último isolamento ocorrido em 1978, em Porto Rico (Guzmán et al. 1997, Teixeira et al. 1999). O sorotipo DENV-4 foi introduzido no continente americano em 1981, inicialmente na Ilha de São Bartolomeu, em seguida alcançando o Caribe, o México, os países das Américas Central e do Sul, e, finalmente, tornando-se endêmico em alguns países do continente (Pinheiro 1989). Em Cuba, ainda neste ano, foi registrada a primeira epidemia de dengue hemorrágico causada pelo sorotipo DENV-2, quando ocorreram cerca de 345.000 casos notificados, 116.000 hospitalizações e 158 óbitos (Kouri et al. 1986, 1989, Teixeira et al. 1999, Guzmán et al. 2000). Na década de 1980 houve uma expansão na área de transmissão de dengue, com aumento de casos notificados e circulação concomitante dos sorotipos DENV-1, DENV-2 e DENV-4. Epidemias explosivas de dengue foram registradas, durante a década de 1980, em países que haviam erradicado o mosquito vetor entre as décadas de 1950 e 1970, como foi o caso do Brasil, Bolívia, Equador, Paraguai e Peru (Gubler 1993, OPAS 1997). O sorotipo DENV-3 foi re-introduzido na Nicarágua e no Panamá, em 1994, e, no México, em 1995 (OPAS 1997). Paulatinamente, ele se espalhou por outros países do continente americano, chegando à América do Sul em 2000 (Pinheiro & Corber 1997, Nogueira et al. 2001, Rigau-Perez et al. 2002).

A Figura 1 apresenta a distribuição geográfica dos sorotipos do vírus dengue nas Américas (OPAS 2007). Como pode ser visto, os quatro sorotipos do vírus circulam concomitantemente em alguns países da América do Sul.

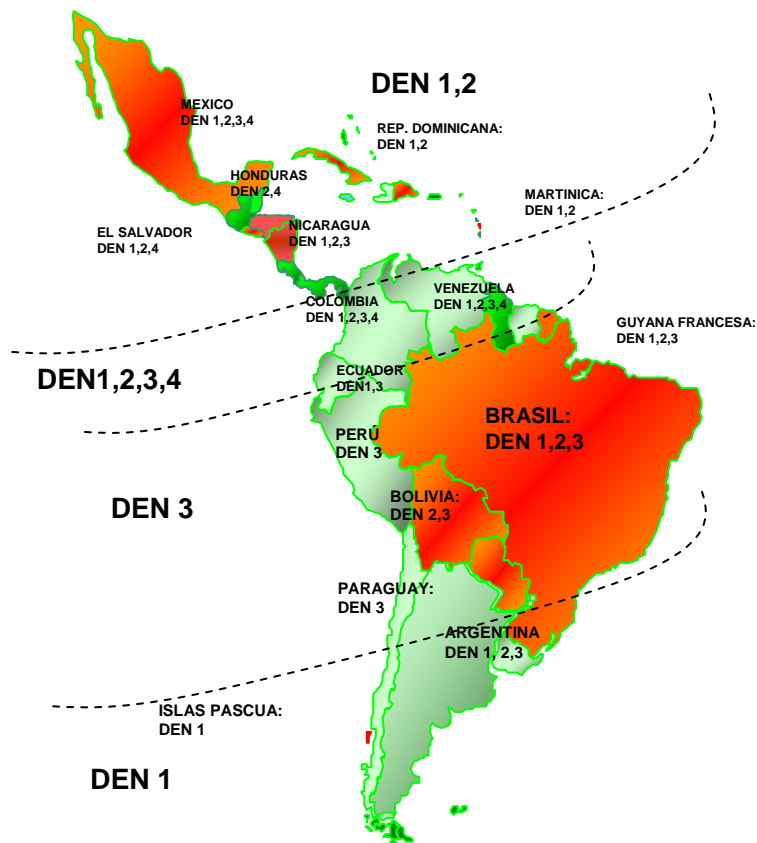


Figura 1. Distribuição dos sorotipos do vírus dengue nas Américas (2006-2007). Fonte: OPAS.

1.3. DENGUE NO BRASIL

No Brasil, desde 1846, existem registros de casos de dengue e/ou de epidemias de síndromes comparáveis ao dengue nos estados do Rio de Janeiro, Bahia e Pernambuco, dentre outras unidades federativas (Meira 1916, Mariano 1917, Figueiredo et al. 2000). Epidemias de dengue foram registradas no estado de São Paulo de 1851 a 1853, e em 1916, e em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, em 1917 (Reis 1896). Nos idos de 1923, Antônio Pedro descreveu um surto em Niterói, no Rio de Janeiro (Pedro 1923).

No início do século XX, dengue e febre amarela urbana eram registradas simpatricamente e, em vista da elevada letalidade provocada por esta última, houve grande empenho para combater o mosquito vetor, *Ae. aegypti*. Uma campanha continental de erradicação do transmissor, coordenada pela Organização Pan Americana de Saúde (OPAS), culminou com o sucesso em alguns países americanos, inclusive no Brasil, onde o vetor foi considerado

erradicado nos anos 1950, interrompendo-se a transmissão de ambas as viroses em nosso território.

Várias décadas se passaram até a ocorrência de novo registro de dengue no Brasil. Em Boa Vista, Roraima, na região Norte, entre 1981 e 1982, ocorreu a primeira epidemia de dengue após a reinvasão do *Ae. aegypti* no Brasil. Esta epidemia resultou em 11.000 casos e foi atribuída aos sorotipos 1 e 4, tendo ficado restrita a Boa Vista (Osanaí et al. 1983). Entretanto, o dengue ressurgiria quatro anos mais tarde na região Sudeste, a partir da notificação dos primeiros casos no município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, causados pelo vírus DENV-1 (Schatzmayer et al. 1986). Este sorotipo dispersou-se, a partir do Rio de Janeiro, pelo Brasil, alcançando as regiões Norte e Nordeste. No ano seguinte, o dengue causaria epidemias em seis estados e, posteriormente, tornar-se-ia endêmico em algumas cidades, como no Rio de Janeiro (Degallier et al. 1996, Nogueira et al. 1999, Vasconcelos et al. 2000). Quatro anos após sua introdução no estado fluminense, um novo surto se iniciou nas cidades do Rio de Janeiro e de Niterói. Durante este surto, em 1990, o vírus DENV-2 foi isolado pela primeira vez de casos autóctones brasileiros (Nogueira et al. 1990). Entre 1994 e 2001, foram registrados casos de dengue em 25 unidades da federação, com a ocorrência de epidemia em vários centros urbanos de grande e médio porte, com a circulação concomitante dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 em quase todos eles (Funasa 2001).

O sorotipo DENV-3 foi introduzido no Rio de Janeiro em 2000, sendo isolado tanto de *Ae. aegypti* quanto de casos humanos em Nova Iguaçu (Nogueira et al. 2001, Lourenço-de-Oliveira et al. 2002). A introdução de DENV-3 resultou na epidemia de maior gravidade descrita até então, na qual a metade dos casos fatais relacionava-se às infecções primárias por este sorotipo, dado indicativo de sua maior virulência (Nogueira et al. 2005). O sorotipo logo se espalhou no país e modificou-se o padrão epidemiológico no Brasil, que assumiu características de hiperendemicidade. Na referida epidemia nacional, por exemplo, ocorreram formas graves e óbitos em menores de 15 anos de idade (Nogueira et al. 2005, Araújo et al. 2009b, 2009c). No período compreendido entre os anos de 2007 e 2008, todo o estado do Rio de Janeiro viveu uma alarmante epidemia de dengue, tendo sido notificados 322.371

casos e 240 óbitos (SESDEC-RJ 2008). Com efeito, a epidemia de 2008 foi considerada como a mais penosa, uma vez que houve uma concentração de casos graves em crianças com altas taxas de internação e letalidade, sem precedentes no estado. Este perfil em crianças é uma situação frequente na Ásia, que ainda não havia sido verificada no Brasil. Neste contexto, 46% dos óbitos ocorreram nas faixas etárias de 0 a 15 anos (SESDEC-RJ 2008, Teixeira et al. 2008).

Atualmente, os sorotipos DENV-1, 2 e 3 circulam simultaneamente no Rio de Janeiro, o que reforça este estado como o mais receptivo para introdução e disseminação de novos sorotipos de dengue no Brasil (De-Simone et al. 2004, Lourenço-de-Oliveira et al. 2004b, Nogueira et al. 2005, 2007, Honório et al. 2009a). A Figura 2 apresenta a série histórica do número de casos de dengue no estado do Rio de Janeiro desde 1986.

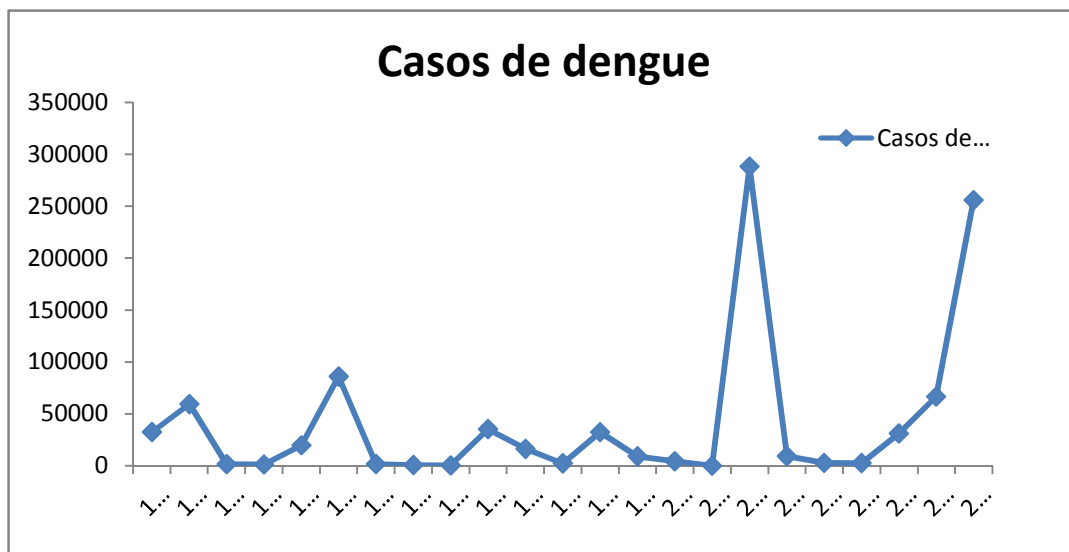


Figura 2. Série histórica dos casos de dengue no estado do Rio de Janeiro (1986-2008). Fonte: Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro-SES-RJ.

1.4. ESPECTRO CLÍNICO DO DENGUE

Do ponto de vista epidemiológico, vírus do dengue é classificado como arbovírus, sendo mantido na natureza por um ciclo de transmissão que envolve hospedeiros vertebrados e mosquitos hematófagos do gênero *Aedes*. Neste ciclo, o homem é o único hospedeiro capaz de desenvolver as formas clínicas da doença (Gubler 2002). Em humanos, as manifestações clínicas desenvolvem-se numa média de quatro a sete dias e apresentam um espectro clínico amplo, que vai dos casos assintomáticos às formas graves. Nestas últimas, são incluídas a febre hemorrágica do dengue e a síndrome de choque por dengue, que podem evoluir para o óbito. Os sinais e sintomas do dengue variam de intensidade de acordo com as características do hospedeiro e do vírus. Contudo, a maioria dos pacientes apresenta a forma branda da doença, conhecida como dengue clássico (OMS 1997).

1.4.1 Na sintomatologia do ***Dengue Clássico (DC)*** ocorre um início abrupto com febre (39 °C a 40 °C) associada à cefaléia, prostração, mialgia, artralgia, dor retro-orbitária, exantema maculopapular acompanhado ou não de prurido. Ademais, anorexia, náuseas, vômitos e diarreias também podem ser observados. No final do período febril, manifestações hemorrágicas como epistaxe, petéquias, gengivorragia e metrorragia podem ocorrer. Tais manifestações hemorrágicas, apesar de incomuns nas formas brandas, podem surgir em alguns indivíduos (Gubler 1998).

1.4.2 Nos casos caracterizados como ***Febre Hemorrágica do Dengue (FHD)***, as manifestações clínicas iniciais são as mesmas descritas para o dengue clássico, até o início da defervescência da febre, entre o terceiro e o sétimo dias, quando a síndrome se instala. Então, é evidente o surgimento de manifestações hemorrágicas espontâneas, trombocitopenia com plaquetas em número inferior a 100.000/mm³ e perda de plasma. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a FHD apresenta diferentes graus de gravidade, classificados em níveis que vão de I a IV, os quais são importantes para diferenciar DC de FHD (OMS 1997). Alguns estudos epidemiológicos ainda identificaram maior risco de ocorrência de febre hemorrágica após o desenvolvimento de infecções sequenciais por diferentes sorotipos (Halstead 1988). Por outro lado, sabe-se que o risco de se desenvolver FHD envolve vários fatores, relacionados ao tipo do vírus, e à pessoa infectada (idade,

estado imunológico e predisposição genética) (Kyle & Harris 2008).

1.4.3. A Síndrome de Choque por Dengue (SCD), por sua vez, é configurada como uma perda crítica do plasma associada a sinais de insuficiência circulatória, tais como: pele fria e congestionada, inquietação e, principalmente, pressão arterial sistólica abaixo de 20 mm Hg. Nestes casos, o período de choque é curto e pode levar o paciente ao óbito em um período entre 12 e 24 horas, caso não seja iniciado o tratamento apropriado (OMS 1997, MS 2005).

1.4.4. É classificado como **Dengue com Complicações** todo o caso que não se enquadra nos critérios de FHD e quando não se adequa à definição de dengue clássico. O quadro de dengue com complicação pode ser caracterizado por um dos seguintes sintomas: alterações neurológicas, disfunção cardiorespiratória, insuficiência hepática, plaquetopenia igual ou inferior a 50.000 plaquetas/mm³, hemorragia digestiva, derrames cavitários, leucometria global igual ou inferior a 1.000/mm³, que podem levar ao óbito (MS 2008).

1.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Os métodos de diagnóstico laboratorial mais amplamente utilizados em dengue envolvem o isolamento viral em cultura de células, detecção do ácido nucléico viral pelo método de PCR, técnicas sorológicas para a pesquisa de anticorpos específicos (IgM e IgG), pesquisa de proteína não-estrutural 1 (NS1) no sangue ou a detecção de outros antígenos virais em outros tecidos através da técnica de imunohistoquímica. Abaixo detalhamento de algumas técnicas utilizadas no presente estudo.

1.5.1. Isolamento viral. Usualmente, o método de isolamento viral utilizado para a identificação do DENV consiste na inoculação de amostras provenientes de casos suspeitos em culturas de células de mosquitos *Ae. albopictus* clone C6/36 (Igarashi 1978). O isolamento viral pode ser confirmado pela presença de efeito citopático (ECP) e/ou pela detecção e tipagem viral de antígenos específicos pelo teste de imunofluorescência com anticorpos monoclonais específicos aplicados a células retiradas dos cultivos após 10-14 dias de incubação (Gubler et al. 1984).

1.5.2. O PCR (Polymerase Chain Reaction) por meio do sistema “*semi-nested*” é um protocolo desenvolvido por Lanciotti et al. (1992) que possibilita a detecção dos quatro sorotipos dos vírus dengue simultaneamente. O teste permite a detecção, utilizando sondas (*primers*) tipo-específicas para os quatro sorotipos do vírus dengue, de quantidades reduzidas de ácido nucléico viral presente nos espécimes pela amplificação do c-DNA obtido a partir do RNA viral. É amplamente utilizado para o diagnóstico laboratorial de infecções por dengue em amostras de sangue e de outros tecidos, por recomendação da OPAS.

Por outro lado, com a aplicação da técnica do **PCR em tempo real**, é possível não só detectar como também quantificar cópias do RNA viral de uma determinada amostra clínica de maneira mais sensível e específica quando comparado ao PCR convencional (Holland et al. 1991, Laue et al. 1999). Este teste é útil no diagnóstico precoce da doença, pois identifica o agente infeccioso no período sintomático da dengue. Por esta razão, ele é especialmente indicado nos casos suspeitos que apresentam evolução mais grave. Contudo, não é usualmente empregado no diagnóstico como método de rotina por ser muito laborioso e de custo mais elevado (Araújo 2009).

1.5.3. Testes sorológicos imunoenzimático (ELISA) e de Inibição de Hemaglutinação (HI). O diagnóstico sorológico das infecções por DENV baseia-se na pesquisa de anticorpos específicos em duas amostras de sangue coletadas com intervalos de 14 e 21 dias. As provas pareadas são de grande valor diagnóstico, possibilitando a detecção de soroconversões, ou seja, quando a primeira é negativa e a segunda positiva para dengue.

O teste HI (Clarke & Casals 1958) está baseado na capacidade que as proteínas (hemaglutininas) existentes na superfície do DENV têm de aglutinar hemácias de ganso e de humanos do grupo O. A presença de anticorpos específicos na amostra de soro do paciente irá inibir a capacidade hemaglutinante do vírus. O HI tem sido muito utilizado no diagnóstico sorológico de dengue, e é considerado pela OMS o método padrão para caracterização da resposta imune. Este teste também é indicado para estudos soropidemiológicos, uma vez que os anticorpos persistem no sangue por um longo período de tempo. Estes anticorpos são usualmente detectados em casos de resposta primária em torno de 5 a 6 dias após o início da febre. No

caso de resposta secundária, altos títulos destes anticorpos podem ser precocemente detectados (2 a 3 dias após o início dos sintomas). Por esta metodologia, títulos maiores ou iguais a 1/1280 são considerados como infecção do tipo secundária (OMS 1987). Apesar de o HI ser uma técnica laboriosa, continua sendo utilizado mesmo após o desenvolvimento de kits diagnósticos mais práticos, sensíveis e específicos (Cunha et al. 1995, 1997).

O teste ELISA (*Enzyme Liked immunosorbent Assay*) é baseado na captura de anticorpos por antígenos fixados em uma superfície e na posterior detecção dos primeiros por anti-imunoglobulinas humanas marcadas com enzima (Peroxidase) que, ao reagir com seu substrato, produz alteração de cor. O ELISA é utilizado para a detecção de anticorpos da classe IgM (MAC-ELISA) (Kuno et al. 1987), e tem se mostrado extremamente útil, tanto para o diagnóstico individual de dengue quanto para estudos epidemiológicos (Cordeiro et al. 2007, Silva-Nunes et al. 2008). Além disso, a detecção de IgM em uma única amostra de soro indica infecção ativa ou recente, dispensando a obtenção de uma segunda coleta de sangue. Por conseguinte, este teste tem sido muito utilizado na detecção de anticorpos da classe IgG (IgG-ELISA) indicando infecção passada, configurando-se numa técnica rápida, de fácil execução e que pode ser utilizada em larga escala (Miagostovich et al. 1999). Ambos os testes permitem apenas o diagnóstico de casos de dengue em curso ou passados, mas não o diagnóstico etiológico do sorotipo viral.

1.6. EPIDEMIOLOGIA DO DENGUE E IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS SOROLÓGICOS NO BRASIL

O dengue tem se apresentado como um grave problema de saúde pública no Brasil, razão pela qual vários estudos têm sido realizados com o intuito de esclarecer aspectos da epidemiologia desta doença em diferentes localidades, com histórias distintas de circulação de sorotipos. Nestes estudos estão incluídos os inquéritos populacionais que buscam a detecção dos níveis de anticorpos, permitindo, assim, a avaliação da intensidade da transmissão do dengue em determinadas áreas específicas (Cunha et al. 1995, 1997, Teixeira et al. 2002).

Os inquéritos sorológicos buscam avaliar diferentes aspectos

epidemiológicos do dengue:

- i) a incidência, definida como a proporção de casos novos de dengue surgidos numa determinada população num dado intervalo de tempo;
- ii) a prevalência, ou a proporção de casos existentes numa determinada população num determinado momento;
- iii) as infecções primárias, ou seja, as novas infecções contraídas por um indivíduo detectadas pela ocorrência de anticorpos IgM na ausência de anticorpos da classe IgG;
- iv) as infecções secundárias, ou novas infecções detectadas por ocorrência de anticorpos IgM na presença de anticorpos da classe IgG;
- v) os casos sintomáticos, com a detecção dos anticorpos IgM e presença de pelo menos dois sintomas de dengue e;
- vi) os casos assintomáticos com a detecção dos anticorpos da classe IgM e ausência dos sintomas clínicos de dengue.

Por conseguinte, os inquéritos soropidemiológicos podem ser realizados no curso das epidemias ou após elas terem ocorrido, com técnicas de detecção de IgM e/ou IgG. Nestes casos, o desenho amostral deve ser feito de acordo com os objetivos do estudo, considerando-se o histórico de dengue e a situação epidemiológica da área. Tais inquéritos fornecem informações relativas à incidência e à soroprevalência de dengue, muitas vezes sem se distinguir o sorotipo que infectou cada indivíduo. Além disso, possibilitam a quantificação da ocorrência das infecções nos indivíduos na vigência de circulação de mais de um sorotipo do vírus, e identificam as áreas de maior intensidade de circulação, favorecendo o estudo dos fatores de risco associados às taxas de infecção (Teixeira et al. 1999).

No Brasil, inquéritos soropidemiológicos têm sido realizados em diferentes regiões brasileiras (Figueiredo et al. 1990, Cunha et al. 1995, 1997, Vasconcelos et al. 1998, Teixeira et al. 2003, Siqueira et al. 2004, Cunha et al. 2008).

Na região Sudeste, no estado do Rio de Janeiro, durante os anos de 1986 e 1987, foram realizados inquéritos sorológicos em crianças de escolas públicas dos bairros de Copacabana, Penha, Lins de Vasconcelos, Rocinha e

Taquara, na faixa etária compreendida entre 4 e 14 anos de idade. Através do método de HI, tais estudos demonstraram a prevalência em 1986 e em 1987, respectivamente, de 24,9% e 45,5% de anticorpos para o sorotipo DENV-1, o único que havia circulado na região (Figueiredo et al. 1990).

Ainda na região Sudeste, em 1995, após um período de subseqüentes epidemias promovidas pelos sorotipos DENV-1 e DENV-2, foi realizado outro inquérito em crianças das escolas públicas da cidade de Niterói, no estado do Rio de Janeiro. Das amostras testadas, 66% (297/450) apresentaram anticorpos (HI) contra DENV-1 e DENV-2 e, dentre estas, 61% indivíduos tiveram infecções secundárias (181/297) e infecções assintomáticas foram detectadas em 56% da população estudada (Cunha et al. 1995).

Já na cidade de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, a Secretaria Municipal de Saúde realizou um estudo soropidemiológico que foi conduzido com o propósito de detectar infecção pelos vírus dengue e quantificar a soropositividade. Dos indivíduos soropositivos, 17,9% haviam sido infectados pelos sorotipos DENV-1 e DENV-2. Neste estudo, a maior soropositividade para os vírus dengue foi associada às camadas sociais categorizadas como de “baixa renda”, enquanto a alta taxa de infecção foi associada à falta de mobilidade individual (Cunha et al. 2008).

Na região Nordeste, na cidade de Fortaleza, estado do Ceará, foi realizado um inquérito soropidemiológico aleatório com o objetivo de avaliar a prevalência de anticorpos para dengue no âmbito de distritos sanitários. As amostras sorológicas foram testadas por HI e 44% apresentaram-se reativas, com indicação de uma prevalência global que oscilava entre 21% e 71%. Neste inquérito, não houve diferença na prevalência quanto ao sexo, faixa etária e escolaridade (Vasconcelos et al. 1998).

Também na região Nordeste, na cidade de Salvador, estado da Bahia, foi utilizado um desenho de estudo prospectivo ecológico, onde se focaliza a comparação de grupos, ao invés de indivíduos, desenvolvido através de um inquérito sorológico aplicado em 30 áreas sentinela com diferentes padrões de condição de vida. Os resultados deste estudo apontaram para elevada soroprevalência (67,7%) e soroincidência (70,6%) para os sorotipos DENV-1 e DENV-2. Assim sendo, os autores constataram que, mesmo nas áreas caracterizadas como de alto padrão social, havia elevados riscos de

transmissão (Teixeira et al. 2003).

Na região Centro-Oeste, na cidade de Goiânia, estado de Goiás, foi realizado um inquérito soropidemiológico domiciliar, numa área altamente urbanizada, com o objetivo de obter dados tanto sobre a exposição dos indivíduos aos vírus dengue quanto sobre os fatores de risco envolvidos com as infecções por dengue. Como resultados deste estudo foi verificada uma soroprevalência de 29,5% e, através da análise multivariada, encontrou-se um risco de infecção associado aos indivíduos com elevada faixa etária, baixos níveis educacional e socioeconômico (Siqueira et al. 2004).

1.7. VETORES DO DENGUE

Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) pertencem ao subgênero *Stegomyia*. O subgênero *Stegomyia* é natural do Velho Mundo, particularmente das regiões zoogeográficas Etiópica e Oriental. No entanto, ambos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* invadiram países fora de sua distribuição zoogeográfica original, incluindo o Brasil (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

1.7.1 *Aedes aegypti*

Ao longo do tempo, o *Ae. aegypti* acompanhou o homem em sua migração por várias partes do mundo. Apesar de se tratar de mosquito originário da África, tendo sido descrito no Egito, atualmente é um mosquito cosmopolita. Com efeito, esta espécie tem como distribuição atual regiões tropicais e subtropicais, compreendidas principalmente entre os paralelos 45° N e 35° S (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).

No Brasil, esta espécie foi introduzida durante o período colonial, provavelmente trazida pelos navios negreiros que realizavam o tráfico de escravos do continente africano. Por ser também vetor da febre amarela, foi intensamente combatida e considerada erradicada no país, em 1955. Entretanto, no final da década de 1960 houve reinvasão do Brasil pelo *Ae. aegypti*, provavelmente oriundo dos países vizinhos que não participaram do programa de erradicação. Uma vez que não havia mais febre amarela urbana nas Américas e se acreditava na erradicação do vetor do território brasileiro, o

controle do *Ae. aegypti* foi relaxado no Brasil. Além disso, a febre amarela dispunha de uma vacina eficaz, passando a vigilância e o controle do vetor a um plano secundário em prioridade (Franco 1976). O serviço de controle da febre amarela estava pouco fortalecido e com poucos técnicos ainda experientes concentrados em certas localidades. Com isso, essa invasão foi pouco investigada em sua importância, dimensão e perpetuação no tempo e espaço. Sabe-se, porém, que a partir de 1976, *Ae. aegypti* reiniciou sua expansão pelo território brasileiro, provavelmente a partir do litoral, uma vez que cidades como Salvador e Rio de Janeiro estavam consideravelmente infestadas àquela altura (Schatzmayr 2000). Hoje, o *Ae. aegypti* é encontrado em todos os 27 estados e unidades da federação (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Rosa-Freitas et al. 2006)

A distribuição e frequência de *Ae. aegypti* no Brasil está associada a ambientes alterados pelo homem, condição que o caracteriza essencialmente como um mosquito do peridomicílio e domicílio humano (Christophers 1960). Por conseguinte, apresenta-se como uma espécie muito abundante em áreas urbanas e suburbanas, onde há elevada concentração populacional humana, grande concentração de casas e baixa cobertura vegetal (Braks et al. 2003). Os hábitos do *Ae. aegypti* são diurnos, com aumento da atividade hematofágica próximo e durante os crepúsculos. Em mosquitos, de modo geral, cada alimentação sanguínea completa corresponde a uma desova em torno de dois a três dias da hematofagia, o que se denomina de concordância gonotrófica. Assim, o ciclo gonotrófico corresponderia ao intervalo de alterações fisiológicas ocorridas entre um repasto sanguíneo e a procura por um novo repasto passada a desova. Em algumas espécies, como é o caso de *Ae. aegypti*, nem sempre há concordância gonotrófica e é comum uma fêmea se alimentar de sangue mais de uma vez durante um ciclo gonotrófico, o que potencializa o contato entre este mosquito vetor, o homem e a transmissão do dengue (Scott et al. 1993, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Lima-Camara et al. 2007).

A postura de ovos também é realizada preferencialmente nos crepúsculos matutino e vespertino. As fêmeas de *Ae. aegypti* colocam seus ovos em criadouros artificiais, como pneus usados, garrafas, latas, potes, vasos de plantas e reservatórios de água destampados como caixas d'água,

cisternas e tonéis contendo água parada (Christophers 1960, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). A desova não é feita diretamente na superfície da água e sim em substratos úmidos próximos a ela e os ovos são resistentes à dessecação, podendo eclodir depois de meses após se completar o período embrionário. Além disso, as fêmeas fazem vôos exploratórios e distribuem os ovos desenvolvidos num mesmo ciclo gonotrófico em vários criadouros. A escolha destes depósitos depende de vários fatores. Com efeito, tem-se verificado que fêmeas grávidas são de certa forma atraídas por depósitos que contenham desovas coespecíficas e aglomeram-se em locais onde há maior concentração de criadouros de grande porte, perenes e produtivos (Corbet & Chadee 1993, Scott et al. 2000)

A irregularidade no abastecimento domiciliar de água e a precariedade e inconstância que caracterizam a realização do manejo de resíduos sólidos, principalmente em grandes cidades como o Rio de Janeiro, têm sido considerados de risco para a proliferação do *Ae. aegypti* (Tauil 2001), uma vez que contribuem para o emprego de recipientes de estocagem de água e para o acúmulo inadequado de materiais em terrenos baldios, nas vias públicas e em outros pontos considerados estratégicos. Neste sentido, o Programa de Vigilância e Controle dos Vetores de Dengue e Febre Amarela definiu como Pontos Estratégicos (PE) os imóveis não-residenciais que apresentam grandes ou pequenas quantidades de recipientes em condições favoráveis à proliferação de formas imaturas do *Ae. aegypti*, como por exemplo, depósitos de pneus usados, ferrovelhos, borracharias, cemitérios, transportadoras, rodoviárias, portos e aeroportos (Braga et al. 2000, Tauil 2001, Sucen 2002). Tais estabelecimentos tendem a ser mais propícios à manutenção da infestação e à rápida proliferação e disseminação do *Ae. aegypti* nas localidades devido à concentração de criadouros potenciais e à disponibilidade de fonte sanguínea humana permanente. Deste modo, estes pontos estratégicos atuam como fonte potencial de reprodução e proliferação do vetor, situação que tem como agravante a inexistência de legislação de apoio e/ou de prática de fiscalização voltadas para o monitoramento da infestação nesses locais e nas suas áreas de influência (Tauil 2002).

1.7.2. *Aedes albopictus*

Espécie típica do sudeste da Ásia, o *Ae. albopictus* é um potencial vetor de dengue. Assim como *Ae. aegypti*, é encontrado em áreas tropicais e subtropicais (Hawley 1988). Foi primeiramente encontrado no Brasil na década de 1980, nos estados de Minas Gerais e do Rio de Janeiro. Aos poucos, foi invadindo estados vizinhos, como Espírito Santo e São Paulo (Gomes & Marques 1988, Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Esta espécie também apresenta sua distribuição associada à presença humana. Contudo, é um mosquito que também ocupa ambientes urbano, suburbano e rural e, diferentemente de *Ae. aegypti*, tem maior frequência nos locais de menor concentração humana e maior cobertura vegetal (Hawley 1988, Braks et al. 2003). Embora suas desovas também sejam feitas em criadouros artificiais, tais como os supracitados para *Ae. aegypti*, as formas imaturas de *Ae. albopictus* são encontradas numa maior variedade de depósitos, especialmente os naturais, que vão desde as bromélias e cascas de frutas até internódios de bambu e buracos de árvore, situados do peridomicílio até longas distâncias em matas secundárias (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004a), apresentando, assim, ampla valência ecológica (Hawley 1988, Honório & Lourenço-de-Oliveira 2001).

Apesar de já ter sido comprovado que, em condições de laboratório, as populações brasileiras de *Ae. albopictus* têm a capacidade de se infectar com o vírus dengue e transmiti-lo (Miller & Ballinger 1988, Lourenço-de-Oliveira et al. 2003, Castro et al. 2004), esta espécie ainda não foi incriminada como vetora natural do dengue no Brasil (Degallier et al. 2003).

1.8. CICLO DO VÍRUS DE DENGUE EM MOSQUITOS

As populações de *Ae. aegypti* existentes no Brasil são muito suscetíveis aos vírus do dengue e da febre amarela (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004b). Efetivamente, já foram isolados vírus DENV-1 (Nogueira et al. 1988, Degallier et al. 2000), DENV-2 e DENV-3 (Lourenço-de-Oliveira et al. 2002) e DENV-4 (Osana et al. 1983) de amostras de adultos e larvas de *Ae. aegypti* coletadas em várias partes do país.

Acredita-se que a principal via de infecção dos mosquitos para o arbovírus é a oral, ou seja, através da ingestão de sangue virêmico. Desta forma, o processo de transmissão se inicia quando um mosquito susceptível

ingere sangue de uma pessoa infectada durante o período de viremia, e termina com a inoculação do vírus juntamente com sua saliva no momento da picada em um hospedeiro humano susceptível. O mosquito só se torna infectado quando o vírus alcança e penetra as células do epitélio digestivo, dando-se a partir de então a disseminação do vírus de célula à célula neste órgão. Após atravessar a parede do tubo digestivo do mosquito, o vírus passa para a hemolinfa através da qual alcança os tecidos do abdome, do tórax e da cabeça, onde prossegue a replicação. Finalmente, o vírus invade o epitélio das glândulas salivares. A transmissão para o hospedeiro vertebrado se faz através da inoculação da saliva contendo as partículas virais durante o repasto sanguíneo. Outras vias secundárias de infecção do mosquito, como a transovariana ou vertical, também são possíveis, o que permite que alguns descendentes já nasçam infectados. Com efeito, o isolamento de vírus dengue de formas imaturas e de machos e fêmeas provenientes de ovos coletados na natureza sugere transmissão vertical destes vírus em populações naturais de *Aedes* (Rosen et al. 1983, Khin & Than 1983, Serufo et al. 1993, Ibanez-Bernal et al. 1997, Gubler & Kuno 1997, Tu et al. 1998, Castro et al. 2004). Ou seja, este mecanismo de transmissão vertical pode garantir a perpetuação em áreas endêmicas, sem a necessidade de sua amplificação em humanos, podendo colaborar para circulação do vírus durante períodos ditos “silenciosos” em dadas áreas, que podem ser seguidos de epidemias quando a população humana susceptível tiver se restabelecendo da doença.

1.9 DETERMINANTES DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE *Ae. aegypti*

A transmissão do dengue é essencialmente urbana, visto que é neste ambiente onde se encontram todos os fatores fundamentais para a sua ocorrência: o homem, o vírus, o vetor e, principalmente, as condições políticas, econômicas e culturais favoráveis ao estabelecimento da cadeia de transmissão (Marzochi 1994). Ademais, a expansão geográfica das populações de *Ae. aegypti* sofre influência de fatores ambientais e sociais, entre os quais destacam-se: o clima, a densidade demográfica, as alterações ambientais resultantes das atividades humanas, a baixa cobertura vegetal e a

infraestrutura urbana (Kuno 1995, Alto & Juliano 2001, Glasser & Gomes 2002, Lima-Camara et al. 2006).

A densidade populacional de *Ae. aegypti* é diretamente influenciada pelas variáveis climáticas, incluindo os padrões de ocorrência de chuvas e as variações de temperatura (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994, Kuno 1995, Honório & Lourenço-de-Oliveira 2001, Juliano et al. 2002) e umidade (Alto & Juliano 2001, Madeira et al. 2002). Mesmo reconhecendo que os criadouros de grande porte podem ser os mais produtivos e perenes, sabe-se que a flutuação da precipitação pluviométrica influencia na abundância de criadouros em uma dada área, especialmente daqueles de menor porte e localizados a céu aberto, devido ao aumento da quantidade de recipientes artificiais e naturais com acúmulo de água no extradomicílio (Honório & Lourenço-de-Oliveira 2001, Glasser & Gomes 2002). Este aumento de ofertas de criadouros tem influência indireta também na movimentação de mosquitos entre os domicílios e demais imóveis e na dispersão, com conseqüências para a variabilidade genética das populações do vetor (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004b; Costa-Ribeiro et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2007a).

No que diz respeito à ação da temperatura, diferentes estudos analisam a sua influência sobre a taxa de eclosão e a viabilidade dos ovos de *Ae. aegypti* (Gubler 1998, Parker 1986), sobre o desenvolvimento larval (Rueda et al. 1990) e sobre a dispersão e longevidade do adulto (Honório et al. 2003, Maciel-de-Freitas et al. 2007a). Em decorrência da resposta do vetor à flutuação sazonal das variáveis meteorológicas supracitadas, a incidência do dengue também tende a seguir um padrão sazonal, com picos elevados de casos de dengue durante o verão chuvoso, quando índices pluviométricos mais altos e temperaturas médias e máximas são registrados (Honório & Lourenço-de-Oliveira 2001, Luz et al. 2008).

Além das questões relacionadas com as condições climáticas, as atividades humanas têm um papel preponderante na distribuição do vetor. Sabe-se que o *Ae. aegypti* está amplamente associado às atividades antrópicas, que disponibilizam sítios de oviposição artificiais e permitem a manutenção da sua infestação. Os centros urbanos configuram-se como favorecedores da disseminação e da proliferação do *Ae. aegypti*, potencializando o contato entre o vetor, o vírus e o homem (Teixeira et al.

2002, Mondini & Chiaravalloti-Neto 2007). Além disso, o fluxo populacional humano, por exemplo, parece representar o principal fator de difusão dos vírus dengue entre localidades, favorecendo a disseminação de sorotipos do vírus dengue para áreas indenes através de indivíduos virêmicos ou em fase de incubação (Rodhain 1992, Costa-Ribeiro et al. 2006, Melo et al. 2007).

Em grandes cidades, a ocupação desigual do espaço forma paisagens que podem promover habitats favoráveis ao *Ae. aegypti* e estratos diferenciados de transmissão de dengue (Costa & Natal 1998, Barcellos et al. 2005). Assim sendo, o processo de urbanização desordenada constitui um importante fator para a emergência do dengue e persistência do vetor (Gubler & Kuno 1997, Tauil 2001). Os aglomerados urbanos resultantes do processo de urbanização desordenada apresentam deficiências relacionadas ao saneamento básico, às condições de habitação, ao abastecimento e armazenamento de água e à irregularidade na coleta de lixo, fatores que propiciam o surgimento de potenciais criadouros para a manutenção do vetor primário do dengue (Tauil 2001, Barcellos et al. 2005).

1.10 FERRAMENTAS DE ANÁLISES ESPACIAIS UTILIZADAS EM SAÚDE

A relação entre a geografia e a saúde é reconhecida desde a Antiguidade Clássica, tendo sido atribuída a Hipócrates (480 a.C) a primeira obra sobre a associação entre o local e o aparecimento de enfermidades (Pessoa 1978).

Entretanto, foi principalmente em meados do século XIX, durante a ocorrência de uma epidemia de cólera, que atingiu um grande número de pessoas em Londres, que tal relação pôde ser evidenciada, por meio de uma investigação epidemiológica. Ao desenvolver estudos nessa cidade, John Snow, em 1854, demonstrou, por meio da análise da distribuição espacial dos casos de cólera, que a transmissão da doença estava relacionada à água fornecida a diferentes setores da população londrina a partir de uma bomba d'água instalada na localidade de Broad Street. Assim, uma unidade espacial era considerada o ponto inicial para suas inferências sobre os casos da doença (Snow 1999, Andrade 2000).

No ano de 1939, o parasitologista Pavlovsky apresentaria à Academia

de Ciências da União Soviética, pela primeira vez, o conceito de “foco natural” das doenças humanas, cujo sentido correspondia à idéia de espaço como o local de circulação dos agentes infecciosos (Ferreira 1991). Sendo assim, este conceito expressaria uma apreensão espacial, que abrangeria não apenas o agente infeccioso, mas também a associação entre as espécies, os aspectos geofísicos e a ecologia (Czeresnia & Ribeiro 2000). Alguns anos mais tarde o geógrafo acadêmico francês Maximilian Joseph Sorre elaboraria o conceito de “complexo patogênico”, que enfatizou a relevância da ação do homem na formação e na alteração do complexo patogênico. De fato, Sorre desenvolvia seus estudos orientado por uma preocupação teórica, que seria a de fornecer à geografia médica uma base conceitual que viabilizasse a realização de investigações interdisciplinares (Ferreira 1991). Ambos esquemas conceituais partiam de uma interpretação ecológica das relações entre seres humanos e seu meio. Entretanto, foi o trabalho de Pavlovsky aquele que teve maior influência na geografia médica no Brasil. Isso ocorreu principalmente através dos trabalhos do médico parasitologista Samuel Pessoa, que pautaram a criação de uma escola de geografia médica no país, no contexto da chamada medicina tropical.

Samuel Pessoa desenvolveu trabalhos sobre as endemias prevalentes no Brasil, especialmente sobre as transmitidas por vetores, como doença de Chagas, filariose e malária, incorporando os determinantes sociais das doenças (Ferreira 1991, Paiva 2006). De acordo com Pessoa, muitos dos problemas de saúde humana só poderiam ser interpretados e analisados adequadamente a partir de uma visão do todo, no tempo e espaço.

Por outro lado, os conceitos formulados pelo geógrafo Milton Santos, no decorrer da segunda metade do século XX, constituem uma das mais importantes referências para o estudo das relações entre espaço e o processo saúde-doença. Milton Santos afirma que o espaço, nos primórdios da história humana, era compreendido como um mero conjunto de complexos naturais. Mas, com o passar do tempo e devido à ação humana, o espaço se tornara cada vez menos naturalizado e muito mais um resultado da produção histórica, tendendo a uma negação da “natureza natural”. Assim sendo, o espaço tem como equivalente a idéia de sociedade inserida na paisagem (Santos 1999). Ademais, a elaboração teórica de Milton Santos a respeito do espaço também

foi muito utilizada nos estudos das doenças endêmicas e epidêmicas, de tal modo que se pudesse analisar a sua distribuição como resultado da organização espacial. Sendo assim, diversos estudos foram realizados no Brasil utilizando-se de abordagens que relacionam espaço-doença, com especial atenção às doenças infecciosas. Podemos destacar as análises da incidência de esquistossomose (Barreto 1982), da doença de Chagas (Silva 1985a) e da meningite meningocócica (Barata 1988), dentre outras.

Assim sendo, o espaço e o tempo são duas dimensões fundamentais para a descrição e a análise da dinâmica e da evolução de uma epidemia, assim como para a determinação dos seus riscos (Wen et al. 2006).

Há algum tempo diversos estudos da epidemiologia e da geografia têm utilizado a abordagem espacial no desenvolvimento das suas análises (Rojas 1998). No caso específico dos estudos epidemiológicos, concebia-se o espaço como resultado da interação entre o organismo humano e a natureza, independentemente da ação antrópica (Rosen 2006). Por outro lado, nos estudos da geografia clássica, considerava-se o espaço como decorrente de fenômenos naturais, como o clima, hidrografia, topografia, vegetação, entre outros (Santos 2002).

No decorrer do século XX, autores como Lacaz et al. (1972) e James Lind (*apud* Barret 1993) contribuíram para o aprofundamento das discussões que envolvem os campos do conhecimento relacionados à geografia e à saúde, na medida em que buscaram explicações para a distribuição de doenças, inclusive, com a preocupação voltada para a determinação de áreas geográficas específicas. Não obstante, os estudos das doenças transmissíveis por vetores, desenvolvidos nesse mesmo século, incorporaram maior objetividade à abordagem espacial, de tal modo que puderam explicitar os elos capazes de integrar maior número de elementos e, dessa forma, forneceram materialidade e sentido à compreensão das relações entre espaço e ocorrência de doenças.

Inicialmente, os esforços no sentido da aproximação entre a geografia e a epidemiologia tiveram como resultado o diálogo entre diferentes métodos de análise – principalmente a cartografia e a bioestatística – sem, contudo, produzirem uma efetiva articulação interdisciplinar (Ferreira 1991).

No caso específico do dengue, o processo de formação de uma

epidemia com um ciclo complexo tem mostrado que os diversos fatores envolvidos não se apresentam isoladamente, mas sim articuladamente, embora atuem em níveis distintos. Ou seja, atuam em dimensões espaciais e temporais, do micro ao macrossistema, que são interligadas. Desta forma, na dimensão espacial, teríamos, dentre outros, o nível do vetor (entomológico), do indivíduo e das populações (epidemiológico), do domicílio e de sua vizinhança próxima (espaço habitado) e das características do ambiente urbano (ecológico). Por outro lado, na dimensão temporal, teríamos, dentre outros, fatores meteorológicos sazonais, além daqueles dependentes da imunidade do indivíduo e das populações ao longo do tempo.

A heterogeneidade na incidência do dengue observada no tempo e espaço reflete a complexidade dos fatores de risco envolvidos na transmissão do vírus (Smith et al. 2004, Van Benthem et al. 2005). Portanto, é interessante que sejam utilizados conhecimentos metodológicos de análise que considerem dados espaciais e temporais para se tentar compreender a dinâmica de uma doença tão complexa como o dengue, uma arbovirose que ocorre em condições endêmica e epidêmica.

O estudo quantitativo da distribuição das doenças ou serviços de saúde, onde o objeto de estudo está referenciado geograficamente é denominado de análise espacial. Em estudos epidemiológicos, tem sido amplamente utilizada para identificar padrões espaciais de morbidade ou mortalidade e os fatores associados a esses padrões, descrever processos de difusão de doenças e gerar conhecimentos sobre etiologia de doenças, visando a sua predição e controle. Os métodos para análise espacial podem ser divididos em 3 grupos segundo seus objetivos i) *visualização* - onde o mapeamento de eventos de saúde é a ferramenta primária; ii) *análise exploratória de dados* - utilizada para descrever padrões espaciais e relação entre mapas e iii) *modelagem* – utilizada quando se pretende testar formalmente uma hipótese ou estimar relações, tais como, entre a incidência de uma determinada doença e variáveis ambientais (Medronho et al. 2009).

Diversas metodologias de análise e organização de dados espaciais são apresentadas como possibilidades para a integração de diferentes níveis de informações em escalas espaciais e temporais distintas (Carvalho & Souza-Santos 2005). Neste sentido, a inclusão, a aplicação e o desenvolvimento do

processamento e da análise automatizada de bases de dados georreferenciadas tendem a aprimorar a compreensão do espaço na produção e disseminação de doenças e agravos à saúde e se constituem em mais uma ferramenta do processo de gestão dos riscos e do planejamento em saúde (Medronho & Werneck 2002, Carvalho & Souza-Santos 2005, Bonfim & Medeiros 2008).

Diversos procedimentos são utilizados para executar a análise espacial, tais como as técnicas de geoprocessamento (descrita abaixo), de análise de dados de área (observações associadas com regiões, que podem ser regulares ou irregulares), de padrões pontuais (a análise de interesse é a própria localização dos eventos - latitude e longitude -, e posterior identificação de aleatoriedade ou padrão sistemático na área onde ocorreram os eventos) e a de geoestatística (é o estudo dos fenômenos que variam no espaço, com o objetivo de analisar a variabilidade espacial e a predição de fenômenos) (Medronho et al. 2009). Cumpre destacar que o geoprocessamento é a ferramenta que permite a realização das análises espaciais e consiste em um sistema abrangente que reúne diversas tecnologias de tratamento, manipulação e armazenamento de dados gráficos, através de programas computacionais. Por sua vez, o sistema de informação geográfica (SIG) é uma das tecnologias que compõem o arcabouço tecnológico do geoprocessamento (Barcellos et al. 2008) e corresponde às técnicas de coleta, tratamento e exibição das informações referenciadas geograficamente (Medronho & Werneck 2002, Werneck 2008).

Evidentemente, os SIGs têm proporcionado novas análises da variação espacial dos eventos em saúde, condições que, segundo Glass (2000), definem o SIG como uma metodologia que interliga a epidemiologia e a geografia, e fornece os instrumentos para a caracterização e análise dos dados (Bonfim & Medeiros 2008). Por conseguinte, os SIGs possibilitam a identificação de áreas de baixo e alto risco para dengue e de níveis diferenciados de distribuição do *Ae. aegypti* através da utilização de técnicas de modelagem espacial (Barcellos et al. 2005, Lagrotta et al. 2008, Regis et al. 2008).

No caso específico do Brasil, alguns estudos têm utilizado SIGs para avaliar a espacialização do dengue e/ou do seu vetor *Ae. aegypti* (Siqueira et

al. 2004, Barcellos et al. 2005, Lagrotta et al. 2008, Maciel-de-Freitas et al. 2008, Mondini et al. 2009), assim como para produzirem análises relativas a casos de leptospirose (Barcellos et al. 2003, Tassinari et al. 2004), leishmanioses (Correia et al. 2007), dentre outros agravos transmitidos ou não por vetores.

Ressaltamos, ainda, que a análise espacial em saúde constitui o estudo quantitativo de fenômenos que são localizados geograficamente e pode ser realizada através dos métodos de visualização, de análise exploratória ou de modelagem de dados espaciais (Barcellos et al. 2002, Medronho & Werneck 2002). Assim, o uso do espaço na área de saúde tem sido incrementado com o crescente acesso a bases de dados epidemiológicos e pela disponibilidade de ferramentas cartográficas e estatísticas computadorizadas (Barcellos et al. 2000).

Por outro lado, modelos estatísticos também se constituem em ferramentas extremamente úteis para a interpretação de dados e, por isso, facilitam a avaliação da forma e da intensidade de associações de interesses em estudos epidemiológicos (Conceição et al. 2001, Souza et al. 2007). A modelagem de padrões espaciais implica na incorporação, aos modelos estatísticos, da estrutura de correlação espacial entre as observações que se pretende analisar no estudo. De fato, tais modelos fornecem uma abordagem sólida para a compreensão dos riscos e o planejamento de estratégias de controle em ambientes heterogêneos, especialmente quando são baseados na ecologia das populações locais do vetor (Werneck 2008).

Uma extensão dos modelos lineares clássicos são os modelos aditivos generalizados (MAG), caracterizados como uma interessante alternativa para a modelagem de relações não lineares. Esses tipos de modelos são baseados em funções não paramétricas, denominadas curvas de alisamento, em que a forma da associação é definida pelos próprios dados (Conceição et al. 2001, Wood 2006, Thammapalo et al. 2008). Recentemente, um estudo utilizou o MAG para analisar o padrão espacial de áreas de risco para dengue na cidade de Goiânia, Brasil, através de um inquérito soropidemiológico. Neste estudo, os autores reforçam a importância do mapeamento do padrão heterogêneo das áreas de risco para dengue e a sua utilização nas intervenções de controle em áreas urbanas (Siqueira et al. 2008). Já os modelos lineares generalizados

(MLG) constituem uma extensão dos modelos lineares de regressão múltipla. Nestes modelos a variável resposta passa a poder provir de um universo que siga uma lei de distribuição da família exponencial, deixando de ter obrigatoriamente uma distribuição normal. Enquanto que os modelos com defasagem (MDD) são técnicas usadas em ciências sociais e estudos que abordam o efeito da poluição e o desencadeamento de doenças respiratórias, no qual o efeito do clima em defasagens é estimado com mais eficiência (Souza et al. 2007).

A abordagem usada no presente trabalho de tese agrupa várias das técnicas citadas acima como a de modelagem utilizando os modelos aditivos generalizados, kernels e sistemas de informação geográfica, propiciando uma forma original de tratamento do complexo dengue-vetor, abordados a partir de um estudo longitudinal, com dados primários de campo e que integram o espaço, o tempo, a doença e o vetor, neste último caso, utilizando-se métodos diferenciados de coleta do *Ae. aegypti*.

1.11. INQUÉRITOS ENTOMOLÓGICOS BASEADOS EM PESQUISAS DOMICILIARES

Como não há vacina para o dengue, os esforços para controlar esta arbovirose baseiam-se, atualmente, no monitoramento e no controle de vetores, através, principalmente, da eliminação ou do tratamento com inseticidas dos seus criadouros internos ou externos às casas. O objetivo destas ações, no entanto, não se define pela busca da erradicação do vetor, mas sim pela manutenção de níveis de infestação abaixo do limiar de transmissão (Nathan & Knudsen 1991, Reiter & Gubler 1997, Luz et al. 2003). Não obstante, dois problemas colocam-se como obstáculos para o cumprimento do referido objetivo, a saber: a dificuldade de se estimar a população real do vetor e o desconhecimento de qual seria o limiar abaixo do qual se interromperia a transmissão do dengue ou mesmo que impedisse a ocorrência de epidemias.

Os índices rotineiramente utilizados na vigilância dos níveis de infestação pelo *Ae. aegypti* são conhecidos como índices de *Stegomyia* (revisados por Focks 2003). Estes índices desempenham papéis importantes

na orientação dos principais programas de controle, no Brasil e demais países onde a dengue é endêmica ou epidêmica, ou mesmo campanhas de erradicação, como é o caso da febre amarela urbana. No entanto, existem múltiplos fatores envolvidos na transmissão do dengue que não são totalmente cobertos por estes indicadores. Como, por exemplo, a medida da abundância do adulto fêmea e a estimativa do risco de transmissão do dengue.

Alguns dos índices de *Stegomyia* mais empregados são o índice de infestação predial (IP) e o índice de Breteau (IB). O primeiro deles - IP - é definido como o percentual de imóveis positivos para imaturos de *Ae. aegypti* em uma dada localidade, enquanto o segundo - IB - quantifica o número de recipientes contendo larvas de *Ae. aegypti* por 100 imóveis pesquisados. Tradicionalmente, durante os inquéritos para a determinação destes índices, um agente inspeciona um em cada 10 imóveis ou mais, de uma rua e quarteirão. Estes índices consideram tanto o imóvel quanto o recipiente positivo independentemente do número de imaturos neles encontrados. Uma larva de terceiro instar, 100 larvas de quarto instar, uma pupa ou 100 pupas encontradas em quatro recipientes diferentes resultará em registro de quatro recipientes igualmente positivos no cálculo desses índices. Tais índices não consideram nem a capacidade dos diferentes recipientes em produzirem insetos adultos e nem permitem estimar a população adulta potencialmente gerada a partir dos recipientes investigados (Focks et al. 2000, Focks 2003).

O levantamento de índice rápido de infestação por *Ae. aegypti*, ou LIRAA, por sua vez, é uma estratégia diferenciada de seleção de domicílios durante os inquéritos entomológicos de dengue que, finalmente, resultará no cálculo do IP e do IB. Nele, é empregada uma técnica de amostragem randômica na qual uma unidade de amostra corresponde a 9.000 ou 12.000 imóveis. Na amostragem randômica do LIRAA, 450 imóveis de uma localidade são sorteados e visitados pelos agentes de endemias. Durante a inspeção, os imóveis são vistoriados para a busca de larvas ou pupas de *Ae. aegypti* e, em seguida, são calculados os IP e IB tal como descrito no parágrafo anterior (Coelho et al. 2008).

Outro índice que tem sido proposto para estimar risco de dengue tem como base o inquérito pupal (Focks et al. 2000, Focks 2003). Nele, a densidade de pupas de *Ae. aegypti* por hectare ou por pessoa em uma dada

área é considerada correlata à taxa local de emergência de adultos desta espécie, já que a mortalidade de mosquitos na fase de pupa é relativamente baixa, diferente do que pode ocorrer nas fases larvais (Getis et al. 2003). Os índices de pupa seriam, portanto, bons indicadores indiretos tanto da densidade local de adultos numa dada área quanto do risco de transmissão de dengue. Além disso, o inquérito pupal proporciona estimativas do número de pupas por criadouro, ou seja, informa sobre a produtividade de cada tipo de recipiente, que seguramente difere entre áreas sob vigilância e controle (Focks et al. 2000). Embora seja considerado um método melhor para estimação da população adulta em comparação com os inquéritos rotineiros de pesquisa larval preconizados pelos IP e IB, o inquérito pupal exige grande esforço de coleta, não sendo prático em larga escala.

1.12. INDICADORES DE INFESTAÇÃO COM BASE EM ARMADILHAS

O cálculo dos índices supracitados depende de uma busca ativa por depósitos suspeitos de infestação por formas imaturas de *Ae. aegypti* por parte do agente de saúde. Por conseguinte, o preparo, o empenho, o compromisso, a diligência do agente e a falta de equipamentos adequados podem influenciar de forma decisiva no resultado de uma pesquisa larval. É o agente que precisa encontrar o mosquito durante os minutos de sua visita a um imóvel e de seu desempenho depende o bom cálculo dos índices, como o IP e IB.

Visando aperfeiçoar e facilitar o processo de monitoramento da infestação, métodos de captura utilizando armadilhas têm sido desenvolvidos para a captura tanto de formas imaturas quanto de adultos de *Ae. aegypti*. Trata-se, obviamente, de um método de coleta em que a busca é passiva, uma vez que o mosquito, atraído pela armadilha, deixa nela sua desova ou fica nela apreendido. E, neste caso, o processo de captura num imóvel pode durar dias, durante os quais a armadilha estará operando, o que aumenta a chance da detecção do inseto em comparação com a busca ativa dos focos. Vários métodos e armadilhas inovadores e tradicionais têm sido propostos e empregados, embora ainda em teste.

O monitoramento baseado nas coletas de formas imaturas com armadilhas desenvolvidas para este fim, as ovitrampas e as larvitampas, foram pioneiros neste sentido. O emprego destas armadilhas vem ocorrendo na

vigilância indireta das populações adultas de *Ae. aegypti*, além de representarem importantes instrumentos de avaliação e do monitoramento do impacto de certas medidas de controle (Fay & Perry 1965, Mogi et al. 1990, Kuno 1991, Braga et al. 2000). Além disso, a ovitampa, em particular, tem sido utilizada para fornecer dados tanto sobre a distribuição espacial quanto sobre a presença do *Ae. aegypti* e a existência de *hotspots* em dada área (Souza-Santos 1999, Honório et al. 2003). *Hotspots* são consideradas áreas que apresentam alta densidade de *Ae. aegypti* dentro de um bairro, setor censitário ou cidade. Ovitampas modificadas, contendo maior substrato para oviposição e *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), têm sido propostas para atuarem simultaneamente como métodos de monitoramento da densidade do vetor e de controle (Regis et al. 2008).

Em estudos de campo, quando comparadas com os inquéritos larvares, a ovitampa tem demonstrado ser mais sensível na detecção do vetor, além de representar um método econômico e operacionalmente fácil (Braga et al. 2000, Regis et al. 2008). Embora úteis para determinação de nível de infestação em áreas com baixa densidade vetorial, acredita-se que as ovitampas não se mostram adequadas para o monitoramento em áreas de alta densidade populacional de *Ae. aegypti*, pois, neste caso, cada uma delas tende a ser visitada por muitas fêmeas em poucos dias. Conseqüentemente, o indicador “ovitampas positivas” deixa de se correlacionar com o número provável de fêmeas aladas (Lourenço-de-Oliveira et al. 2008a). Além disso, o número de ovos colocados varia muito de fêmea para fêmea, de tal modo que não é possível estabelecer-se uma correlação simples e direta entre número de ovos encontrado por armadilha, ou num conjunto de armadilhas operando numa área, e o número de fêmeas ovipondo neste espaço. Por isso, em geral não se recomenda o uso de ovitampas como ferramenta única para a estimativa quantitativa do risco de transmissão de dengue, uma vez que esta estimativa estará correlacionada com a densidade de adultos fêmea (Gomes 1998, Focks 2003, Braga & Valle 2007).

Assim, iniciativas mais recentes sugerem o uso de armadilhas para adultos, que teriam a vantagem de estimar diretamente essa população. A correlação entre o número de adultos coletados e o número de humanos na área de estudo forneceria o número de adultos de *Ae. aegypti* por pessoa,

sendo este um dos indicadores utilizados para quantificar o risco de transmissão de dengue mais próximo da realidade que os índices larvários IP e IB, e mesmo os inquéritos pupais (Focks et al. 2000, Fávaro et al. 2006, 2008). Várias armadilhas e métodos complementares ao seu emprego estão sendo testados ou até mesmo utilizados para capturar fêmeas adultas de *Ae. aegypti*, tais como Adultrap, BGS-Trap, ovitrampas colantes (*Sticky ovitrap*), dentre as quais uma adaptação nomeada MosquiTrap. Estas armadilhas consistem de diferentes combinações de atrativos associados a diversos mecanismos para a captura de fêmeas (Eiras 2002, Kröckel et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2008a). Além de armadilhas, um método de coleta de adultos é através da aspiração, empregando-se aparelhos movidos à bateria (Scott et al. 2000, Lima-Camara et al. 2007). Os aspiradores são utilizados para capturar fêmeas de *Ae. aegypti* que estão ativas ou em repouso dentro e fora das residências, permitindo boa avaliação da distribuição deste vetor em áreas urbanas. Entretanto, este método depende da habilidade do coletor para capturar as fêmeas, sendo mais utilizado em projetos de pesquisa do que nas atividades de rotina dos programas de controle do dengue (Fávaro et al. 2008).

A BGS-Trap (The BG-Sentinel Trap) utiliza diferentes atraentes encontrados na pele humana e, portanto, captura essencialmente fêmeas em busca de repasto sanguíneo. Alguns autores verificaram que esta armadilha captura mais fêmeas nos estágios iniciais do desenvolvimento ovariano e que pode ser também utilizada para monitorar a circulação dos vírus dengue, uma vez que a maioria das fêmeas permanece viva na armadilha (Kröckel et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2008a).

Uma ovitrampa colante consiste de um reservatório, geralmente de plástico preto, contendo ou não um atraente, revestido internamente por um cartão colante que apreende as fêmeas que pousarem antes ou após a postura. Os atraentes podem ser desde água e soluções aquosas de infusões de vegetais, como o feno, até atraentes sintéticos. Vários tipos de ovitrampas colantes têm sido utilizados como métodos alternativos para captura de fêmeas de *Ae. aegypti*. A ovitrampa colante tem se mostrado um importante instrumento na investigação científica de comportamentos de oviposição e dispersão deste vetor, sendo assim de grande importância em estudos epidemiológicos e ecológicos (Ritchie et al. 2003, Facchinelli et al. 2007, Gama

et al. 2007).

No Brasil houve, recentemente, o desenvolvimento de duas armadilhas para a captura de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti*: MosquiTRAP e Adultrap (Eiras 2002, Gomes et al. 2007). A MosquiTRAP, um tipo de ovitrampa colante, utiliza, além da água, um atraente de oviposição sintético, o Atraedes (Ecovec Ltda), que libera um odor que atrai a fêmea para ovipor e substitui a infusão de feno. Estudos mostram que esta armadilha é eficiente na captura de fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* e permite contagem e cálculo de níveis de infestação (Fávaro et al. 2006, 2008).

A Adultrap consiste de um jarro externamente telado com arame de cor preta e utiliza primariamente a água como atraente, embora também possa utilizar infusão de feno como fonte de atração para fêmeas em busca de sítios de oviposição. As fêmeas penetram, através de orifícios pequenos, em câmaras laterais ao recipiente contendo água, mas não conseguem alcançar a água e, via de regra, não encontram a saída para o meio externo e ficam presas nas câmaras. Esta armadilha apresenta a vantagem de utilizar água de torneira para atrair fêmeas de *Ae. aegypti* e tem sido usada por pesquisadores para avaliar a taxa de paridade de fêmeas e o isolamento do vírus dengue (Gomes et al. 2007, Maciel-de-Freitas et al. 2008a).

No contexto dos programas de controle, a utilidade e a eficiência dessas diferentes armadilhas ainda se encontra em fase de avaliação. Além de ser eficiente na captura de fêmeas de *Ae. aegypti*, várias outras características são importantes para o sucesso do uso de armadilhas em programas de controle, tais como ser: 1) capaz de determinar os índices de infestação de *Ae. aegypti*, 2) de fácil instalação, 3) de fácil obtenção de resultados, 4) aceitável pelo morador dos domicílios onde serão instaladas, 5) resistente, 6) de fácil manutenção e 7) de baixo custo.

1.13. ASSOCIAÇÃO ENTRE O NÍVEL DE INFESTAÇÃO MEDIDO PELOS DIVERSOS INDICADORES E O RISCO DE TRANSMISSÃO DE DENGUE

No Brasil, foram poucos os estudos que tentaram encontrar correlação entre os índices de infestação vetorial com a ocorrência de transmissão de dengue. Além disso, os seus resultados são discordantes e pouco se avançou no conhecimento neste campo, na determinação de tal correlação de forma

consistente e na construção de indicadores de risco de transmissão desta arbovirose.

Em Salvador, Bahia, um estudo prospectivo forneceu evidências de uma epidemia silenciosa de dengue ocorrida entre 1998 e 1999, período considerado interepidêmico pelos órgãos de saúde local. Nesta pesquisa, os autores encontraram correlação positiva, porém não significativa ($r=0,17$; $p=0,36$) entre os resultados de soroincidência e valores de infestação predial em 30 áreas sentinela da cidade. Além disso, verificaram que mesmo um IP de 1% permitiu a veiculação de dengue, mas não conseguiram determinar que nível de infestação corresponderia a um limiar ou valor crítico para que não ocorra transmissão ou para que não se estabeleçam epidemias (Teixeira et al. 2002b).

Num estudo realizado em Fortaleza, Ceará, Pontes et al. (2000), sugeriram que as ações de controle deveriam se intensificar de modo a reduzir o IP para 1%, ou seja, que $IP \geq 1\%$ seria crítico para o surgimento de epidemias de dengue, visto que os quatro períodos de transmissão epidêmica na cidade estiveram associados a IPs de 4%, 3%, 7% e 5%.

Um estudo realizado em Belo Horizonte, Minas Gerais, com dados obtidos de fontes secundárias, verificou uma correlação fraca, mas estatisticamente significativa, entre a taxa de incidência mensal do dengue com os valores de infestação predial, tanto nos distritos sanitários quanto nas áreas de abrangência das unidades básicas de saúde. Os autores verificaram que mesmo em situações em que o IP era de 1% havia manutenção da circulação viral e a ocorrência de casos de dengue (Corrêa et. al. 2005).

A baixa associação encontrada entre os índices de infestação e o risco de transmissão tem várias explicações possíveis: i) a associação não é detectada devido à baixa qualidade da coleta de dados entomológicos; ii) os dados disponíveis de incidência em humanos são ruins, visto que se baseiam essencialmente em diagnósticos clínicos e que se reconhece que há muitas infecções assintomáticas ou não contabilizadas; iii) o índice de infestação predial é inadequado para mensurar o nível de infestação, já que tenta inferir sobre a frequência de adultos, que é a fase responsável pela transmissão, a partir de coletas de larvas. Com efeito, quanto ao componente entomológico, tais estudos foram baseados essencialmente em índices de infestação, em

especial no IP, fornecidos pelas Secretarias de Saúde locais, cujos programas de controle do dengue podem sofrer periódicas interferências de ordem política. Além disso, possíveis falhas nas operações de campo se refletirão diretamente no cálculo do IP/IB. Para as três explicações, a solução seria a produção de melhores indicadores de infestação e de incidência.

Por outro lado, é possível também que se estabeleça uma associação direta entre níveis de infestação e transmissão de dengue. Alguns autores sugerem que a capacidade vetorial do mosquito varie dependendo das condições ambientais, da longevidade, taxa de picada, susceptibilidade ao vírus, entre outros fatores. Sendo assim, não só a densidade de mosquitos como também o comportamento e a competência vetorial de suas populações, afetaria a transmissão. Com efeito, é possível também que a taxa de transmissão seja afetada por características da dinâmica populacional do vírus e não do vetor em si (Chevillon & Failloux 2003). Por exemplo, o vírus pode evoluir para formas mais infectantes para o vetor e mais virulentas para humanos em determinadas épocas. Por fim, a taxa de transmissão depende também de características da população humana. Os indivíduos podem ter diferentes graus de exposição e/ou susceptibilidade à infecção ou, ainda, se a soroprevalência for alta, a transmissão pode simplesmente não ocorrer, devido à chamada imunidade de rebanho (Halstead 2008).

1.14. JUSTIFICATIVA

Há muito se tem detectado e discutido as dificuldades de utilização dos índices de infestação tradicionais – IP/IB - para monitoramento dos vetores de dengue, a predição de epidemias e a determinação de transmissão endêmica. A frequência do contato homem-vetor o grau de circulação dos diferentes sorotipos de dengue são distintos de acordo com as características das diferentes zonas de uma cidade como o Rio de Janeiro. Contudo, as metodologias de controle empreendidas são idênticas, independentemente da situação epidemiológica e do conhecimento do real nível de infestação de mosquitos ao nível local. Este desconhecimento leva ao desperdício de recursos humanos e financeiros. Em função destas dificuldades, encontrar um indicador de infestação que possa ser utilizado para gerar alertas de risco de transmissão é fundamental em áreas endêmicas de dengue (OMS 2003). Além disso, é premente realizar estudos que busquem indicadores que possam estimar e correlacionar os níveis de densidade populacional dos mosquitos vetores com variáveis climáticas, ambientais e transmissão de dengue.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar indicadores da distribuição espacial e temporal de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e avaliar sua relação com as variáveis climáticas, ambientais e de transmissão de dengue em três áreas na cidade do Rio de Janeiro com diferentes características socioeconômicas e urbanísticas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar a dinâmica populacional de *Ae. aegypti* através de índices de infestação obtidos por duas armadilhas de oviposição, em Higienópolis (urbano), Tubiacanga (suburbano) e Palmares (favela), na cidade do Rio de Janeiro, e sua associação com variáveis meteorológicas locais;

Avaliar o padrão espacial da soroprevalência e das infecções recentes dos vírus dengue em humanos e sua potencial associação com a densidade de adultos de *Ae. aegypti* em três localidades do Rio de Janeiro com diferentes características socioeconômicas e urbanísticas;

Analisar a distribuição espacial e temporal de *Ae. aegypti* e sua associação com a presença de pontos estratégicos em três localidades do Rio de Janeiro;

Caracterizar o padrão espacial e avaliar a coerência entre índices de infestação medidos por armadilhas de oviposição (ovos e adultos) na identificação de áreas de maior infestação em três localidades do Rio de Janeiro.

3. RESULTADOS

Os resultados deste trabalho estão reunidos em quatro manuscritos: dois aceitos para publicação, um submetido e um em preparação. Cada manuscrito é apresentado como um capítulo individual, precedido de uma página de rosto contendo informações relevantes da publicação.

Aceitos para publicação:

1- N.A. Honório, C.T. Codeço, F.C. Alves, M.A.F.M. Magalhães, R. Lourenço-de-Oliveira. 2009. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *Journal of Medical Entomology* (no prelo).

2- Honório NA, Nogueira RMR, Codeço CT, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAFM, Araújo JMG, Araújo ESM, Quintela MG, Pinheiro LS, Pinel CS, Lourenço-de-Oliveira R. 2009. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. (aceito).

Submetido:

3- Reis IC, Honório NA, Magalhães MAFM, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C. 2009. Key Sites for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Infestation Monitoring in Three Different Dengue Endemic Environments of Rio de Janeiro, Brazil. (*Acta Tropica*)

Em preparação:

4- Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Nobre AA, Simões TC, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAF, Reis IC, Codeço CT. Egg and adult traps for *Aedes aegypti* suggest different spatial patterns of density in Rio de Janeiro, Brazil. (Memórias do Instituto Oswaldo Cruz)

3.1. Artigo 1. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps

Referência Bibliográfica: N.A. Honório, C.T. Codeço, F.C. Alves, M.A.F.M. Magalhães, R. Lourenço-de-Oliveira. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *Journal of Medical Entomology* 46(5): 1001-1014.

Situação do Manuscrito. Publicado

Este artigo atende ao objetivo específico 1.

Apresentação. Objetivou-se neste trabalho caracterizar o padrão temporal da dinâmica populacional de *Aedes aegypti* em três localidades do Rio de Janeiro e sua associação com variáveis meteorológicas locais. Além disso, buscou-se comparar a positividade e os índices de densidade de *Ae. aegypti* obtidos através de coletas empregando duas armadilhas de oviposição: ovitrampas e MosquiTRAPs.

Temporal Distribution of *Aedes aegypti* in Different Districts of Rio De Janeiro, Brazil, Measured by Two Types of Traps

N. A. HONÓRIO,^{1,2} C. T. CODEÇO,³ F. C. ALVES,⁴ M.A.F.M. MAGALHÃES,⁵
AND R. LOURENÇO-DE-OLIVEIRA¹

J. Med. Entomol. 46(5): 1001–1014 (2009)

ABSTRACT Dengue dynamics in Rio de Janeiro, Brazil, as in many dengue-endemic regions of the world, is seasonal, with peaks during the wet-hot months. This temporal pattern is generally attributed to the dynamics of its mosquito vector *Aedes aegypti* (L.). The objectives of this study were to characterize the temporal pattern of *Ae. aegypti* population dynamics in three neighborhoods of Rio de Janeiro and its association with local meteorological variables; and to compare positivity and density indices obtained with ovitraps and MosquiTraps. The three neighborhoods are distinct in vegetation coverage, sanitation, water supply, and urbanization. Mosquito sampling was carried out weekly, from September 2006 to March 2008, a period during which large dengue epidemics occurred in the city. Our results show peaks of oviposition in early summer 2007 and late summer 2008, detected by both traps. The ovitrap provided a more sensitive index than MosquiTrap. The MosquiTrap detection threshold showed high variation among areas, corresponding to a mean egg density of ≈ 25 –52 eggs per ovitrap. Both temperature and rainfall were significantly related to *Ae. aegypti* indices at a short (1 wk) time lag. Our results suggest that mean weekly temperature above 22–24°C is strongly associated with high *Ae. aegypti* abundance and consequently with an increased risk of dengue transmission. Understanding the effects of meteorological variables on *Ae. aegypti* population dynamics will help to target control measures at the times when vector populations are greatest, contributing to the development of climate-based control and surveillance measures for dengue fever in a hyperendemic area.

KEY WORDS population dynamics, *Aedes aegypti*, meteorological variables, dengue, traps

Dengue is the most prevalent mosquito-borne viral disease in the world and an increasingly important cause of morbidity and mortality. Since the reinvasion of Brazil by the primary dengue vector *Aedes aegypti* (L.) in 1977, this country has experienced several dengue epidemics, with 4.5 million cases of dengue until 2008 (Ministério da Saúde 2008). Dengue was first recognized in Brazil in 1981–1982, during an outbreak in the city of Boa Vista, Roraima, northern Brazil. In this outbreak, DENV-1 and DENV-4 serotypes were isolated, and 11,000 cases were confirmed (Osanaí et al. 1983). Countrywide transmission of DENV-1 began only 4 yr later, when a large dengue epidemic started in metropolitan Rio de Janeiro. Rio de Janeiro was the port of entry for DENV-2 and DENV-3 into the country, in 1990 and 2001, respectively. In 2001–2002, DENV-3 caused a widespread

and severe epidemic with 368,460 cases and 91 deaths (Schatzmayr 2000; Nogueira et al. 2001, 2002). In 2007–2008, during this study, an even more severe epidemic (in terms of case-fatality ratio) occurred (Loureño-de-Oliveira 2008), with 316,287 cases notified until October 2008, in Rio de Janeiro, and 174 deaths (52 from dengue hemorrhagic fever, 39 cases from dengue shock syndrome, and 83 from other dengue-related complications [SESDEC/RJ 2008]). This latter epidemic, mainly caused by DENV-2, was characterized by a shift toward lower age groups (Teixeira et al. 2008).

Rio de Janeiro is the second largest city of Brazil, with ≈ 6 million inhabitants (IBGE 2000). Dengue dynamic in Rio de Janeiro, as in many endemic regions of the world, is seasonal, with the highest dengue activity during the late summer (Nogueira et al. 2002, Vezzani and Carbajo 2008, revised by Halstead 2008). Monthly mean temperature and rainfall in Rio de Janeiro (10-yr average) show that the area is characterized by a rainy warm season (November–April), with mean monthly temperatures ranging between 24 and 27°C and rainfall ranging between 100 and 170 mm/mo; and a dry cool season (May–October), with mean temperatures ranging between 21 and 24°C and rainfall between 50 and 100 mm/mo ([¹ Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, CEP 21045-900, Brasil.](http://www.</p>
</div>
<div data-bbox=)

² Corresponding author, e-mail: honorio@ioc.fiocruz.br.

³ Programa de Computação Científica-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

⁴ Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro-Fundação Nacional de Saúde, Av. Pedro II 278, São Cristóvão, Rio de Janeiro, Brasil.

⁵ Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde-ICICT-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Table 1. Characteristics of the three study areas based on Census data and surveyed houses

Characteristic	Higienópolis (urban), %	Tubiacanga (suburban), %	Palmares (suburban slum), %	<i>P</i> (χ^2 test) ^a
Access to piped water ^b	99.3	99.1	29.3	<0.001
Only artesian well ^b	0.0	14.0	64.4	<0.001
Sewage service ^b	92.2	46.6	24.2	<0.001
Garbage service ^b	99.3	99.4	97.5	0.89
Poorly maintained households ^c	4.9	25.9	20.0	<0.001
Households with yards (with trees/ cemented) ^c	33.3/56.8	44.5/ 45.7	52.5/32.5	0.18/0.07
Reporting daily access to water ^c	92.6	85.2	15.0	<0.001
Reporting no piped water ^c	0.0	0.0	45.0	
Yards with potential larval habitats ^c	48.1	54.3	63.8	0.4
Head of family with only basic schooling ^c	34.6	23.5	27.5	0.41
Graduated head of family ^c	25.9	3.7	5.0	<0.001

^a Chi-square test for differences among areas.

^b Census data (IBGE 2000).

^c Surveyed houses (*n* = 80 per neighborhood).

bdclima.cnpm.embrapa.br/). The seasonal dynamics of dengue transmission has been attributed to the effect of climate on its vector population dynamics. Temperature and rainfall influence many aspects of *Ae. aegypti* life history: temperature affects egg hatch (Gubler 1988; Focks et al. 1993a,b), egg viability (Parker 1986), larval development (Rueda et al. 1990), blood-feeding behavior (Crans et al. 1996), length of the gonotrophic cycle (Pant and Yasuno 1973), female fecundity (Day et al. 1990), adult size (Rueda et al. 1990, Tun-Lin et al. 2000), and adult longevity and dispersal (Hawley 1985, Honório et al. 2003, Maciel-de-Freitas et al. 2007a). Rainfall may affect the abundance and productivity of breeding sites by reducing larval competition and stimulating egg hatching (Moore et al. 1978, Loumbos 1981, Honório et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2007b). Low relative humidity has been associated with reduced egg viability, adult survival, and fecundity (Canyon et al. 1999, Costanzo et al. 2006, Luz et al. 2008).

Dengue transmission and vector distribution also show strong spatial heterogeneity. In Rio de Janeiro, higher infestation levels are associated with densely populated neighborhoods, in which unplanned urbanization, irregular sanitation and water supply, and lack of garbage collection foster proliferation of potential breeding sites for *Ae. aegypti*, affecting the abundance of dengue vectors and transmission of the dengue virus (Tauil 2001, Luz et al. 2003).

Mathematical models suggest that variability in mosquito recruitment, together with short-term cross immunity to virus serotypes, are important factors modulating dengue temporal dynamics as well as the coexistence of multiple strains (Bartley et al. 2002, Wearing and Rohani 2006). Thus, spatial and temporal variation in climate, along with spatial variation in human population and conditions in the human environment, should affect conditions for the growth of the primary dengue vector (Wu et al. 2007, Melo et al. 2007) and the transmission of dengue viruses. Despite the importance of climate for the transmission of dengue, few studies have examined detailed longitudinal data sets describing *Ae. aegypti* population dynamics (Scott et al. 2000).

In this study, we present the results of a 1.5-yr continuous survey of *Ae. aegypti* population dynamics, encompassing two hot-wet seasons and one dry-cool season, in three distinct neighborhoods of Rio de Janeiro, by using two types of traps that attract ovipositing females. These neighborhoods differ in income, urbanization, access to water (which influences water storage habits) and garbage collection, presence of yards, vegetation coverage, and history of dengue prevalence. The main objective was to characterize the temporal distribution of *Ae. aegypti* abundance in Rio de Janeiro and its association with local meteorological variables. We hypothesize that temperature should have a similar effect in all three areas, whereas the effect of rainfall should vary according to characteristics of the areas, such as size of outdoor areas and availability of more productive containers.

Materials and Methods

Study Areas. Surveys were performed in three neighborhoods of Rio de Janeiro city: Higienópolis, Tubiacanga, and Palmares, which differ in human population density, sanitation, vegetation cover, and history of dengue (Table 1; Fig. 1). Higienópolis and Tubiacanga are geographically closer (13.1 km apart) than Palmares (30.7 km and 45.1 km from Higienópolis and Tubiacanga, respectively). In March 2007, house index (percent houses infested by *Ae. aegypti*) (Connor and Monroe 1923) was 3.03, 9.83, and 19.48 for Palmares, Higienópolis, and Tubiacanga, respectively. In 2008, Rio de Janeiro city notified 125,988 dengue cases and 100 deaths. In this epidemic, the district of Higienópolis reported 350 dengue cases, whereas 583 were reported in the Galeão area (where the neighborhood of Tubiacanga is located) and 580 in the Vargem Pequena area (where the suburban slum of Palmares is located). The total incidence rates (1:100,000) were 2110.1, 2695.0 and 4802.4 in Higienópolis, Galeão, and Vargem Pequena, respectively (SMS/RJ 2008).

Higienópolis. Higienópolis (22° 52'25" S, 43° 15'41" W) is a neighborhood located within a densely populated urban area in Rio de Janeiro city (human pop-

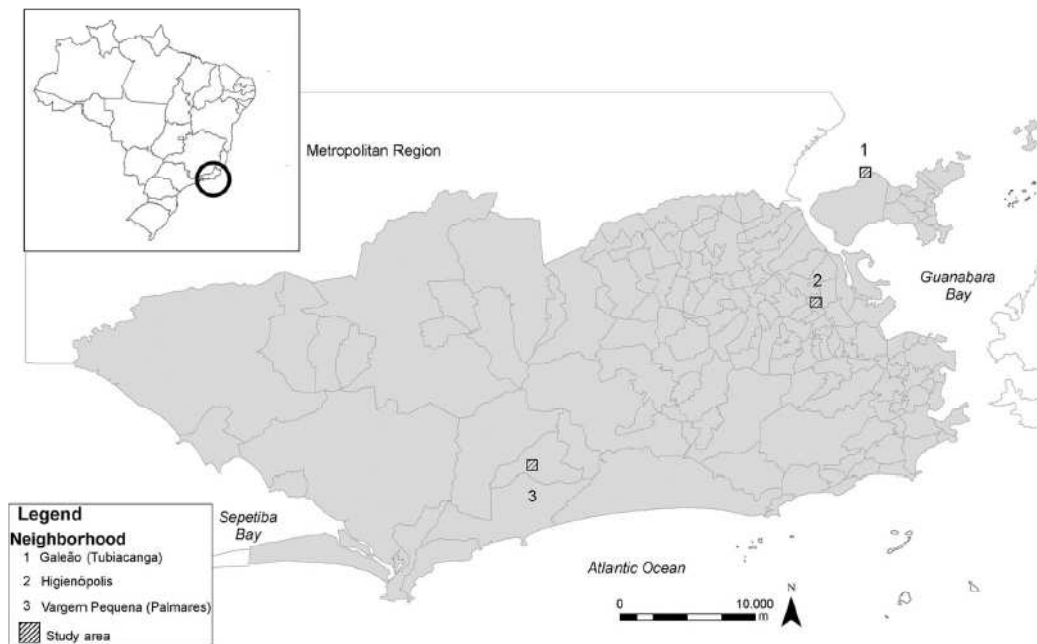


Fig. 1. Map of Rio de Janeiro, Brazil, showing the location of the three studied neighborhoods.

ulation density 15,891 inhabitants per km²). One of the major city's highways, the Yellow Line, crosses the region. The area is totally urbanized, streets are paved; water supply and garbage services are good. Residents, mostly middle class and aged, live in houses with no or small cemented yards. Vegetation coverage is low. This neighborhood, however, is surrounded by some of the largest slums of Rio de Janeiro, with favorable conditions for *Ae. aegypti* proliferation.

Tubiaca. Tubiaca (22° 47'08" S, 43° 13'36" W) is a small suburban neighborhood located at the border of the Governador Island, in the Guanabara Bay (human population density 8,219 inhabitants per km²). This mainly residential neighborhood is mostly occupied by houses with large open yards. Streets are unpaved, garbage collection is regular, but access to water is irregular, and residents often store water in containers, which are potential development sites for immature *Ae. aegypti* (Maciel-de-Freitas et al. 2007a,b).

Palmares. Palmares (22° 59'26" S, 43° 27'36" W) is a disordered human settlement started in the 1990s, a suburban slum located in one of the major axes of expansion of the city, to the West. Between the rain forest mountainous range and a polluted river, the human population density in Palmares is 2,732 inhabitants per km². Housing distribution is crowded and irregular, with narrow unpaved alleys. Sixty-six percent of the houses investigated reported obtaining water from wells, and water storage in containers is common. Vegetation coverage is low within the neighborhood but very dense around it.

Meteorological Variables. Air temperature was measured at two meteorological stations located <5 km from each of the study areas (the same temperature data were used for Tubiaca and Higienópolis). Rainfall data for each area were obtained from Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro (GeoRio-<http://www.rio.rj.gov.br/georio/alerta/tempo>).

Entomological Survey. Two types of traps for ovipositing females were used, ovitraps and MosquiTraps. Ovitrap are black plastic containers, filled with 300 ml of a 10% hay infusion, and a wooden paddle held on the wall for oviposition (Fay and Eliason 1966, Reiter et al. 1991, Honório et al. 2003). The MosquiTrap version 1.0 (Ecovec Ltd., Belo Horizonte, MG, Brazil) consists of a matte black container (16 cm in height by 11 cm in diameter) with ≈280 ml of water and a removable sticky card. A synthetic oviposition attractant, *AtrAedes* (Ecovec Ltd.), is placed inside the MosquiTrap to attract gravid female mosquitoes (Fávaro et al. 2006). Thus, both traps attract gravid females, but the ovitrap captures the eggs, whereas the MosquiTrap captures the ovipositing female. Using two types of traps for the same population enabled us to generate two simultaneous, independent, time series for each area, which will be used as replicates for validating the estimated meteorological variables effects.

The entomological survey was carried out weekly, from September 2006 to March 2008 during 82 continuous weeks, encompassing two wet-hot seasons and one dry-cool season. In each area, a grid of 500 by 500 m was defined and 80 points randomly selected. The house nearest to each point was selected. Only

houses ≥ 50 m apart were considered. Householders were invited to participate in the study and, upon consent, were interviewed. We recorded information about the house characteristics and the number and education of household members (Table 1). After owner's written consent, traps were placed in these 80 randomly selected houses. One ovitrap was placed in each of 40 houses and one MosquiTrap was placed in each of the other 40 houses. Traps were placed in the peridomestic area, preferably in the garden or in the shade. All traps were inspected weekly during 82 wk. During the inspection, hay infusion in the ovitraps was replaced and wooden paddles collected and individually packed in plastic bags. In the laboratory, positive paddles were stored at 25–28°C and >80% humidity and immersed in water for 1 wk to hatch larvae. Hatched larvae were reared to fourth instar and identified. MosquiTraps, during the inspections, had their sticky cards taken to the laboratory where captured mosquitoes were removed with the aid of probes and forceps, to be identified (Consoli and Lourenço-de-Oliveira 1994 taxonomic keys) and counted under a stereomicroscope. Attractants and sticky cards were usually replaced every 4 wk, but sticky cards were replaced earlier when found to be dusty or dirty. The set of inspected 80 houses in each area remained the same during the whole study (Table 1).

Data Analysis. For the analysis, we calculated two indices: the proportions of positive ovitraps and MosquiTraps per week ("positive" means at least one egg or adult of *Ae. aegypti*) and density indices, calculated as the total number of eggs (or adults) collected in an area, per week, divided by number of traps. To test for differences between areas in total number of *Ae. aegypti* captured, we used chi-square tests.

To infer associations between meteorological variables and mosquito infestation, we fit generalized linear models, using negative binomial distribution and a log link function. The response variable was either the abundance of eggs per week, (D_w), or the abundance of adults per week, (A_w). The explanatory variables were lagged mean air temperature and lagged total precipitation (mm rainfall). An investigation of autocorrelation plots suggested that an auto-regressive term of first order was also necessary.

The full model took the following form:

$$\begin{aligned} \text{Log}[E(Y_w)] = & a_0 + a_1 Y_{w-1} + b_0 \text{Temp}_w \\ & + b_1 \text{Temp}_{w-1} + b_2 \text{Temp}_{w-2} + \dots \\ & + b_n \text{Temp}_{w-n} + c_0 \text{Rain}_w + c_1 \text{Rain}_{w-1} \\ & + c_2 \text{Rain}_{w-2} + \dots + c_n \text{Rain}_{w-n} + e_t \end{aligned}$$

where $E(Y_w)$ is the expected mosquito abundance (either D_w or A_w), Temp_w is the mean air temperature at week w , and Rain_w is the total amount of rainfall at week w (millimeters). The indices $w-1$ to $w-n$ stands for the time lags.

Because there is strong correlation between temperature and rainfall measured a few weeks apart, multicollinearity is a problem when fitting such model, which may lead to unstable estimation. To reduce this

problem, we opted to use distributed lag modeling (DLM), an approach that has been used in social sciences and pollution epidemiology to estimate lagged effects of climate more efficiently (Souza et al. 2007). In distributed lag models, the variation of the coefficients b_i (i are the lags) is constrained to fit a polynomial function. The motivation behind this approach is the realization that the effect of temperature and rainfall on mosquito density is not instantaneous, but distributes through time in a smooth way.

The same set of nested models was fitted to all three localities: an AR1 model, a model with lagged temperature only, and a model with lagged temperature plus lagged rainfall (we also fitted models with rainfall only, which resulted in poorer fitting compared with temperature only). Akaike's Information Criterion (AIC) was used to assess fitness improvement due to variable addition (Akaike 1974).

To investigate potential nonlinearities on the effects of rainfall and temperature on abundance indices, we also fitted a set of generalized additive models (GAM) with log link function and the negative binomial distribution, to the same outcome variables. GAM is an extension of generalized linear models that allows for the inclusion of nonparametric smoothing terms (Wood 2006) in the place of the constant parameters. By plotting the fitted smooth terms versus the predictor, one may investigate the nature of the relationship between the predictor and the outcome variable, detecting potential nonlinearities.

We started with models with the same structure shown for the DLM analysis, but only keeping the temperature and rainfall lagged terms that proved significant, according to this analysis. Models with and without smoothing terms were compared using AIC (Akaike 1974). Models were fitted in R 2.6.0, using the libraries mgcv and MASS (R Development Core Team 2006). Goodness-of-fit was assessed by AIC, residual plots, autocorrelation function plots, and Spearman's correlation between predicted and observed values.

Results

General Entomological Results. Using ovitraps, 703,649 eggs of *Aedes* species were collected, the majority being *Ae. aegypti* (Table 2) and the remaining being *Aedes albopictus* (Skuse). Approximately half of all eggs were collected in the suburban area (Tubiãcanga), one third in the urban area (Higienópolis), and the remaining 18% in the suburban slum (Palmares). Differences in total eggs collected per area were significant ($\chi^2 = 84128$, $df = 2$, $P < 0.001$) (Table 2).

Using MosquiTraps, 15,059 mosquitoes were captured. Contrasting with the ovitrap, MosquiTraps also attracted non *Aedes* species, mainly *Culex quinquefasciatus* Say. This was especially noticeable in the suburban slum (which is bordered by a polluted river), where $\approx 85\%$ of all specimens collected were non-*Aedes* species (Table 2). Comparing the three areas, traps in the suburban slum captured *Ae. aegypti* adults the least (only 7% of all captures), whereas traps in the

Table 2. Descriptive statistics of meteorological variables and infestation indices based on 40 MosquiTraps and 40 Ovitrap installed for 82 wk in three study areas in Rio de Janeiro, Brazil

	Higienópolis (urban)	Tubiacanga (suburban)	Palmares (suburban slum)	<i>P</i> (χ^2 test) ^a
MosquiTrap				
Mosquitoes	4,571	5,247	5,241	<0.001
<i>Ae. aegypti</i>	3,977 (87%)	3,854 (73%)	641 (12%)	<0.001
Mean \pm SD	1.2 \pm 0.4	1.2 \pm 0.5	0.2 \pm 0.1	
% female <i>Ae. aegypti</i>	98	98	96	
<i>Ae. albopictus</i>	40 (0.8%)	173 (3.3%)	131 (2.5%)	<0.001
% female <i>Ae. albopictus</i>	95	100	92	
% other mosquitoes	12	24	85	<0.001
% Missing traps	3	1.7	2.7	
Ovitrap				
Number of eggs	252,818 (36%)	323,476 (46%)	127,355 (18%)	<0.001
% <i>Ae. aegypti</i>	98	96	91	
Mean \pm SD	77 \pm 30	101 \pm 44	39.7 \pm 20	
% <i>Ae. albopictus</i>	0.1	0.4	2.2	
% Missing traps	3	1.6	2.9	
Weather				
Rainfall (mm)	1392	1584	1997	<0.001
% Rainy days ^b	34	34.9	35.9	
Mean temp ($^{\circ}$ C)	24.4 ^c	24.4 ^c	25.6	

^a Chi-square test for differences among areas.

^b Rainy day was any day with rainfall (in millimeters) > 0.

^c Data obtained at the same meteorological station.

other two neighborhoods shared similar values ($\chi^2 = 0.0034$, $df = 1$, $P = 0.9533$). Ninety-eight percent of all *Ae. aegypti* collected were females.

Temporal Pattern of Positive Premises. We found very high proportion of positive ovitrap per week in both urban and suburban neighborhoods (Higienópolis-

lis and Tubiacanga, respectively), with indices averaging 70–80% year-round and summer peaks reaching 90–100%. In the winter, infestation declined but rarely dropped below 60% (Fig. 2). The suburban slum, however, had lower infestation, with an average of 50% positive premises year round, summer peaks of 70–

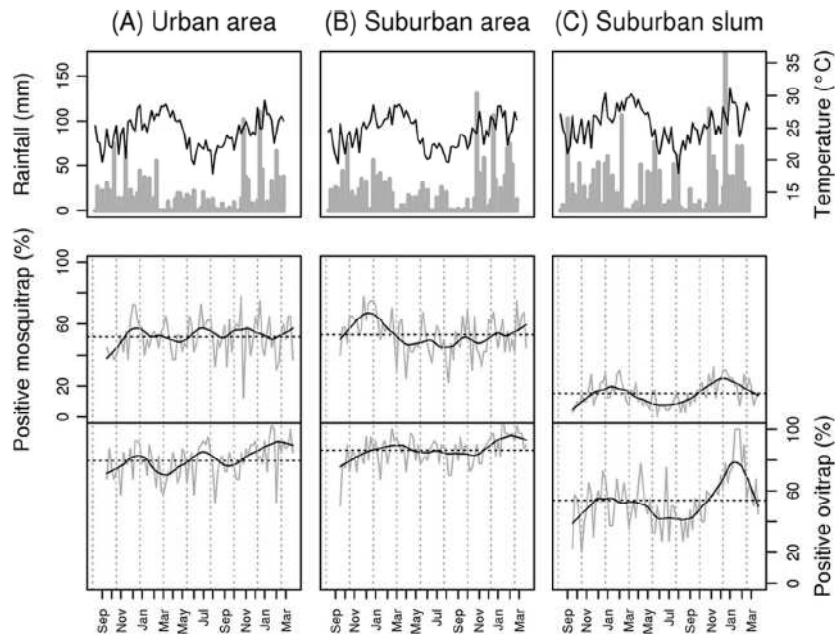


Fig. 2. Time series of mean temperature (Celsius) per week, total rainfall (millimeters), positive MosquiTraps (percentage), and positive ovitrap (percentage), from September 2006 to March 2008, in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum). The solid curve is a natural cubic smoothing spline, and the horizontal line indicates the overall mean trap positivity.

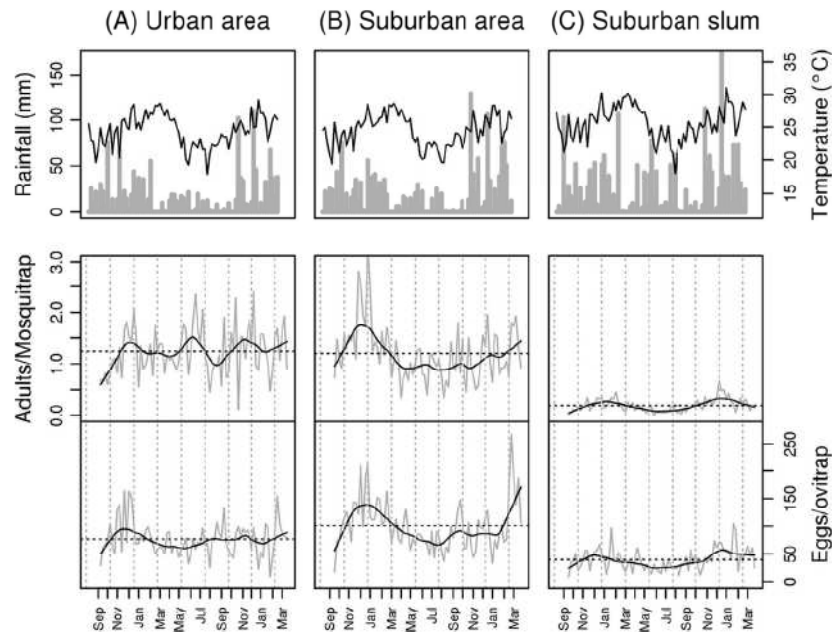


Fig. 3. Time series of mean temperature (Celsius) per week, total rainfall (millimeters), mean adult density per MosquiTraps, and mean egg density per ovitrap from September 2006 to March 2008, in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum).

90%, and winter decline to 20–30%. Time series of all three areas presented oscillations and the second summer had the highest peak.

Using the proportion of positive MosquiTraps to calculate infestation, we obtained lower indices relative to ovitrap. Again, the suburban slum was the least infested, with an average of 15% positivity, summer peaks of $\approx 30\%$, and winter declines to 5–10%. The urban and suburban areas shared similar infestation levels ($\approx 50\%$; summer peaks of $\approx 70\%$, and winter declines to 30–40%) (Fig. 2).

Both traps produced the same ranking of areas, though the summer peak was less evident with the MosquiTrap data. Only data from the suburban slum showed the two summer peaks, whereas the suburban area showed only the first peak. There was no suggestion of temporal pattern in the urban area positivity data. (Fig. 2).

Temporal Pattern of Density Indices. Using ovitrap, we calculated the egg density index per week (Fig. 3). With this index, we were able to discriminate between suburban and urban areas, whose values seemed similar when comparing the positivity indices. The suburban area emerges as the most productive area, with a mean of 100 eggs per trap per wk, which doubled during the summer peaks and dropped to half during the winter. The urban area was second most productive, averaging ≈ 77 eggs per trap per wk, doubling during the summer. The suburban slum was the least productive, with a mean of 39.7 eggs per trap per wk, and summer peaks of 60–70 eggs per trap per wk.

The summer peak is evident in suburban and suburban slum and less clear in urban area (no peak in the second summer).

Using MosquiTraps, we calculated the adult density index (Fig. 3). This index did not discriminate between the urban and suburban areas, both with an average of ≈ 1.3 mosquitoes per trap wk. The suburban slum presented very low indices, averaging only 0.3 mosquitoes per trap per wk. The summer peak is again evident in the suburban area and the suburban slum.

Trap Sensitivity and Comparison Between Indices. Ovitrap were more sensitive than MosquiTraps for detecting *Ae. aegypti* presence as well as measuring infestation intensity. Evidence for this conclusion comes from the higher indices obtained with ovitrap (Fig. 3) and from scatter plots of the total number of eggs versus total number of adults collected per week, in each area (Fig. 4). Fitting linear regressions of the form $D_w = b_0 + b_1 A_w$, we obtained estimates of b_0 (a measure of sensitivity of the ovitrap), and b_1 (a conversion factor adults-eggs) (Table 3). The MosquiTrap detection threshold showed high variation among areas, corresponding to a mean egg density of ≈ 25 –52 eggs per ovitrap, that is, below this amount of eggs, MosquiTraps did not detect the presence of *Ae. aegypti*. For egg density indices above this threshold, each captured adult corresponded to an average of 41.9 ± 9.6 eggs per adult in the suburban area (Tubiacanga), 52.8 ± 9.3 eggs per adult in the urban (Higienópolis), and 24.2 ± 3.6 eggs per adult in the suburban slum (Palmares) (Table 3), indicating high variation in de-

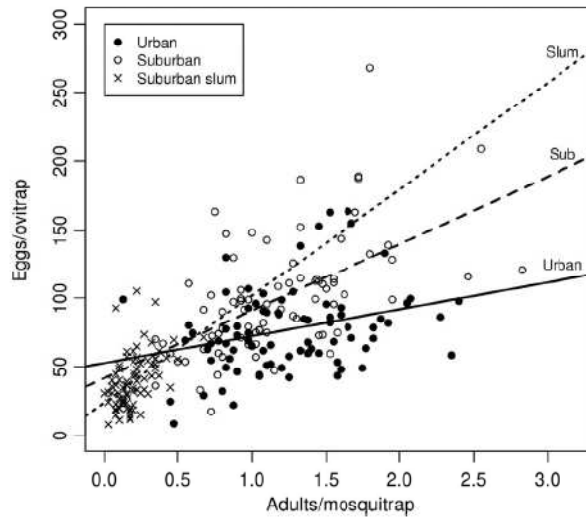


Fig. 4. Scatterplots of number of eggs per ovitrap versus number of adults per MosquiTrap captured per week, in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum). Solid line: linear regression. Dotted line, spline.

tection among areas. These numbers should be considered with caution because differences between detection thresholds may be artificially caused by assuming linearity, and the lack of data on small infestation range in two of the areas.

In two neighborhoods (suburban and suburban slum) the two traps produced moderately correlated density indices (Tubiacanga (suburban): Spearman's $r = 0.60$, $P < 0.001$; Palmares (suburban slum): Spearman's $r = 0.49$, $P < 0.001$). In the remaining area, however, only a weak correlation was observed (Spearman's $r = 0.29$, $P = 0.01$) (Table 3).

Meteorological Variables. The suburban slum, located at the border of the Rio de Janeiro's rain forest mountain range, received the greatest precipitation, with a mean of 98 mm rainfall per mo and well-distributed strong precipitation events throughout the year (Fig. 2). In contrast, the urban and suburban areas, which are located in the rain-shadow of the coastal mountain range, shared lower average precipitation (average of 68–78 mm rainfall per month), with intense events more concentrated in the summer.

Meteorological Variables and Infestation. Autocorrelation. We started the regression modeling by inspecting the autocorrelation structure of the egg and adult time series. In two areas (suburban slum and

suburban area), both egg and adult time series presented significant autocorrelation, at least at lag 1 (adult series presented longer autocorrelated structure). In contrast, the urban area presented no evidence of autocorrelation. A simple AR model of first order was sufficient to remove the autocorrelation from all series (data not shown).

Lag Distribution of Climate Effects. Figure 5 shows the estimated lag distributed effect of temperature and rainfall on egg and adult mosquito abundance. In all series, the estimated lagged effect of temperature showed a strong positive effect at lag 1. Despite following the same pattern, suburban slum showed less significant effects, possibly because of the lower infestation levels (which reduced the statistical power). Including lag distributed mean temperature in the AR1 model significantly improved the goodness-of-fit in both egg and adult response variables in all three areas (Table 4).

The estimated lagged effect of rainfall was only significant in the suburban area, where at lag 3, both egg and adult time series indicate a significant positive effect. At lag 1, both series suggest a negative effect, but only the egg time series was significant. In the urban area, there is some indication of a positive effect at lags 4 or 5. In the suburban slum, the same is found,

Table 3. Result of fitting the linear model $Egg = b_0 + b_1 \text{ Adult}$ in the three study areas of Rio de Janeiro

	Higienópolis (urban)	Tubiacanga (suburban)	Palmares (suburban slum)
Intercept	52.8 ± 9.3 eggs per adult	41.9 ± 9.6 egg per adult	24.2 ± 3.6 egg per adult
Slope	19.5 ± 7 egg per adult	49 ± 7 egg per adult	77 ± 15 egg per adult
Pearson's r	0.29**	0.60***	0.49***

** $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

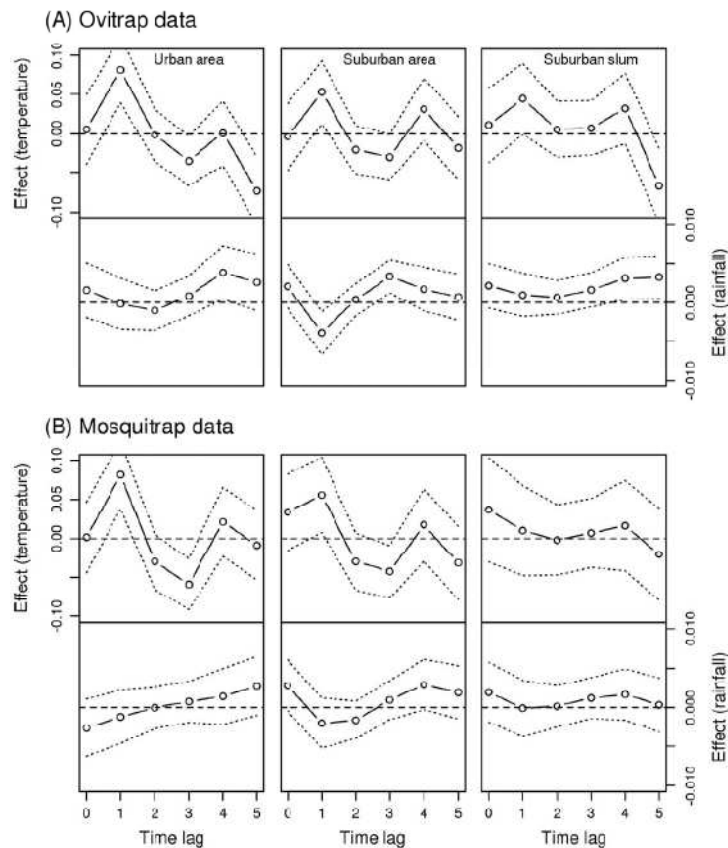


Fig. 5. Lag distributed effect of temperature and rainfall on (A) the mean abundance of eggs, and (B) adults of *Ae. aegypti* in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum). Dotted lines indicated 95% confidence interval.

but only in the egg time series. Only the egg time series models for the suburban and the suburban slum were improved by the inclusion of lagged rainfall in a model with AR1 and temperature.

The effect of temperature at lag one was the only term that consistently presented a nonlinear pattern, the only exception being the adult time series in the

urban area (Fig. 6). The pattern obtained suggests that the effect of temperature at lag 1 increases linearly until a threshold ($\approx 22\text{--}24^\circ\text{C}$), above which its effect becomes less significant.

Besides temperature at lag 1, all other effects were adequately represented by fixed terms. The only exception was rainfall at lag 4, in the suburban area, but

Table 4. Comparison of nested DLM models

Response variable	Model	Higienópolis (urban)			Tubiacanga (suburban)			Palmares (suburban slum)		
		r	AIC	p (χ^2)	r	AIC	p (χ^2)	r	AIC	P (χ^2)
Mean egg density	Null		736			776			658	
	AR	0.24	723	<0.001	0.48	738	<0.001	0.36	639	<0.001
	AR + temp	0.48	713	0.001	0.58	736	0.038	0.48	638	0.053
	AR + temp + rainfall	0.57	714	0.123	0.69	733	0.022	0.62	635	0.025
Adult capture rate	Null		665			670			451	
	AR	0.12	657	0.007	0.46	649	<0.001	0.57	415	<0.001
	AR + temp	0.47	651	0.008	0.60	644	0.015	0.59	421	0.58
	AR + temp + rainfall	0.50	655	0.295	0.65	646	0.155	0.59	429	0.82

r, Spearman correlation coefficient; AIC, Akaike information criterion.

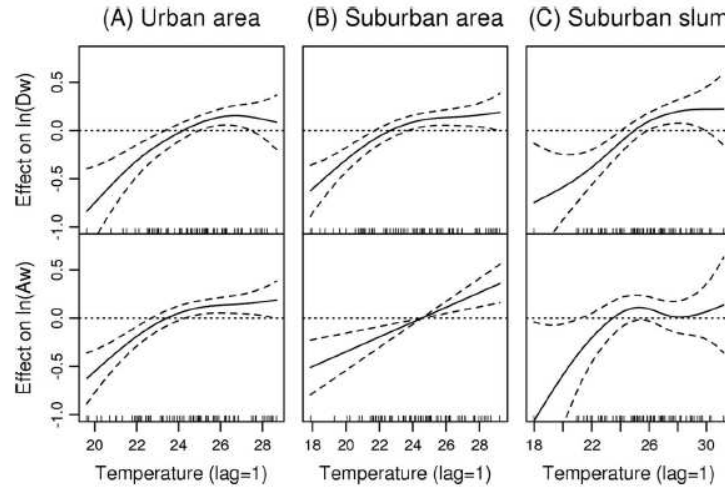


Fig. 6. Smooth effect of temperature at lag 1 wk on the abundance of *Ae. aegypti* adults and eggs: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum). Dotted lines indicated 95% confidence interval.

the pattern found was inconclusive, as confidence intervals were very large (data not shown). Table 5 presents the results of the best fitted GAM models.

Goodness-of-Fit. The best models (either DLM models or GAM) predicted time series that matched the observed series reasonably well, with Spearman's correlation coefficients ranging ≈ 0.6 (Tables 4 and 5). Figure 7 presents the time series of fitted and observed egg/adult density. Peaks in the observed data were captured by the models several times, but some of them were also missed badly. There are two peaks in the first summer of the suburban area, which were captured very well in the egg time series, but not in the adult time series. In the urban area, which has a noisier

data, most peaks are missed. In the suburban slum, fitting is better for the adult time series. Residual plots show that both DLM and GAM models captured the overall structure of the original data (data not shown).

Discussion

We investigated the temporal dynamics of *Ae. aegypti* abundance indices in three neighborhoods of Rio de Janeiro by using ovitraps and MosquiTraps. Ovitrap are standard tools for *Ae. aegypti* population sampling in many settings, considered a sensitive and cost-effective surveillance apparatus (Fay and Eliason 1966, Braga et al. 2000). They are defended as an

Table 5. Best generalized additive models for egg and adult *Ae. aegypti* density (lag measured in weeks)

Area	Variable	Lag	Effect	SE	P value	AIC	r
Higienópolis (urban)	Egg	1	0.002	0.001	*	706	0.61
	Temp	1	Smooth		***		
		3	-0.050	0.019	**		
	Rain	4	Smooth		**		
	Adult	1	0.001	0.002	n.s		
Temp		1	0.073	0.019	***		
Tubiacanga (suburban)	Egg	1	0.005	0.100	***	723	0.66
	Temp	1	Smooth		*		
		3	-0.004	0.001	***		
	Rain	1	-0.004	0.001	***		
	Adult	1	0.003	0.001	**		
Palmares (slum)	Egg	1	0.005	0.002	***	638	0.57
	Temp	1	Smooth		***		
		3	-0.04	0.020	*		
	Rain	1	0.006	0.002	**		
	Adult	1	0.061	0.010	***		
Palmares (slum)	Egg	1	0.006	0.002	**	629	0.53
	Temp	1	Smooth		**		
		5	-0.046	0.020	**		
	Rain	4	0.002	0.001	*		
	Adult	1	0.061	0.010	***		
Temp	1	Smooth		*			

Chi-square partial test's P value: * $P < 0.1$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.
AIC, Akaike information criterion; r, Spearman correlation between observed and fitted values.

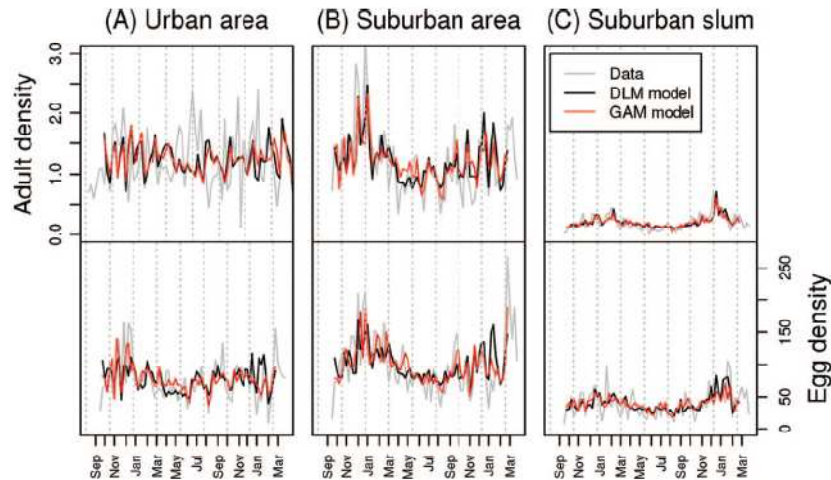


Fig. 7. Time series of *Ae. aegypti* adult and egg captures. In gray, the observed data; in black, the DLM model and in red, the GAM model in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil: Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban), and Palmares (suburban slum).

excellent tool to detect the presence of the vector and to compare infestations among different areas (Focks 2003, Vezzani et al. 2004, Morato et al. 2005, Ríos-Velásquez et al. 2007, Regis et al. 2008). However, they are considered poor indicators of transmission risk because their measurement of adult population density is indirect (Focks 2003). Sticky ovitraps such as the MosquiTrap (Eiras 2002, Ritchie et al. 2004, Facchinelli et al. 2007); however, are advocated as a better approach, as they would provide direct measurements of segment of the population (adult females) involved in transmission (Focks 2003, Eiras 2002, Gama et al. 2007, Fávoro et al. 2008).

Despite the main difference (one capturing eggs the other capturing ovipositing females), we proposed that, because both traps target the same population (ovipositing females), their results should be comparable. Our results seem to support this hypothesis. First, both egg and adult time series produced qualitatively similar time series of infestation in the suburban area and suburban slum, with both series showing moderate linear correlation (Fig. 2). In these same localities, both traps also detected the summer peaks and winter declines. The time series obtained for the densely populated urban neighborhood (Higienópolis), however, was noisier and less structured, and the ovitrap and MosquiTrap data showed no correlation. These results may reflect the influence of immigration of gravid females from surrounding sites into the urban neighborhood. In contrast to this urban neighborhood, the suburban slum and the suburban area are both geographically isolated areas (Lourenço-de-Oliveira et al. 2004). When comparing the three areas, both traps also tended to agree, producing the same ranking of infested areas (suburban and urban versus suburban slum). Finally, statistical analysis of the ovitrap and MosquiTrap time series tended to agree on the

effect of meteorological variables on *Ae. aegypti* abundance.

Ovitrap showed greater sensitivity than MosquiTrap when used for detecting the presence of mosquitoes in households. Ovitrap always provided higher percentage of positive premises (Fig. 2). Linear regression (Table 4) suggests that the relationship between MosquiTrap and ovitrap captures differ between neighborhoods. The same pattern has been observed by other authors. In Belo Horizonte, Brazil, Gama et al. (2007) observed that ovitraps detected the presence of *Aedes* mosquitoes during 17 wk (egg density varying from 26.6% to 82.0%), whereas the MosquiTrap detected its presence for only 13 wk (with adult density index varying from 0 to 1.6%). Low number of mosquitoes captured in the MosquiTrap may be attributable to events of mosquitoes escape from the trap, if they fly away without landing on the sticky card (Gama et al. 2007). A study conducted in Australia with a similar sticky trap, however, showed that sticky traps and ovitraps may detect similar infestation levels (Ritchie et al. 2003). Other potential explanations for the relatively lower efficiency of MosquiTrap compared with ovitrap, may be due to differences in attraction. Fávoro et al. (2006), though, showed that in Mirassol, São Paulo, the sensitivity of MosquiTraps outdoors was 82.1%, whereas that of ovitraps was 89.7%.

By comparing the three areas, we found the suburban and urban neighborhoods considerably more infested than the suburban slum. This is a surprising result, as the suburban slum presents all the conditions for mosquito development (poor housing conditions, poor water supply, and irregular garbage collection). Moreover, contrasting with the other areas, in this suburban slum, the mosquito fauna collected in the traps was dominated by *Cx. quinquefasciatus* (Table

2). This neighborhood is bordered by a polluted river, with high contents of organic matter, a preferred habitat for this species (Consoli and Lourenço-de-Oliveira 1994).

Studies carried out in different parts of the world have found evidence of seasonal pattern of *Ae. aegypti* population density, by using either positivity or quantitative trap indices (Mogi et al. 1988, Micieli and Campos 2003, Vezzani et al. 2004, Stein et al. 2005, Gama et al. 2007, Facchinelli et al. 2007, Vezzani and Carbajo 2008). The strength of the seasonal signal, however, changes with the latitude. In subtropical regions, mosquito abundance tends to be greater during the hot months and very low (or almost absent) during the winter as observed in Buenos Aires, Argentina (Vezzani et al. 2004, Vezzani and Carbajo 2008). In the equatorial region, however, mosquito seasonal variation is more subtle or inexistente, as in the Amazonian city of Manaus (03° 07' S, 59° 57' W) (Ríos-Velásquez et al. 2007).

In Rio de Janeiro, a tropical city, we found a significantly positive effect of air temperature at lag 1 wk, on the amount of eggs/adult captured. This effect was found in all three localities for both traps. Temperature at this lag should impact the preadult development of the mosquito population (Schreiber 2001). Below 22–24°C, the effect of temperature was approximately linear and negative, that is, below this threshold, lower temperature contributes to the decline of the mosquito population (Fig. 6). Above 22–24°C, the incremental effect of temperature is not evident. In fact, during yellow fever transmission in 1908, it was verified that *Ae. aegypti* development and reproduction were strongly affected when temperature dropped below 20°C in Rio de Janeiro (Lourenço-de-Oliveira 2008). Moreover, temperatures above 30°C may have minimal impact on *Ae. aegypti* in the field, because this mosquito may avoid excessive daytime heat by resting in cooler, shaded, locations indoors (Schreiber 2001). Previous studies found the maximum survival rates for adult *Ae. aegypti* in the range of 20–30°C (Rueda et al. 1990, Tun-Lin et al. 2000). Beserra et al. (2006) found the favorable temperature for *Ae. aegypti* development is between 21°C and 29°C, and for greater longevity and fecundity, between 22°C and 30°C. Maciel-de-Freitas et al. (2007b) found a tendency toward longer survival of *Ae. aegypti* females during the dry winter (18.3–26.5°C; 44.1 mm rainfall) than in the wet and hot summer (23.3–29.6°C; 1.9 mm) in the suburban area here studied. Our results also suggest a negative effect of temperature at lag 3. This result is less intuitive. A possible explanation for this effect is that temperature also contributes to the reduction of oviposition sites (by evaporation) in areas where discarded containers such as cans, tires, and bottles are important for larvae and pupae maintenance, and such effect may occur at longer lags, when the direct effect of temperature on mosquito biology becomes less important. In addition, previous studies show that long periods of high temperatures and drought may cause high mortality of *Aedes* eggs (Gubler 1988; Costanzo et al. 2006).

In the literature, the effect of rainfall on mosquito dynamics has been elusive (Moore et al. 1978, Loumbos 1981, Scott et al. 2000, Honório and Lourenço-de-Oliveira 2001, Lourenço-de-Oliveira et al. 2004). Rainfall should be important in areas where breeding sites are mainly produced by precipitation. In the urban area (Higienópolis), we observed well maintained yards (clean and cemented) with low potential larval habitats outdoors (Table 1). In the suburban area (Tubiacanga), there is a high availability of permanent containers, such as water tanks and metal drums (not affected by rainfall), as well as a high abundance of containers potentially affected by rainfall (Maciel-de-Freitas et al. 2007b). In the suburban slum, where the main human activity is garbage recycling, there are also many potential breeding sites outdoors. As a consequence, we expected to detect a significant effect of rainfall in the suburban area and the suburban slum, but not in urban neighborhood of Higienópolis.

Our results seem to agree with this expectation. In both suburban neighborhood and suburban slum, the inclusion of rainfall improved the model goodness-of-fit (Table 5), but not in the urban area. When looking at the lag distribution of rainfall effect, though, we find evidence of positive effect of rainfall at longer lags in all three areas, and a short term negative effect (lag 1), only in the suburban. The positive effect of rainfall at lags 3–5 can be attributed to the main impact of rainfall on population dynamics, that is, production of new oviposition sites and egg eclosion stimulation in existing ones. This lag corresponds to the period during which the parent generation was ovipositing the current (captured) generation. Rainfall, at lag 1, however, is likely to affect trap performance and the behavior of the current mosquito generation. In the suburban neighborhood, where most houses are surrounded by open yards, rainfall had a negative effect on trap index at lag 1. Increasing the availability of oviposition sites (generated by precipitation) may reduce the efficiency of the traps, as they have to compete with more alternative oviposition sites. In the urban and the suburban slum, however, where open spaces are rarer, this effect is not observed. This result contrasts with those of Costa-Ribeiro et al. (2006) who suggested that the higher availability of larval habitats during the rainy season would restrain dispersal of *Ae. aegypti* gravid females seeking for sites for oviposition in Higienópolis and Vargem Grande (Palmares neighborhood), leading to low genetic diversity.

In conclusion, the main results of this study can be summarized as follows: qualitative and quantitative indices using ovitraps or MosquiTrap detected similar summer peaks of mosquito population dynamics, suggesting that both could be used for surveillance; however, the ovitrap provided a more sensitive index than MosquiTrap and should be preferable in areas with low infestation (as in the suburban slum). Moreover, the quantitative indices were more sensitive than the qualitative indices when used for comparisons among areas. Rainfall showed a positive effect at long lags (3–5 wk), potentially due to the production of new breeding sites. At last, temperature above 22–24°C was

strongly associated with high mosquito density and consequently, an increased risk of dengue transmission. These results are a contribution for the development of a future climate based control and surveillance program for dengue fever in a hyperendemic area.

Acknowledgments

Special thanks go to Célio da Silva Pinel, Jefferson Silva, Marcelo Vicente, Alexandro Camargo, Celma Marinho, Luciene Silva, Crissie Ferraz, Marcelo Celestino, Mauro Meneses, Renato Carvalho, Reginaldo Rego, Priscilla Pereira, Denise Pio, Camila Pinto, Débora Elaine, André Luiz, and the technicians of Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro for logistical support in the field and laboratory. We also thank the members of the SAUDÁVEL Project, Marília Sá Carvalho, Aline Nobre, Paulo Chagastelles Sabroza, Steven Juliano, and Phil Lounibos for fruitful discussions during the elaboration of this work and Oswaldo Cruz for helping with R programming. We thank to the people of Tubiacanga, Higienópolis, and Palmares for collaboration. This work was supported by FIOCRUZ-Fundação Oswaldo Cruz, FAPERJ-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, CAPES-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CNPq-Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

References Cited

- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automatic Control* 19: 716–723.
- Bartley, L. M., C. A. Donnelly, and G. P. Garnett. 2002. The seasonal pattern of dengue in endemic areas: mathematical models of mechanisms. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96: 387–397.
- Beserra, E. B., Jr., F. P. Castro, J. W. Santos, T. S. Santos, and C.R.M. Fernandes. 2006. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. *Neotrop. Entomol.* 35: 853–860.
- Braga, I. A., A. C. Gomes, M. Nelson, R.C.G. Mello, D. P. Bergamaschi, and J.M.P. Souza. 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev. Bras. Med. Trop.* 33: 347–353.
- Canyon, D. V., J.L.K. Hii, and R. Müller. 1999. Adaptation of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) oviposition behavior in response to humidity and diet. *J. Insect Physiol.* 45: 959–964.
- Connor, M. E., and W. M. Monroe. 1923. *Stegomyia* indices and their value in yellow fever control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 3: 9–19.
- Consoli, R.A.G.B., and R. Lourenço-de-Oliveira. 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Editora FioCruz, Rio de Janeiro, Brazil.
- Constanzo, K. S., B. Kesavaraju, and S. A. Juliano. 2006. Condition-specific competition in container mosquitoes: the role of noncompeting life-history stages. *Ecology* 86: 3289–3295.
- Costa-Ribeiro, M. C., R. Lourenço-de-Oliveira, and A. B. Failloux. 2006. Geographic and temporal genetics patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop. Med. Int. Health* 11: 1276–1285.
- Crans, W. J., D. A. Sprenger, F. Mahmood. 1996. The blood-feeding habitats of *Aedes sollicitans* (Walker) in relation to Eastern Equine Encephalitis virus in coastal areas of New Jersey. II. Results of experiments with caged mosquitoes and the effects of temperature and physiological age on host selection. *J. Vector Ecol.* 21: 1–5.
- Day, J. F., A. M. Ramsey, and J. Zhang. 1990. Environmentally mediated seasonal variation in mosquito body size. *Environ. Entomol.* 19: 469–473.
- Eiras, A. E. 2002. Armadilha para captura de mosquitos. Patente: Privilégio e Inovação. N. P10203907-9, "Armadilha para captura de mosquitos". 05 de set de 2002 (Depósito).
- Facchinelli, L., L. Valério, M. Pombi, P. Reiter, C. Costantini, and D. Torre. 2007. Development of a novel sticky trap for container-breeding mosquitoes and evaluation of its sampling properties to monitor urban populations of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* 21: 183–195.
- Fávaro, E. A., A. Mondini, M. R. Dibo, A.A.C. Barbosa, A. E. Eiras, and F. Chiaravalloti-Neto. 2008. Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in São Paulo, Brazil. *J. Vector Ecol.* 33: 8–16.
- Fávaro, E. A., M. R. Dibo, A. Mondini, A. C. Ferreira, A.A.C. Barbosa, A. E. Eiras, E.A.M.F. Barata, and F. Chiaravalloti-Neto. 2006. Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTraps™ in Mirassol, São Paulo, Brazil. *J. Vector Ecol.* 31: 285–291.
- Fay, R. W., and D. A. Eliason. 1966. A preferred oviposition site as surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq. News* 26: 531–535.
- Focks, D. A. 2003. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. In *Tropical disease research*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Focks, D. A., D. C. Haile, E. Daniels, and C. A. Moun. 1993a. Dynamics life table model for *Aedes aegypti*: analysis of the literature and model development. *J. Med. Entomol.* 30: 1003–1018.
- Focks, D. A., D. C. Haile, E. Daniels, and C. A. Moun. 1993b. Dynamics life table model for *Aedes aegypti*: simulation results. *J. Med. Entomol.* 30: 1019–1029.
- Gama, R. A., E. M. Silva, I. M. Silva, M. C. Resende, and A. E. Eiras. 2007. Evaluation of the sticky MosquiTRAP™ for detecting *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) during the dry season in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 36: 294–302.
- Gubler, D. J. 1988. Dengue, pp. 223–260. In T. P. Monath TP [ed.], *The arboviruses: epidemiology and ecology*, volume II. CRC, Boca Raton, FL.
- Halstead, S. B. 2008. Dengue virus–mosquito interactions. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 273–291.
- Hawley, W. A. 1985. The effect of larval density on adult longevity of a mosquito, *Aedes sierrensis*: epidemiological consequences. *J. Anim. Ecol.* 54: 955–964.
- Honório, N. A., and R. Lourenço-de-Oliveira. 2001. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. *Rev. Saúde Públ.* 34: 385–391.
- Honório, N. A., P. H. Cabello, C. T. Codeço, and R. Lourenço-de-Oliveira. 2006. Preliminary data on the performance of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* immatures developing in water-filled tires in Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 225–228.
- Honório, N. A., W. C. Silva, P. J. Leite, J. M. Gonçalves, L. P. Lounibos, and R. Lourenço-de-Oliveira. 2003. 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* 98: 191–198.
- [IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2000. Censo demográfico 2000 agregados por setores censi-

- tários dos resultados do universo, 11–417E. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, Brasil.
- Lounibos, L. P. 1981. Habitat segregation among African treehole mosquitoes. *Ecol. Entomol.* 6: 129–154.
- Lourenço-de-Oliveira, R. 2008. Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008 – editorial. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103: 627–628.
- Lourenço-de-Oliveira, R., M. G. Castro, M. A. Braks, and L. P. Lounibos. 2004. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J. Vector Ecol.* 29: 94–100.
- Luz, C., M.H.H. Tai, A. H. Santos, and H.H.C. Silva. 2008. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103: 214–215.
- Luz, F. M., C. T. Codeço, E. Massad, and C. J. Struchiner. 2003. Uncertainties regarding dengue modelling in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 871–878.
- Maciel-de-Freitas, R., W. A. Marques, R. C. Peres, S. P. Cunha, and R. Lourenço-de-Oliveira. 2007b. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102: 489–496.
- Maciel-de-Freitas, R., C. T. Codeço, and R. Lourenço-de-Oliveira. 2007a. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76: 659–665.
- Melo, P.R.S., E.A.C. Reis, I. A. Ciuffo, M. Côes, R. E. Blanton, and M. G. Reis. 2007. The dynamics of dengue virus serotype 3 introduction and dispersion in the state of Bahia, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102: 905–912.
- Miceli, M. V., and R. E. Campos. 2003. Oviposition activity and seasonal pattern of a population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in subtropical Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98: 659–663.
- Ministério da Saúde. 2008. Serviço de Vigilância em Saúde-SVS. (<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area>).
- Mogi, M., C. Khamboonruang, W. Choochote, and P. Suwanpanit. 1988. Ovitrap surveys of dengue vector mosquitoes in Chiang Mai, northern Thailand: seasonal shifts in relative abundance of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti*. *Med. Vet. Entomol.* 2: 319–324.
- Moore, C. G., B. L. Cline, E. Ruiz-Tibén, D. Lee, H. Romney-Joseph, and E. Rivera-Correa. 1978. *Aedes aegypti* in Puerto Rico: environmental determinants of larval abundance and relation to dengue virus transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 1255–1231.
- Morato, V.C.G., M. G. Teixeira, A. C. Gomes, D. P. Bergamaschi, and M. Barreto. 2005. Infestation of *Aedes aegypti* estimated by oviposition traps in Brazil. *Rev. Saúde Públ.* 39: 553–558.
- Nogueira, R.M.R., M. P. Miagostovich, A.M.B. Filippis, M.A.S. Pereira, and H. G. Schatzmayr. 2001. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 96: 925–926.
- Nogueira, R.M.R., M. P. Miagostovich, and H. G. Schatzmayr. 2002. Dengue virus in Brazil. *Dengue Bull.* 26: 1–10.
- Osanaí, C. H., A.P.A. Travassos-da-Rosa, A. T. Tang, R. S. Amaral, A.D.C. Passos, and P. I. Tauil. 1983. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 25: 53–54.
- Pant, C. P., and M. Yasuno. 1973. Field studies on the gonotrophic cycle of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *J. Med. Entomol.* 10: 219–223.
- Parker, M. B. 1986. Hatchability of eggs of *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae): effects of different temperatures and photoperiods during embryogenesis. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 925–930.
- R Development Core Team. 2006. R: a language and environment for statistical computing. (<http://www.R-project.org/>).
- Regis, L., A. M. Monteiro, M.A.V. Melo-Santos, J. C. Silveira, Jr., A. F. Furtado, R. V. Acioli, G. M. Santos, M. Nakazawa, M. S. Carvalho, P. J. Ribeiro, Jr., and W. V. Souza. 2008. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103: 50–59.
- Reiter, P., M. A. Amador, and N. Colon. 1991. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 7: 52–55.
- Ríos-Velásquez, C. M., C. T. Codeço, N. A. Honório, P. C. Sabroza, M. Moresco, I.C.L. Cunha, A. Levino, L. M. Toledo, and S. B. Luz. 2007. Distributions of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102: 617–623.
- Ritchie, S. A., S. Long, A. Hard, C. E. Webb, and R. C. Russel. 2003. An aduticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 19: 235–242.
- Ritchie, S. A., L. Sharron, G. Smith, A. Pyke, and T. Knox. 2004. Entomological investigations in a focus of dengue transmission in Cairns, Queensland, Australia, by using the sticky ovitraps. *J. Med. Entomol.* 41: 1–4.
- Rueda, L. M., K. J. Patel, R. C. Axtell, and R. E. Stinner. 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 27: 892–898.
- Schatzmayr, H. G. 2000. Dengue situation in Brazil by year 2000. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95: 179–181.
- Schreiber, K. V. 2001. An investigation of relationships between climate and dengue using a water budgeting technique. *Int. J. Biometeorol.* 45: 81–89.
- Scott, T. W., A. C. Morrison, I. H. Lorenz, G. C. Clark, D. Strickman, P. Kittayapong, H. Zhou, and J. Edman. 2000. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. *J. Med. Entomol.* 37: 77–88.
- [SESDEC/RJ] Secretaria de Defesa Civil do Rio de Janeiro. 2008. Ações em Saúde. Relatório de casos de dengue. (<http://www.saude.rj.gov.br/Docs/Acoes/dengue/Relatorio.htm>).
- [SMS/RJ] Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro. 2008. Casos de incidência de Dengue por bairro e mês, e por bairro e semana no Município do Rio de Janeiro. (<http://www.saude.rio.rj.gov.br>).
- Souza, I.C.A., R.P.T. Vianna, and R. M. Moraes. 2007. Modelagem da incidência do dengue na Paraíba, Brasil por modelos de defasagem distribuída. *Cad. Saúde Públ.* 23: 2623–2630.
- Stein, M., G. I. Oria, W. R. Almirón, and J. Willener. 2005. Fluctuación estacional de *Aedes aegypti* en Chaco, Argentina. *Rev. Saúde Públ.* 39: 559–564.
- Tauil, P. 2001. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad. Saúde Públ.* 17: 99–102.
- Teixeira, M. G., M.C.N. Costa, G. Coelho, and M. L. Barreto. 2008. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 14: 1663.
- Tun-Lin, W., T. R. Burkot, and B. H. Kay. 2000. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Med. Vet. Entomol.* 14: 31–37.
- Vezzani, D., and A. E. Carbajo. 2008. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and dengue in Argentina: current knowledge and future directions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 103: 66–74.

- Vezzani, D., S. M. Velásquez, and N. Schweigmann. 2004. Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires city, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 351–356.
- Wearing, H. J., and P. Rohani. 2006. Ecological and immunological determinants of dengue epidemics. *Epub* 103: 11802–11807.
- Wood, S. N. 2006. Generalized additive models: an introduction with Chapman & Hall/CRC, Boca Raton, FL.
- Wu, P.-C., H.-G. Guo, S.-C. Lung, C.-Y. Lin, and H.-J. Su. 2007. Weather as an effective predictor for occurrence of dengue fever in Taiwan. *Acta Trop.* 103: 50–57.

Received 21 August 2008; accepted 14 April 2009.

3.2. Artigo 2. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil.

Referência Bibliográfica: Honório NA, Nogueira RMR, Codeço CT, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAFM, Araújo JMG, Araújo ESM, Quintela MG, Pinheiro LS, Pinel CS, Lourenço-de-Oliveira R.

Situação do manuscrito. Aceito no periódico “*PLOS Neglected Tropical Diseases*”.

Este manuscrito atende ao objetivo 2.

Apresentação. Durante a epidemia de dengue no Rio de Janeiro em 2007-2008, buscamos avaliar o padrão espacial e temporal da soroprevalência e das infecções recentes pelo vírus dengue em humanos e sua associação com a densidade de *Ae. aegypti* adultos em três localidades do Rio de Janeiro: urbana (Higienópolis), suburbana (Tubiacanga) e favela (Palmares), áreas com diferentes aspectos socioeconômicos e urbanísticos.

Spatial Evaluation and Modeling of Dengue Seroprevalence and Vector Density in Rio de Janeiro, Brazil

Nildimar A. Honório^{1*}, Rita M.R. Nogueira², Cláudia T. Codeço³, Marília S. Carvalho³, Oswaldo G. Cruz³, Mônica A.F. Magalhães⁴, Josélio M.G. Araújo², Eliane S.M. Araújo², Marcelo Q. Gomes¹, Luciane S. Pinheiro¹, Célio S. Pinel⁵, Ricardo Lourenço-de-Oliveira¹

1 Laboratório de Transmissores de Hematozoários, 2 Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 3 Programa de Computação Científica Fiocruz-PROCC, 4 Centro de Informação Científica e Tecnológica, Laboratório de Processamento de Imagens Fiocruz-CICT, 5 União Ativista Defensora do Meio Ambiente-UADEMA/NAPVE.

Corresponding author:

Nildimar Alves Honório

Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

Av. Brasil, 4365

Rio de Janeiro, Brazil 21045-900

Phone: 55 21 25621451

Fax: 55 21 25734468

E-mail: honorio@ioc.fiocruz.br

Abstract

Background. Rio de Janeiro, Brazil, experienced a severe dengue fever epidemic in 2008. This was the worst epidemic ever, characterized by a sharp increase in case-fatality rate, mainly among younger individuals. A combination of factors such as climate, mosquito abundance, build up of susceptible population, or viral evolution, could explain the severity of this epidemic. The main objective of this study is to model the spatial patterns of dengue seroprevalence in three neighborhoods with different socioeconomic profiles in Rio de Janeiro. As blood sampling coincided with the peak of dengue transmission, we were also able to identify recent dengue infections and visually relate them to *Aedes aegypti* spatial distribution abundance. We analyzed individual and spatial factors associated with seroprevalence using Generalized Additive Model (GAM).

Methodology/Principal Findings. Three neighborhoods were investigated, a central urban neighborhood, and two isolated areas, characterized as a slum and suburban areas. Weekly mosquito collections started in September 2006 and continued until March 2008. In each study area, 40 adult traps and 40 egg traps were installed in a random sample of premises, and two infestation indexes calculated: mean adult density and mean egg density. Sera from individuals living in the three neighborhoods were collected before the 2008 epidemic (July through November 2007) and during the epidemic (February through April 2008). Sera were tested for DENV-reactive IgM, IgG, Nested RT-PCR and Real Time RT-PCR. From the before-after epidemics paired data, we described seroprevalence, recent dengue infections (asymptomatic or not) and seroconversion. Recent dengue infection varied from 1.3% to 14.1% among study areas. The highest IgM seropositivity occurred in the slum, where mosquito abundance was the lowest, but household conditions were the best for promoting contact between hosts and vectors. By fitting spatial GAM we found dengue seroprevalence hotspots located at the entrances of the two isolated communities, which are commercial activity areas with high human mobility. No association between recent dengue infection and household's high mosquito abundance was observed in this sample.

Conclusions/Significance. This study contributes to better understanding the dynamics of dengue in Rio de Janeiro, by assessing the relationship between dengue seroprevalence, recent dengue infection, and vector density. In conclusion, the variation in spatial seroprevalence patterns inside the neighborhoods, with significantly higher risk patches close to the areas with large human movement, suggests that humans may be responsible for virus inflow to small neighborhoods in Rio de Janeiro. Surveillance guidelines should be further discussed, considering these findings, particularly the spatial patterns for both human and mosquito populations.

Author Summary

Dengue is a major public health problem in many tropical regions of the world, including Brazil, where *Aedes aegypti* is the main vector. We present a household study that combines data on dengue fever seroprevalence, recent dengue infection, and vector density, in three neighborhoods of Rio de Janeiro, Brazil, during its most devastating dengue epidemic to date. This integrated entomological-serological survey showed evidence of silent transmission even during a severe epidemic. Also, past exposure to dengue virus was highly associated with age and living in areas of high movement of individuals and social/commercial activity. No association was observed between household infestation index and risk of dengue infection in these areas. Our findings are discussed in the light of current theories regarding transmission thresholds and relative role of mosquitoes and humans as vectors of dengue viruses.

Introduction

Dengue is a mosquito-borne viral infection, considered a major public health problem in many tropical regions of the world, including Brazil [1, 2]. *Aedes aegypti* is the most important dengue vector worldwide [3-5] and the only known vector in Brazil [6]. Dengue infection can manifest itself as clinically unapparent, an undifferentiated febrile illness, classic dengue fever (DF), or dengue hemorrhagic fever (DHF). Prevalence of dengue is highest in tropical areas of Asia and the Americas, with 50-100 million estimated cases of dengue fever and 250,000-500,000 cases of dengue hemorrhagic fever occurring annually worldwide as explosive outbreaks in urban areas [7,8].

In Brazil, three dengue virus serotypes (DENV) have been introduced through Rio de Janeiro in the past three decades: DENV-1 in 1986 [9], DENV-2 in 1990 [10], and DENV-3 in 2000 [11]. Figure 1 shows the time series of dengue cases in Rio de Janeiro State from 2000 to 2008 [12]. The introduction of DENV-3 in the state of Rio de Janeiro led to severe epidemics in 2002 with the largest number of cases (288,245 notified), with 1,831 DHF cases and 91 deaths, corresponding to 1,735 reported cases per 100,000 inhabitants [13], and a case-fatality ratio of 3.15:10,000. Eight years later, in 2007-2008, during the current study, Rio de Janeiro (and Brazil) experienced the most severe dengue epidemics ever reported in terms of morbidity and mortality [14]. During this period, 322,371 cases and 240 deaths were registered, with 100 deaths due to DHF/ dengue shock syndrome (DSS) and 140 due to other dengue-related complications [12]. That represented a case-fatality rate of 9.4:10,000. Contrasting with the previous epidemics, the 2008 epidemic, essentially caused by DENV-2, was characterized by a higher incidence of severe cases in children. In fact, 36% of deaths reported occurred in individuals ≤ 15 years old [12,15].

Rio de Janeiro presents highly favorable conditions for transmission of dengue [13], as shown by serological cross-sectional surveys carried out after the arrival of DENV-1 and DENV-2. In 1987, after the first wave, 45.5% of schoolchildren were positive for DENV-1 haemagglutination inhibition antibodies (HAI) [16]. HAI antibody persists for a long period, but is highly cross-reactive [3]. In the neighbor city of Niterói, 55% of schoolchildren were positive in 1988, and 66% in 1992 (after the arrival of DENV-2) [17,18]. In Paracambi, another

neighbor city, 29.2% schoolchildren were positive in 1997 [19].

Dengue surveillance and control in large urban areas with high levels of dengue transmission pose important challenges. Clinical surveillance is impaired by the high proportion of asymptomatic infections [20,21,22], and mosquito surveillance is very time and resource consuming. Moreover, despite the theoretical association between vector abundance and risk of transmission, the quantitative nature of this relationship is poorly known [23]. Understanding the epidemiology of this disease requires studies that integrate epidemiological and entomological data [19,21,24,25].

The main objective of this study is to model the spatial patterns of seroprevalence in three neighborhoods with different socioeconomic profiles in Rio de Janeiro. As blood sampling coincided with the peak of dengue transmission, we were also able to identify recent dengue infections and visually relate them to *Aedes aegypti* spatial distribution abundance. We analyzed individual and spatial factors associated with seroprevalence using Generalized Additive Model (GAM).

Methods

Study sites - Surveys were performed in three neighborhoods of Rio de Janeiro city: Higienópolis, Tubiacanga, and Palmares, which differ in human population density, sanitation, vegetation cover, and history of dengue (Fig. 2). Since neighborhoods were large and heterogeneous, we restricted the survey to an area of approximate 0.25km² in each one [26].

Higienópolis, the urban area (22°52'25''S 43°15'41''W) – Higienópolis is an urban neighborhood located within a densely populated area of Rio de Janeiro city (15,891 inhabitants/ km²). In the selected area, approximately 4,076 people live in 1,308 houses [27]. The Yellow Line, one of the city's busiest major highways, crosses and connects Higienópolis to numerous suburban localities. The area is totally urbanized: streets are paved, with adequate water supply and garbage collection services. Residents, mostly middle class and elderly, live in one story houses with no yard or small cemented/paved ones. Higienópolis, however, is surrounded by some of the largest slums of Rio de Janeiro, characterized by poor infrastructure normally associated with favorable conditions for *Ae. aegypti* proliferation.

Tubiacanga, the suburban area (22°47' 08'' S; 43°13' 36'' W) – Tubiacanga is an isolated suburban neighborhood at the tip of the Governador Island, in the Guanabara Bay. Access to the area is limited to a single main route, a 2.1 km paved road, which connects the area to the nearest neighborhood. Tubiacanga is mostly a residential neighborhood, with 2,521 individuals living in 682 one story houses – with large outdoors yards - in an area of ca. 0.25km² [27]. Streets are unpaved, garbage collection is regular, but access to water is irregular, and residents often store water in containers, which are potential development sites for immature *Ae. aegypti* [28,29].

Palmares, the suburban slum (22° 59'26'' S 43° 27' 36'' W) – Palmares is a recently settled slum between a rain forest mountainous range and a polluted river, located at one of the major axes of the city's expansion. Palmares' population density is 2,733 inhabitants/km². In the selected area of 0.25km² ca. 1749 people live in 498 houses [27]. Housing distribution is crowded and

irregular, with narrow unpaved alleys. Palmares is a relatively isolated area, with just one road access.

Study design. The serological surveys were carried out in July-November 2007 and February-April 2008, the latter coinciding with the 2008 high transmission period [12]. The study areas had been under entomological surveillance since September 2006 (see Mosquitoes surveillance section) [26]. The entomological surveillance consisted of weekly collections of *Ae. aegypti* eggs and adults using traps located in 80 households per site. This sample size was considered adequate to investigate spatial variation over each area, based on similar studies [30], as standard techniques for sample size estimation in spatial GAM models are scarce. All householders participating in the entomological surveillance were invited to participate in the serological surveys. Only 72 out of 240 householders agreed to participate (13 in Higienópolis, 31 in Tubiacanga and 28 in Palmares). To increase the sample, we invited additional residents from nearby houses, reaching a total of 171 participating households (19 in Higienópolis, 93 in Tubiacanga and 59 in Palmares), with 337 individuals (44 in Higienópolis, 162 in Tubiacanga and 131 in Palmares). Since previous studies reported lower seropositive rates in the younger age classes [16,18,19], we concentrated our sample effort in the age group of 1-20 years old to increase the chance of detecting seroconversion events [31]. However, due to problems related to participant refusal, particularly for small children in the urban area, older people were included as well, to increase the sample size. The range and median age in the sample is presented in Table 1. A questionnaire was applied to each enrolled individual, with questions regarding sex, age, education level, yellow fever (YF) vaccination status, clinical symptoms of dengue-like disease and past dengue episodes. The location of each household was determined by a hand-held, 12 channel global positioning system (Garmin), which accurate to 15 m.

Case definition. *Recent dengue infection* was defined by the detection of DENV IgM antibodies in any sample (first or second sample) within the last 6 weeks or so. Due to small numbers of recent dengue infection it was not possible to evaluate differences over covariates when just one of blood samples

was collected. *Seroprevalence* was defined by detection of DENV IgG antibodies in the first sample (July-November/2007). *Seroconversion* was defined only for the paired samples – negative in the first sample and positive in the second one – considering both IgM and IgG. *Primary infection* was defined as a negative IgG in the first sample with positive IgM in the second and secondary infection when DENV IgG antibodies were detected in the first sample. Individuals with DENV IgM antibodies were considered *asymptomatic* cases when clinical definition of dengue – high fever, accompanied by at least two of the associated symptoms: headache, myalgia, arthralgia retro-orbital pain and rash – was not met [32].

Blood sample collections. A blood sample (5 mL) was collected in Vacuntainer tube from all participants during the household visit, stored at -20°C and processed within 12 hours. Sera were tested for DENV- reactive IgM and IgG immunoglobulin by using PANBIO dengue IgM capture and dengue IgG indirect Elisa (Brisbane, Australia).

RNA extraction. Viral RNA for the nested RT-PCR and real-time RT-PCR assays was extracted from 140µL of serum samples by the QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA), according to the manufacturer's instructions. RNA was eluted in 60µL of buffer AVE and stored at -70°C. For the quantitative TaqMan assay, a 10-fold-dilution series containing a known amount of target viral RNA (10^7 RNA copies/mL) was used for RNA extraction.

Nested Reverse Transcriptase PCR assay. The nested RT-PCR protocol for DENV detection and typing was performed on serum samples, which tested DENV IgM positive according to [33].

Real-time Reverse Transcriptase PCR (TaqMan) assay. One-step real-time RT-PCR assays were performed in the ABI Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA) in all IgM positive samples. Briefly, samples were assayed in a 25 µl reaction mixture containing 5 µl of extracted RNA, 1 µl of 40X Multiscribe enzyme plus RNase inhibitor, 12.5 µl TaqMan 2X Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA)

and 300 nM of each specific primer and fluorogenic probe. Positive and negative controls were included. To detect specific DENV1-2, primer and probe sequences were obtained from [34]. To detect specific DENV-3, primer and probe sequences were obtained from [35]. The TaqMan probe was labeled at the 5' end with the 5-carboxyfluorescein (FAM) reporter dye and at the 3' end with 6-carboxy-*N,N,N',N'*-tetramethylrhodamine (TAMRA) quencher fluorophore. The number of viral RNA copies detected was calculated by generating a standard curve from 10-fold-dilutions of DENV-3 RNA, isolated from a known amount of local virus propagated in *Aedes albopictus* C6/36 cells [13], the titer of which was determined by plaque assay. The same model of DENV-3 standard curve was applied to build DENV-1 and DENV-2 curves. Quantitative interpretation of the results obtained was performed by interpolation from the standard curve included in each independent run for each serotype.

Mosquito surveillance. Entomological surveillance was carried out with two types of traps for ovipositing females. Egg traps are black plastic containers, filled with 300 ml of a 10% hay infusion, and a wooden paddle held on the wall for oviposition [26,36,37,38]. Adult traps consist of a matte black container (16cm high x 11cm diameter) with approximately 280ml of water and a removable sticky card. A synthetic oviposition attractant was used to attract gravid female mosquitoes [39]. Surveillance was conducted weekly from September, the 6th 2006 to March, 24th 2008 in the three study areas, encompassing two wet-hot seasons and one dry-cool season. In each study area, 40 adult traps and 40 egg traps were installed in a random sample of premises [26]. Two infestation indexes were calculated: mean adult density (MAD = number of trapped female *Ae. aegypti*/number of adult traps) and mean egg density (MED = number of collected eggs/number of egg traps). Only the time series of both indexes are presented here. Details on the entomological methods and results are described in [26]. To evaluate potential heterogeneities in the spatial distribution of mosquito abundance during the serological surveys, we aggregated the weekly entomological collections over time, from April/2007 to March/2008, into a single index (Fig. 3). Recent dengue infections are plotted on this vector abundance map to inspect for possible associations. Breteau

Index (number of *Ae. aegypti*-positive containers per 100 houses) measured in March, June, August, November of 2007 and January and April of 2008 in each study area was also obtained from Public Health Office of Rio de Janeiro city.

Data analysis. The number of *recent dengue infections* was very small, and consequently, not statistically modeled (descriptive data in Table 1). To compare and possibly to advance further investigations, the coordinates of negative and positive (in any sample) DENV IgM antibodies were mapped over the aggregated distribution of adult mosquito abundance. The technique to build the interpolated surface is presented in the section below.

To compare *seroprevalence* among the areas we standardized the proportion of positive samples (direct method) using the total number of samples in all areas. *Seroprevalence* data was analyzed using a Generalized Additive Model (GAM): a statistical model that extends the generalized linear models to include non-parametric smoothing terms. In the generalized linear model, the response variable belongs to the exponential family, and its mean value is related to the linear predictors through a link function. The canonical link function for binomial response, such as positive or negative sera, is the logit link. To evaluate possible non-linearity of the age effect on the outcome we used a smooth-spline and plotted the predicted against the observed value. The spatial distribution was modeled using a bi-dimensional smooth function [40]. The complete model thus included a set of directly observed covariates and a function – in our case, a thin plate spline – applied on the geographical coordinates of each household, as depicted in the equation below:

$$\text{logit } [y_i] = \beta_0 + \sum \beta_k x_{ik} + f[\text{north}_i, \text{east}_i] + e_i, \text{ where}$$

y_i is the response variable, β 's are the slope coefficients of the model, so $\exp[\beta_0]$ is the adjusted odds ratio, x_{ik} are the explanatory variables at the individual and household levels, the function $f[\text{north}_i, \text{east}_i]$ is a smooth function of geographic co-ordinates and e_i are the residuals. All covariates with a p-value ≤ 0.10 in the univariate analysis were included in the multivariate model. The approach used to analyze the spatial distribution started with a model with just the smooth function of the coordinates. Then explanatory variables were included successively until the final adjusted model was obtained. Contour lines

at $p\text{-value} \leq 0.05$ were drawn on the maps to identify areas with significantly higher (red lines) and lower risk (blue lines) than the overall mean.

In the case of the mosquito interpolation surface, the adult counts were the outcome variable and the smoothed geographic coordinates of the adult traps were the independent variables. All statistical analyses were performed using the statistical software R 2.8.1 [41], with library *mcgv* [42].

Ethical considerations. Ethical clearance was obtained from the Ethical Committee in Research (CEP 365/2007) from the Oswaldo Cruz Foundation, Ministry of Health, Brazil. Written consent to participate in the two surveys was obtained from each participant and in case of minor, from their legal guardians.

Results

General. All administrative areas containing the studied neighborhoods had a history of dengue cases recorded by the local public health authorities [43]. Figure 3 shows the time series of reported dengue cases from Public Health Office of Rio de Janeiro city, with a clear peak between December/2007 and April/2008, during the present study. In 2008, the attack rates were: 45.94/‰ in Higienópolis, 35.17 in Galeão area (where the neighborhood of Tubiacanga is located) and 19.68 in Vargem Pequena area (where the suburban slum of Palmares is located). *Aedes aegypti* abundance was consistently high throughout the year in the urban and suburban sites (Higienópolis and Tubiacanga), and low in the suburban slum (Palmares). The largest increase in notified dengue fever cases began in December/2007 and apparently was not preceded by an increase in vector density as measured by our study. The mosquito indices (MAD and MED) time series fluctuated over the time. An increase in summer is clear in both suburban areas, but not in the urban area. The bars at the bottom of the picture, showing the number of recent dengue infections relative to the number of collected blood samples, coincide with the high peak of the 2008 epidemic. The Breteau index ranged from 4.20 to 11.32 in Higienópolis, 4.10 to 20.51 in Tubiacanga and 3.30 to 15.38 in Palmares.

Serological surveys. Table 1 shows the results of the serological surveys. From 337 individuals, 247 provided paired serum samples (73.3%) (Higienópolis: paired/unpaired = 28/16; Tubiacanga = 117/45; Palmares = 102/29). Age of participants ranged from 1 to 79 years, with an average of 16.9. There were 156 (46.3%) males and 181(53.7%) females. For education level, 29 (8.6%) were illiterate, 241 (71.5%) reported elementary school, 56 (16.6%) high school, and 11 (3.3%) college. Only 6.2% of the study subjects reported vaccination against yellow fever and 16% reported a previous history of dengue.

Serology and RT-PCR. The combination of four methods provided diagnostic confirmation of dengue infection as follows: previous exposure to dengue (IgG) in the first survey detected in 199 (61.0%) out of the 337 individuals. Recent dengue infection (IgM) was detected in 30 individuals (4 in Higienópolis, 7 in Tubiacanga, and 19 in Palmares), which were subjected to nested RT-PCR and

real-time RT-PCR (Table 1). DENV-RNA was detected in 5 individuals (4 DENV-2 and 1 DENV-3), by Nested RT-PCR and Real Time RT-PCR (TaqMan). Adopting quantitative real-time RT-PCR, we examined levels of DENV-RNA. The results revealed low viral RNA, ranging from 1 to 45 RNA copies/mL.

Recent dengue infection. From the first to the second survey, IgM seropositivity increased from 2.3% to 13.8% in Higienópolis (urban neighborhood), 1.3% to 4.1% in Tubiacanga (suburban neighborhood) and from 4.7% to 14.1% in Palmares (suburban slum) (Table 1). In Higienópolis, two out of 4 recent dengue infections were children (≤ 10 years); 3/4 was asymptomatic. In Tubiacanga, two out of 7 recent dengue infections occurred in children (≤ 10 years), 2/7 in 11-13 years old and 3/7 in adults (≥ 30 years); 6/7 individuals were asymptomatic. In Palmares, in 19 recent dengue infections, 9 (47.4%) were children (≤ 10 years), 6 (31.6%) were 11-18 years old and 4 (21.0%) were adults (≥ 25 years); 14/19 individuals had asymptomatic infections. Dengue seroconversion paired samples varied among the studies areas from 3.4% to 10.8 % for IgM and 3.4% to 7.8% for IgG (Table 1). By combining data on IgM and IgG positivity in both serum samples, 9 (30.0%) individuals were classified as being primary infections, 19 (63.3%) as secondary infections, and 2 (6.7%) as inconclusive.

Seroprevalence. Dengue seroprevalence varied between the study areas. The age standardized proportions were 60.26% in Higienópolis, 56.07% in Tubiacanga and 77.44% in Palmares. In Higienópolis, the urban area, participation in the study was the lowest in all age groups (Table 1, Fig. 4). In Tubiacanga a non-linear relationship between age and seroprevalence was observed, with a plateau at about 15 year old. In the other two areas, the relationship between seroprevalence and age was linear and significant (Fig. 5). Due to the non-linearity observed in Tubiacanga, we categorized the variable age, using cut points at 10 and 20 years old, to analyze the effect of age on seroprevalence in the multivariate models. The variable sex was significant only in Tubiacanga, while self-reported past dengue was a predictor of seropositivity in Tubiacanga and Palmares. Yellow fever vaccination was not statistically associated with dengue seropositivity in any study area (Table 2).

Prevalence smooth maps, with darker gray colors indicating higher odds ratio (OR), are shown in Figure 6. In Higienópolis, the urban area, the spatial distribution of seroprevalence showed a linear South-North trend, with the highest odds ratios three times larger than the average value. However, no location in this area presented statistically significant differences in OR. Tubiacanga, the suburban area, presented similar variation in spatial odds ratio, with a high OR 3.0 region in the middle of the map, and this variation in chance significant (depicted by the red line in the map). In Palmares, the suburban slum, we observed the highest differences in seroprevalence distribution, with significantly high risk patch with OR = 56 on the Northeast, where the main access to the community is located. Towards the South, a protective spatial effect is evident, and an area with a protective effect was observed, located close to a forested area. The OR maps resulting from the models adjusting for individual covariates (sex and age) presented a very similar pattern, and therefore are not shown.

Spatial distribution of mosquito density and recent dengue infection.

Figure 7 shows maps of adult *Ae. aegypti* abundance. Dots indicate the location of surveyed households with and without cases of recent dengue infection. Darker shades of gray indicate higher levels of mosquito abundance, measured in terms of relative risk (RR). Visual inspection, the only possible analysis due to the small number of recent dengue infections, suggests no evidence of a coincident pattern. In the urban area, Higienópolis, mosquito RR varied from 0.25 to 4.5, with a significantly high mosquito density area (depicted in red in the map). Only one of the four new infections is located inside or close to this area. In the suburban area, Tubiacanga, spatial variability in mosquito density was smaller, with RR going up to 3. Recent dengue infections are spread evenly over the entire area, just two in seven located inside a mosquito hotspot. Palmares, the suburban slum, showed the smallest variation in vector density – with mosquitoes homogeneously covering the whole area, and recent dengue infections are also homogeneously distributed over the region, without any detectable pattern.

Discussion

High dengue virus activity in Brazil during the past 20 years is evidenced by the large number of reported cases, in almost all states [13,21,22]. Rio de Janeiro, located in the Southeast Region of Brazil, is one of the most densely populated cities and has always been an important entry point for dengue viruses into the country [13,44,45] (Fig. 3).

In 2008, DENV-2 was the predominant serotype [12,43]. In the current study, we confirmed the co-circulation of DENV-2 and DENV-3 serotypes in 5 individuals (4 DENV-2 and 1 DENV-3), by molecular methods, confirming the predominance of DENV-2 serotype in this epidemic. This serotype invaded Rio de Janeiro 19 years before this study [10], when it caused an epidemic that resulted in about 100.000 notified cases. The 2008 DENV-2 epidemic struck a population where most children had no previous contact with this serotype, while most in the 10-20 years old group probably had experienced previous infections with either DENV-2 or DENV-3. Our results confirm this epidemiological scenario, with a high predominance of recent infections in children under 15 years old (18/30).

Although the number of recent dengue infections was small, we decided to present the data because it is rare to have any recent infection data in population surveys. The epidemic that occurred during our field work presented the largest number of severe cases in children [12,43]. However, in our data, only 23.3% of infections were symptomatic, suggesting that even during such severe epidemic, silent circulation of the virus is highly prevalent [20,21,46,47]. A consequence of high frequency of asymptomatic infections is that measures of notified cases greatly underestimate the true incidence of infection and difficult the identification of high risk transmission areas within cities [48].

We observed events of recent dengue infection in residences located in areas with low mosquito densities, suggesting that infection took place out of the residence, either in other premises – school, for instance – or outdoors, (where children in these neighborhoods stay most of daytime, when *Aedes* mosquitoes are more active). However, the lack of coherence between household mosquito counts and recent dengue infection should be further investigated in future work, by comparing the current data with infected *Ae. aegypti* information [49]. In parallel, information on human population movement

patterns could also bring further insight on dengue fever transmission dynamics and the main places of transmission, eventually serving to build an early warning system for dengue outbreaks.

Entomological surveillance is of great importance for early detection of transmission risk and for directing vector control measures. However, in Brazil, vector surveillance using Premise and Breteau indices correlates poorly with dengue incidence [50,51,52], and moderately with the rate of epidemic growth [25]. In Puerto Rico a study [53] to investigate the relationship between serological and epidemiological surveys and mosquito density showed that none of the household characteristics evaluated was significantly associated with recent dengue infection, except the number of female *Ae. aegypti* per person. In Colombia, the only entomological factor related to dengue infection in humans was the pooled infection rate of mosquitoes. It would be helpful to discover the threshold of mosquito density that would trigger an epidemic [52,54].

Epidemiological studies have identified statistical risk factors for human infection or diseases [55,56,57]. Statistical models can bridge the gaps between landscape ecology, vector biology and human epidemiology, providing a sound approach to understanding risk and planning for control in heterogeneous environments, especially when the models are based on the ecology of the local vector populations [56-59]. Additionally, understanding the space and time distribution of risk for mosquito-borne infections is an important step in planning and implementing effective infection control measures [60,61]. This is because space and time are two important dimensions in describing epidemic dynamics and risk distribution [62].

Our results point to larger spatial heterogeneity in dengue seroprevalence in the most isolated areas – Tubiacanga and Palmares. In Tubiacanga, seroprevalence concentrated in the area with more intense commercial activity, schools and the main bus station. In Palmares, seroprevalence was concentrated in the slum entrance, also an area of high commercial activity and human movement. We hypothesize that such isolated populations are too small to maintain the dengue virus endemically and that the observed seroprevalence maps are the result of multiple viral introductions through the last 20 years, always through the same entrance. Such spatial

clustering of dengue has been reported in the literature [46,47], and supports the hypothesis that mosquito-borne disease incidence is highly focal [47,63]. On the other hand, a spatial pattern was not observed in Higienópolis, a neighborhood with multiple accesses and surrounded by slums with high population density.

These results highlight the important role on dengue transmission, of public spaces where human movement is intense, possibly more important than the households. Further characterization of human movement patterns should provide additional information in the understanding of dengue transmission dynamics [64]. Some authors have suggested that people rather than mosquitoes rapidly move dengue virus within and among communities [65,66]. The present study is consistent with this information.

Our results must be considered in the context of the limitations of the serological survey. First, the small number of recent dengue infections precluded a more adequate modeling of incidence versus mosquito density associations. Second, the age distribution, particularly in Higienópolis, was not comparable to the other areas. Third, households in the entomological and serological surveys did not match exactly which may have precluded the identification of association between mosquito abundance and risk of infection.

This study contributes to a better understanding of the dynamics of dengue in Rio de Janeiro by assessing the relationship between dengue seroprevalence, recent dengue infection, and vector density. In conclusion, the variation in spatial seroprevalence patterns inside the neighborhoods, with significantly higher risk patches close to the areas with the greatest human movement, suggests that humans may be responsible for virus inflow to small neighborhoods in Rio de Janeiro. Surveillance guidelines should be further discussed, considering these findings, specially the spatial patterns for both human and mosquito populations.

Acknowledgements

Special thanks go to Leandro Borges, Jefferson Silva, Marcelo Vicente, Alexsandro Camargo, Crissie Ferraz, Celma Marinho, Alex, Marcelo Celestino, Mauro Menezes, Kleber Soares, Renato Carvalho, Denise Pio, Camila Pinto, Débora Elaine, André Luiz and the technicians of Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro for logistical support in the field and laboratory. We are grateful to Luiz Antonio Bastos Camacho, Maria Goreti Rosa-Freitas and Steven Juliano for helpful discussion and comments about the manuscript. We also thank to the people of Tubiacanga, Higienópolis and Palmares for their collaboration.

References

1. Gubler DJ (1998) Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerg Infect Dis* 4: 442-449.
2. Schatzmayr HG (2000) Dengue situation in Brazil by year 2000. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 179-181.
3. Gubler DJ, Kuno G (1997) *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*: Wallingford, United Kingdom: CAB International.
4. Scott TW, Lorenz LH, Clark GG, Strickman D, Kittayapong P, et al. (2000) Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: blood feeding frequency. *J Med Entomol* 37: 89-101.
5. Halstead SB (2007) Dengue. *Lancet* 370: 1644-1652.
6. Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R (1994) *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1994.
7. Rosen L (1999) Comments on the epidemiology, pathogenesis and control of dengue. *Med Trop (Mars)* 59: 495-498.
8. Gubler DJ (2002) Epidemic/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol* 10: 100-103.
9. Schatzmayr HG, Nogueira RMR, Travassos Da Rosa APA (1986) An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 245-246.
10. Nogueira RMR, Miagostovich MP, Lampe E, Schatzmayr HG (1990) Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 253.
11. Nogueira RMR, Miagostovich MP, Filippis AMB, Pereira MAS, Schatzmayr HG (2001) Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 925-926.
12. Secretaria de Defesa Civil do Rio de Janeiro (SESDEC-RJ) (2008) *Ações em Saúde. Dengue. Relatório de casos de dengue*. <http://www.saude.rj.gov/Docs/Acoes/dengue/Relatorio.htm>.
13. Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Filippis AMB, Santos FB, Cunha RV, et al. (2005) Dengue virus type 3, Brazil, 2002. *Emerg Infect Dis* 11: 1376-1381.
14. Lourenço-de-Oliveira R (2008) Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008 – Editorial. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 627-628.
15. Teixeira MG, Costa MCN, Coelho G, Barreto ML (2008) Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. *Emerg Infect Dis* 14: 1663.

16. Figueiredo LTM, Cavalcante SMB, Simões MC (1990) Dengue serologic survey of schoolchildren in Rio de Janeiro, Brazil, in 1986 and 1987. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 24: 217-225.
17. Dias M, Dias AMC, Figueiredo LTM (1991) O dengue em Niterói – Inquérito sorológico em escolares. *Rev Soc Bras Med Trop* 24 : 116-117.
18. Cunha RV, Dias M, Nogueira RMR, Chagas N, Miagostovich MP, et al. (1995) Secondary dengue infection in schoolchildren in a dengue endemic area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 37: 517-521.
19. Cunha RV, Maspero RC, Miagostovich MP, Araújo ESM, Luz DC, et al. (1997) Dengue infection in Paracambi, state of Rio de Janeiro, 1990-1995. *Rev Soc. Bras Med Trop* 30: 379-383.
20. Singh J, Balakrishnan N, Bhardwaj M, Amuthadevi P, George EG, et al. (2000) Silent spread of dengue and dengue haemorrhagic fever to Coimbatore and Erode districts in Tamil nadu, India, 1998: need for effective surveillance to monitor and control the disease. *Epidemiol Infect* 125: 195-200.
21. Teixeira MG, Barreto ML, Costa MCN, Ferreira LDA, Vasconcelos PFC, et al. (2002) Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. *Trop Med Int Health* 7: 757-762.
22. Siqueira JB, Martelli CMT, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG, et al. (2004) Household survey of dengue infection in central Brazil: Spatial point pattern analysis and risk factors assessment. *Am J Trop Med Hyg* 71: 646-651.
23. Thammapalo S, Nagao Y, Sakamoto W, Saengtharapip S, Tsujitani M, et al. (2008) Relationship between transmission intensity and incidence of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Plos Negl Trop Dis* 2(7): e263.doi :10.1371/journal.pntd.0000263.
24. Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R (2008) Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *Plos Med* 5(3):e68.doi:10.1371/journal.pmed.0050068.
25. Coelho GE, Burattini MN, Teixeira MG, Coutinho FAB, Massad E (2008) Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 535-539.
26. Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R (2009) Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J Med Entomol.* (in press).

27. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2000) Censo demográfico 2000 agregados por setores censitários dos resultados do universo, 11-417E. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, Brasil.
28. Maciel- de-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R (2007a) Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 76: 659-665.
29. Maciel- de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, Lourenço-de-Oliveira R (2007b) Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 489-496.
30. Regis L, Monteiro AM, Melo-Santos MAV, Silveira Jr JC, Furtado AF, Acioli RV, Santos GM, Nakazawa M, Carvalho MS, Ribeiro Jr PJ, Souza WV (2008) Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 50-59.
31. Guilarde AO, Turchi MD, Siqueira JB Jr, Feres VCR, Rocha B, et al. (2008) Dengue and dengue hemorrhagic fever among adults: clinical outcomes related to viremia, serotypes, and antibody response. *J Infect Dis* 197: 817-824.
32. OPS (2000) Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. *Publicación Científica* 548: 1-109.
33. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJJ, Vorndam V (1992) Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase- polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30: 545-551.
34. Poersch CO, Pavoni DP, Queiroz MH, Borba L, Goldenberg S, et al. (2005) Dengue virus infections: comparison of methods for diagnosing the acute disease. *J Clin Virol* 32: 272-77.
35. Hough HSH, Chung-Ming CR, Vaughn DW, Kanesa-thasan N (2001) Development of a fluorogenic RT-PCR system for quantitative identification of dengue virus serotypes 1-4 using conserved and serotype-specific 3' noncoding sequences. *J Virol Methods* 95: 19-32.
36. Fay RW, Eliason DA (1966) A preferred oviposition site as surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News* 26: 531-535.

37. Reiter P, Amador MA, Colon N (1991) Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc* 7: 52-55.
38. Honório NA, Silva WC, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, et al. (2003) 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* 98: 191-198.
39. Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, Eiras AE, Barata EAMF, Chiaravalloti-Neto F (2006) Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTRAPs™ in Mirassol, São Paulo, Brazil. *J Vector Ecol* 31: 285-291.
40. Wood SN (2006) Generalized additive models: An introduction with R. Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, Florida. 392pp.
41. R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
42. Wood SN (2008) Fast stable direct fitting and smoothness selection for generalized additive models. *Journal of the Royal Statistical Society (B)* 70(3): 495-518.
43. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro (SMS-RJ) (2008) Casos de incidência de Dengue por bairro e mês, e por bairro e semana no município do RJ. http://www.saude.rio.rj.gov.br/saude/pubsms/media/tab_incidengue2008.htm
44. Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filippis AMB, Failloux AB (2004b) *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 98: 43-54.
45. Costa-Ribeiro MCV, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux AB (2006) Geographic and temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Med Int Health* 2: 1-10.
46. Van Benthem BHB, Vanwambeke SO, Khantikul N, Burghoorn-Maas C, Panart K, et al. (2005) Spatial patterns of and risk factors for seropositivity for dengue infection. *Am J Trop Med Hyg* 72: 201-208.

47. Mammem MP Jr, Pimgate C, Koenraadt CJM, Rothman AL, Aldstadt J, et al. (2008) Spatial and temporal clustering of dengue virus transmission in Thai Villages. *Plos Negl Trop Dis* 2(7):e263.doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0000263
48. Siqueira-Junior JB, Maciel IJ, Barcellos C, Souza WV, Carvalho MS, et al. (2008) Spatial point analysis based on dengue surveys at household level in central Brazil. *BMC Public Health* 8: 361.doi:10.1186/1471-2458/8/361.
49. Méndez F, Barreto M, Arias JFA, Rengifo G, Muñoz J, et al. (2006) Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue-endemic region of Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 74: 678-683.
50. Camara FP, Theophilo RL, Dos Santos GT, Pereira SR, Camara DC, et al. (2007) Regional and dynamics characteristics of dengue in Brazil: a retrospective study. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 192-196.
51. Souza IC, Vianna RP, Moraes RM (2007) Modeling of dengue incidence in Paraíba State, Brazil, using distributed lag models. *Cad Saúde Pública* 23: 2623-2630.
52. Luz PM, Mendes BVM, Codeço CT, Struchiner CJ, Galvani AP (2008) Time series analysis of dengue incidence in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 79: 933-939.
53. Rodriguez-Figueroa L, Rigau-Perez JG, Suarez EL, Reiter P (1995) Risk factors for dengue infection during an outbreak in Yanes, Puerto Rico in 1991. *Am J Trop Med Hyg* 52: 496-502.
54. World Health Organization (1999) Strengthening Implementation of the Global Strategy for Dengue Fever/Dengue Haemorrhagic Fever Prevention and Control. Report of the Informal Consultation. WHO/CDS/(DEN)/IC/2000.1.WHO, Geneva.
55. Snow RW, Peshu N, Forster D, Bomu G, Mittsanze E, et al. (1998) Environmental and entomological risk factors for the development of clinical malaria among children on the Kenyan coast. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 92: 381-385.
56. Smith DL, Dushoff J, McKenzie FE (2004) The risk of a mosquito-borne infection in a heterogeneous environment. *Plos Biol* 2(11):e368.doi:10.1371/journal.pbio.0020368.

57. Carvalho MS, Tassinari W, Costa F, Ribeiro GS, Felzemburg R, et al. (2008) Spatial- longitudinal model applied to Leptospirosis incidence. International Biometry Society, Dublin. 13-18 July.
58. Killeen GF, McKenzie FE, Foy BD, Schieffelin C, Billingsley PF, et al. (2000a) A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control. *Am J Trop Med Hyg* 62: 535-544.
59. Killeen GF, McKenzie FE, Foy BD, Schieffelin C, Billingsley PF, et al. (2000b) The potential impact on integrated malaria transmission control on entomological inoculation rate in highly endemic areas. *Am J Trop Med Hyg* 62: 545-551.
60. Chadee DD, Kitron U (1999) Spatial and temporal patterns of imported malaria cases and local transmission in Trinidad. *Am J Trop Med Hyg* 61: 513-517.
61. Focks Brenner RJ, Chadee DD, Trospen JH (1999) The use of spatial analysis in the control and risk assessment of vector-borne diseases. *Am Entomol* 45: 173-183.
62. Wen TH, Lin NH, Lin CH, King CC, Su MD (2006) Spatial mapping of temporal risk characteristics to improve environmental health risk identification: a case study of a dengue epidemic in Taiwan. *Sci Tot Environ* 367: 631-640.
63. Lloyd-Smith JO, Schreiber SJ, Kopp PE, Getz WM (2005) Superspreading and the effect of individual variation on disease emergence. *Nature* 438: 355-359.
64. Mondini A, Chiaravalloti-Neto F (2008) Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. *Science of the Total Environment* 393: 241-248.
65. Morrison AC, Getis A, Santiago M, Rigau-Perez JG, Reiter P (1998) Exploratory space-time analysis of reported dengue cases during an outbreak in Florida, Puerto Rico, 1991-1992. *Am J Trop Med Hyg* 58: 287-298.
66. Harrington LC, Scott TW, Lerdthusnee K, Coleman RC, Costero A, Clark GG, Jones JJ, Kitthawee S, Kittayapong P, Sithiprasasna R, Edman J 2005. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. *Am J Trop Med Hyg* 72: 209-220.

Legends

Figure 1. Time series of notified dengue cases in Rio de Janeiro state from 2000 to 2008 (Source: Rio de Janeiro State Secretary of Health 2008).

Figure 2: Map of Rio de Janeiro showing the location of the three study sites - Tubiacanga (suburban), Higienópolis (urban) and Palmares (suburban slum).

Figure 3: Time series of notified dengue cases in the three neighborhoods, according to the healthy authorities from the city of Rio de Janeiro (SMS-RJ 2008), number of serum samples collected, number of recent dengue infections, and *Ae. aegypti* abundance measured as mean adult density (MAD) and mean egg density (MED) in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 4: Dengue seroprevalence per age group, where red dots are positive and the blue dots indicate negative in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum) neighborhoods in Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 5: Effect of age on dengue seroprevalence in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban area) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 6: Crude odds ratio surface using the GAM model. Distribution of dengue seropositive (red dots) and seronegative (blue dots) participants in the household dengue seroprevalence survey, in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 7. Map of adult *Ae. aegypti* distribution in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum) neighborhoods in Rio de Janeiro, Brazil. Red dots indicate the households of individuals with recent dengue infection, blue dots indicate households of individuals with no evidence of recent dengue infection.

Table 1. Results of the serological surveys carried out in July-November 2007 and February-April 2008 in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Table 2. Odds ratio (OR) for individual risk factors for seroprevalent individuals in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Table 1. Results of the serological surveys carried out in July-November 2007 and February-April 2008 in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Area (type)		Serum sample (IgM) Surveys			Serum sample (IgG) Surveys		
		1st	2nd	Seroconversio n paired sample (IgM)	1st	2nd	Seroconversion paired sample (IgG)
Higienópolis (Urban)	<i>n</i>	43	29	28	43	29	28
	Positives	1*	4**	2	37	27	1
	Median Age (range)	28.5 (4-79)	42 (4-79)	40.50 (4-79)	28.5 (4-79)	42 (4-79)	40.50 (4-79)
Tubiacanga (Suburban)	<i>n</i>	157	122	117	157	122	117
	positives	2 ⁺	5 ⁺⁺	4	90	75	4
	Median Age (range)	11 (4-74)	12 (4-74)	12 (4-74)	11 (4-74)	12 (4-74)	12 (4-74)
Palmares (Suburban slum)	<i>n</i>	126	107	102	126	107	102
	positives	6 [†]	15 ^{††}	11	72	73	8
	Median Age (range)	11 (1-52)	11 (1-52)	10 (1-52)	11 (1-52)	11 (1-52)	10 (1-52)
Total	positives/total	9/326	24/258	17/247	199/326	175/258	13/247

Number of asymptomatic individuals: *1; **2; ⁺2; ⁺⁺4; [†]4; ^{††}10

Table 2. Odds ratio for individual risk factors for seroprevalent individuals in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

Risk factor	Higienópolis			Tubiacanga			Palmares		
	N	OR	P	N	OR	P	N	OR	P
Sex									
Male	22	1		73	1		61	1	
Female	22	1.179e+08	0.99	89	1.93	0.05	70	0.66	0.26
Age									
0-10 years	10	1		77	1		64	1	
11-20 years	10	1.000e+00	1.00	55	7.91	0.001	60	3.42	0.01
21-100 years	24	3.662e+08	0.99	30	25.39	0.001	7	4.15	0.22
Self-reported past history of dengue									
No	34	1		143	1		106	1	
Yes	10	2.478e+07	0.99	19	5.00	0.05	25	5.35	0.05
Yellow fever vaccination									
No	40	1		147	1		129	1	
Yes	4	7735420.4	0.99	15	1.96	0.27	2	1.634e+06	0.98

Figures

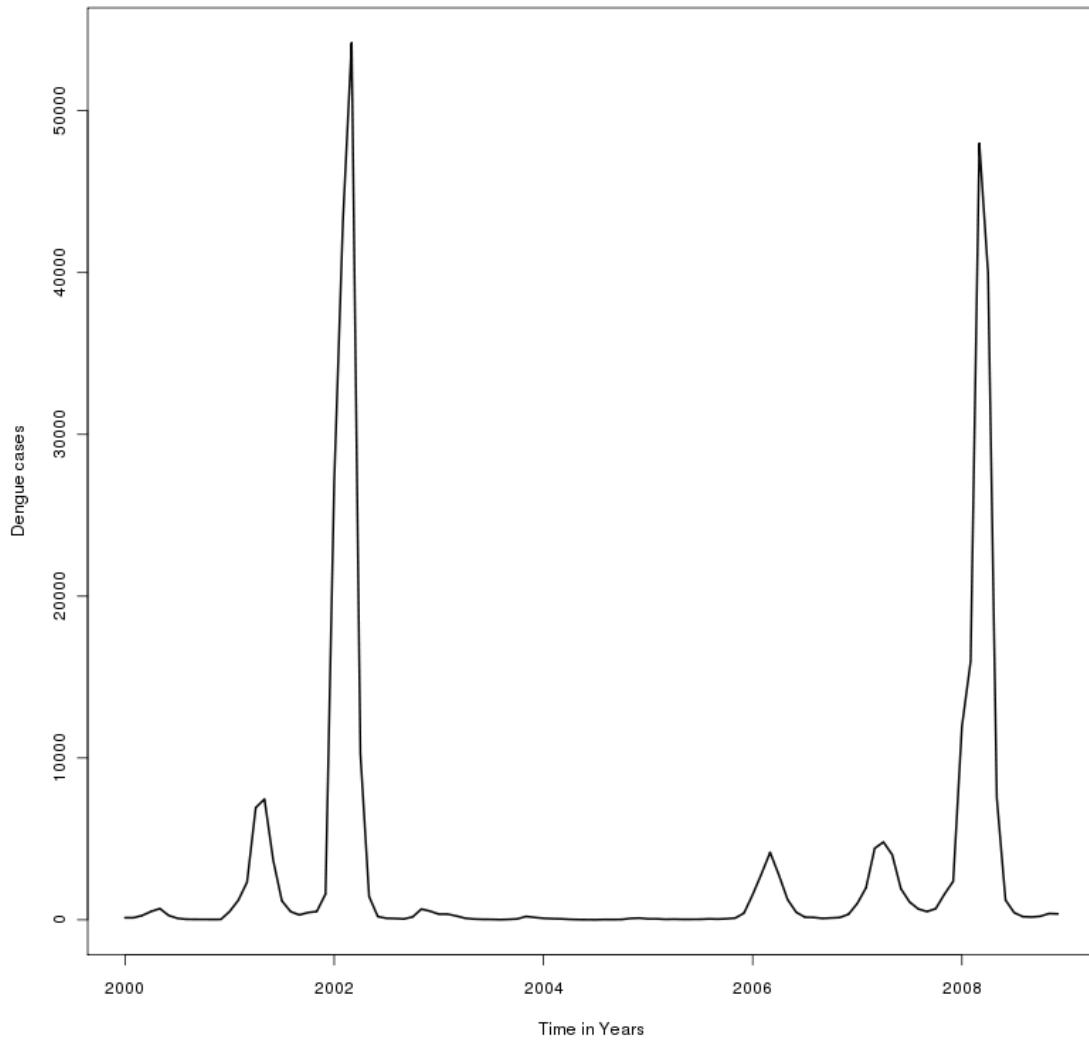


Figure 1. Time series of notified dengue cases in Rio de Janeiro State from 2000 to 2008 (Source: Rio de Janeiro State Secretary of Health 2008).

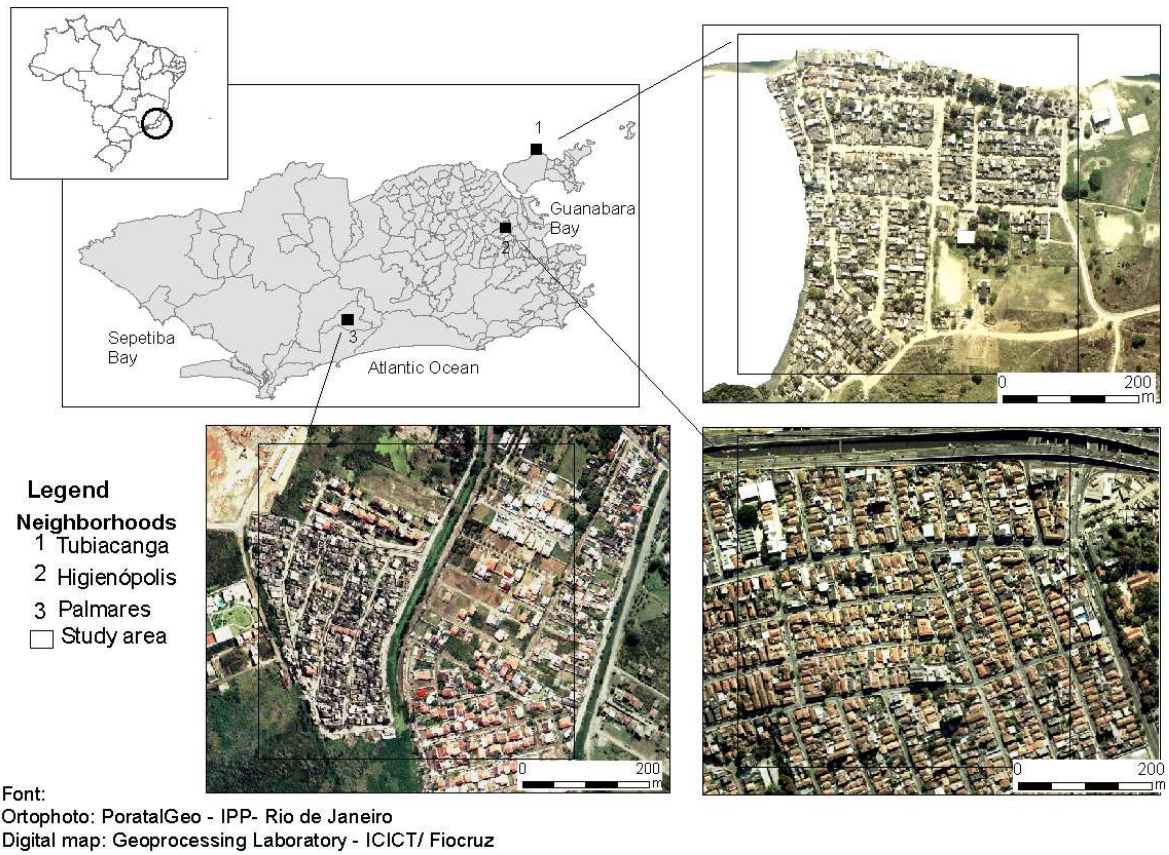


Figure 2: Map of Rio de Janeiro showing the location of the three study sites - Tubiacanga (suburban), Higienópolis (urban) and Palmares (suburban slum).

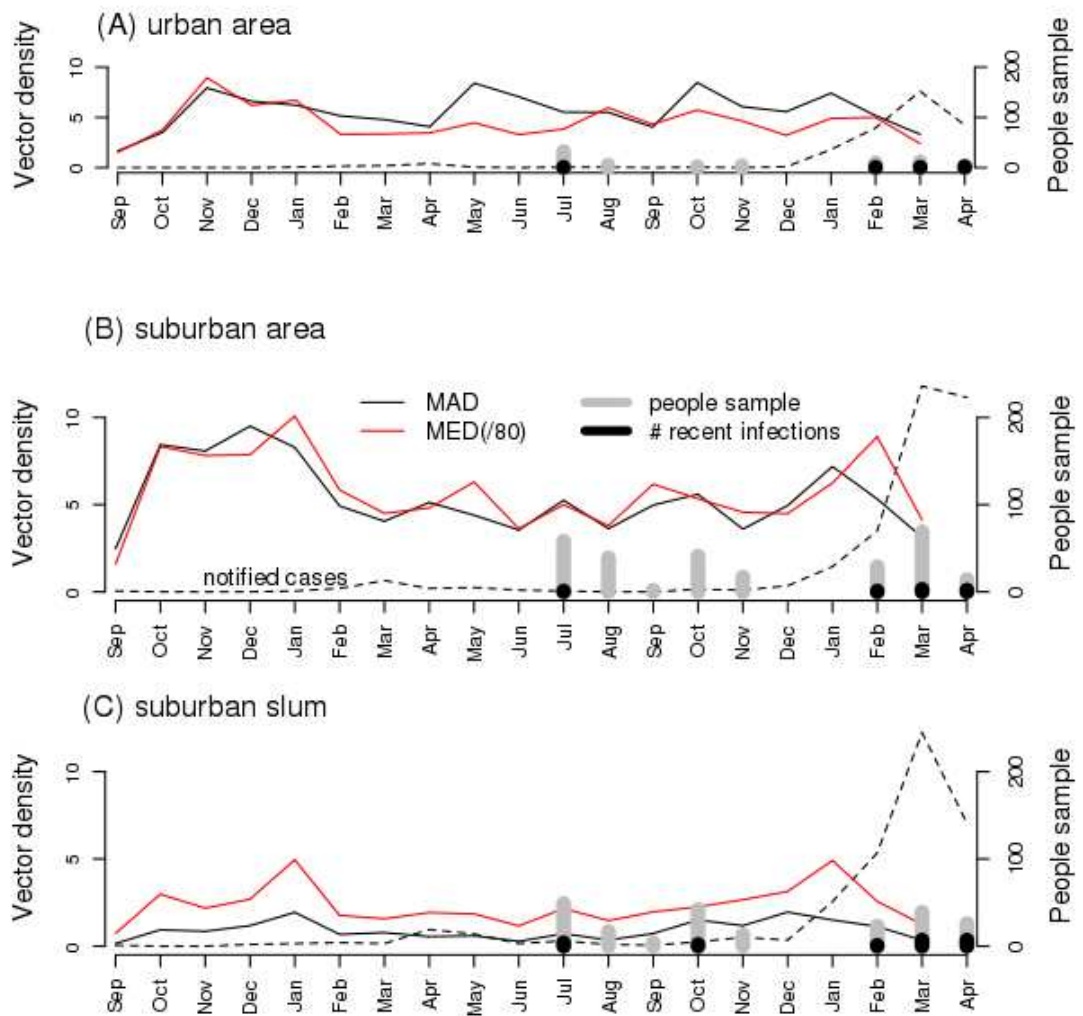


Figure 3: Time series of notified dengue cases in the three neighborhoods, according to the healthy authorities from the city of Rio de Janeiro (SMS-RJ 2008), number of serum samples collected, number of recent dengue infections, and *Ae. aegypti* abundance measured as mean adult density (MAD) and mean egg density (MED) in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

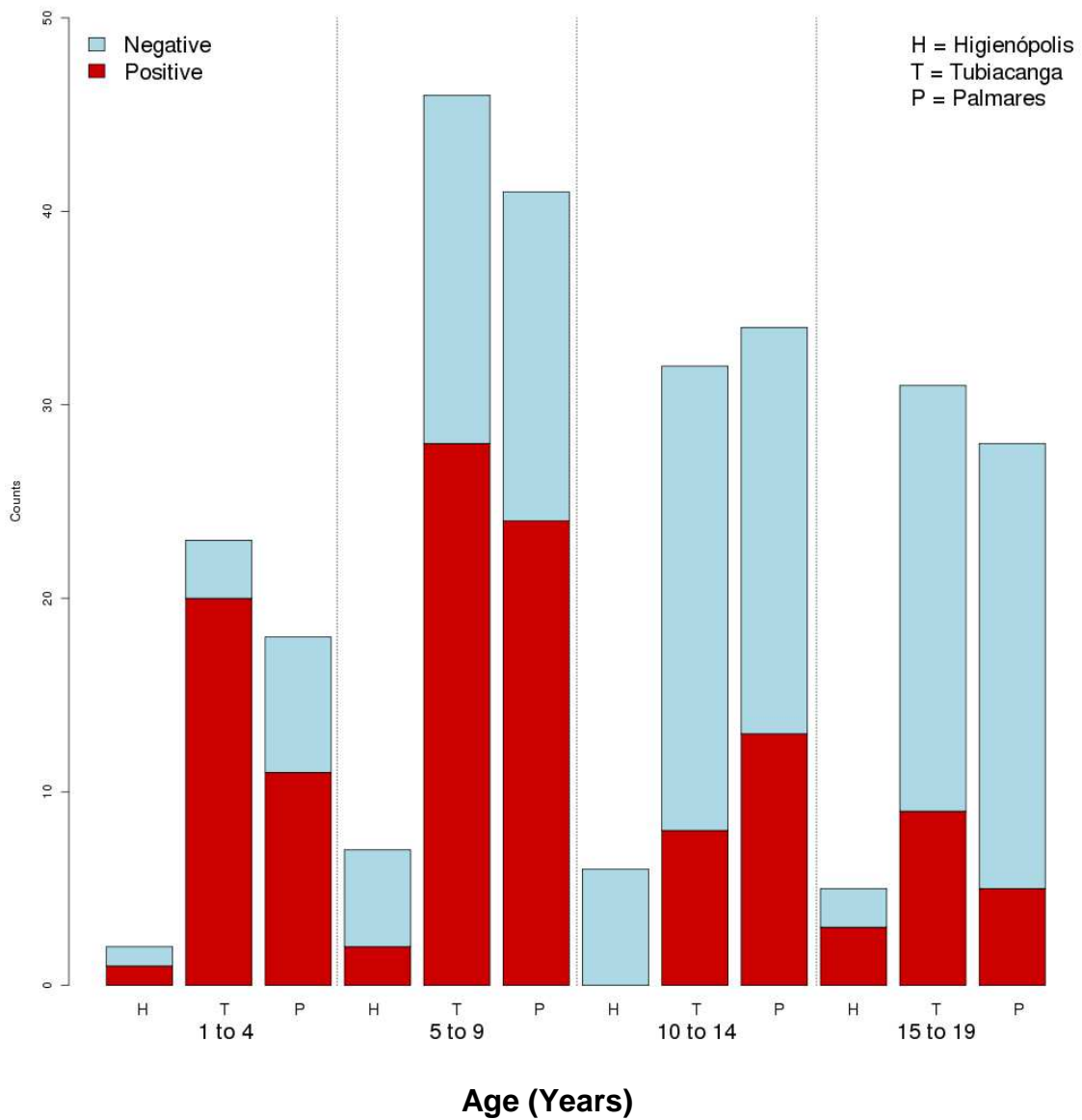


Figure 4: Dengue seroprevalence per age group, where red dots are positive and the blue dots indicate negative in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum) neighborhoods in Rio de Janeiro, Brazil.

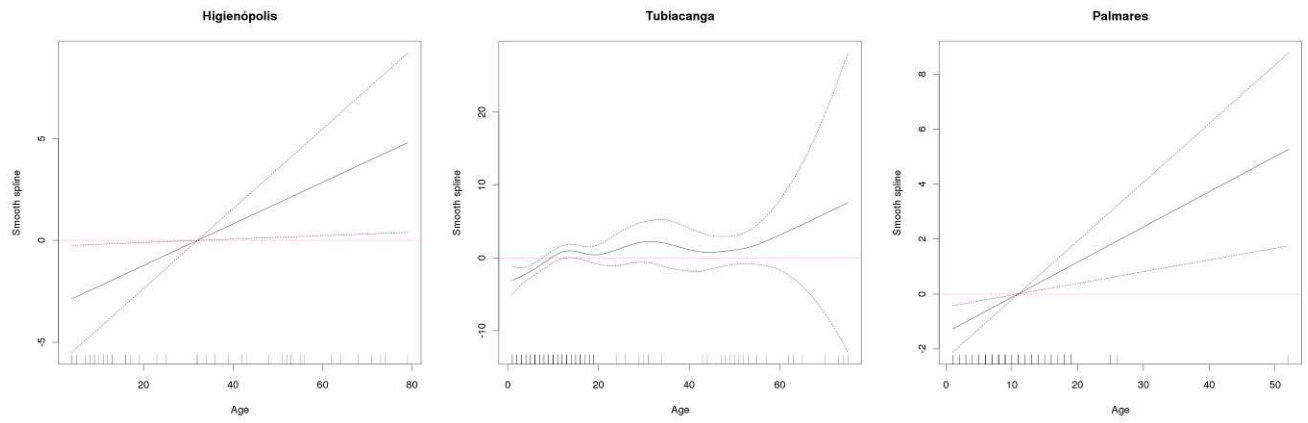


Figure 5: Effect of age on dengue seroprevalence in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban area) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil.

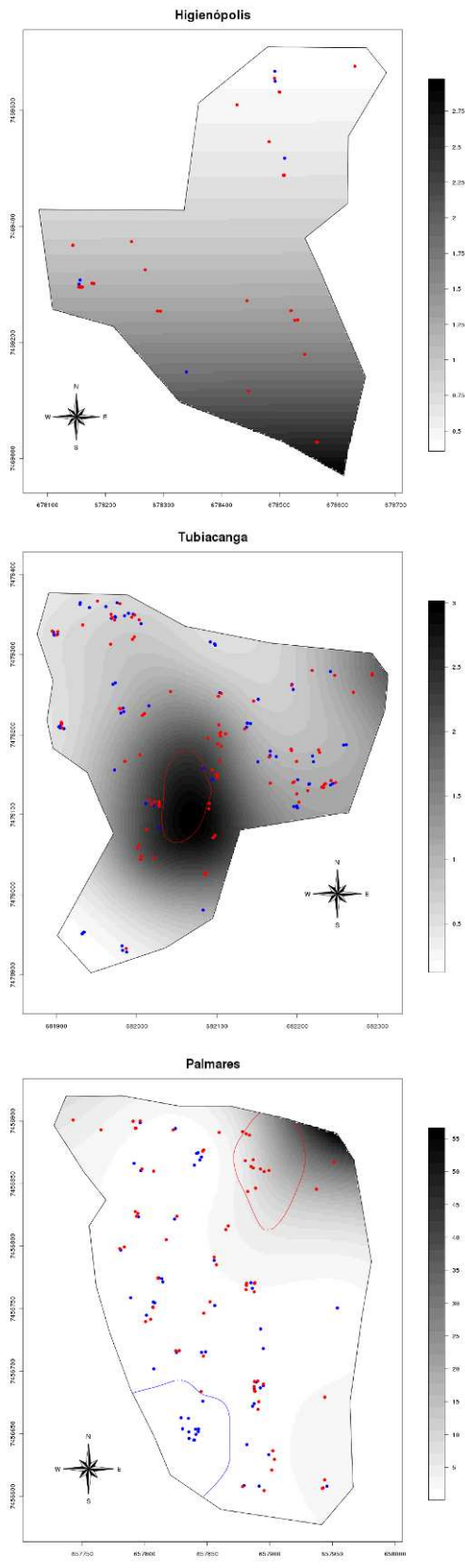


Figura 6

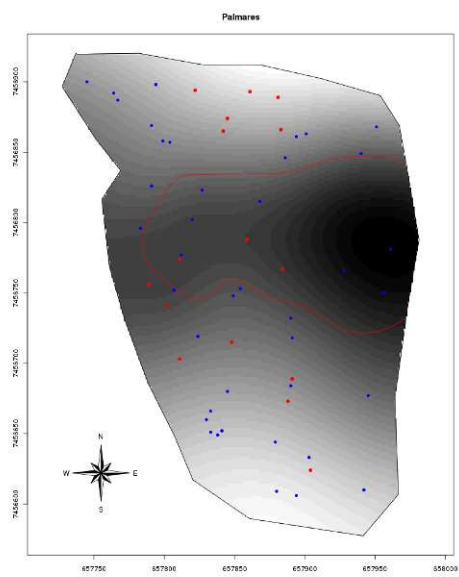
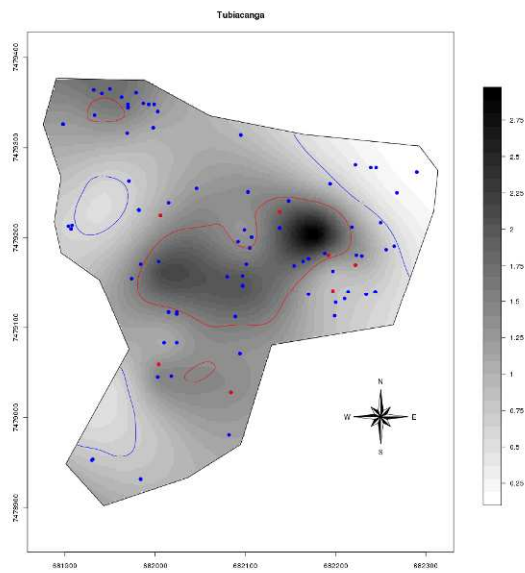
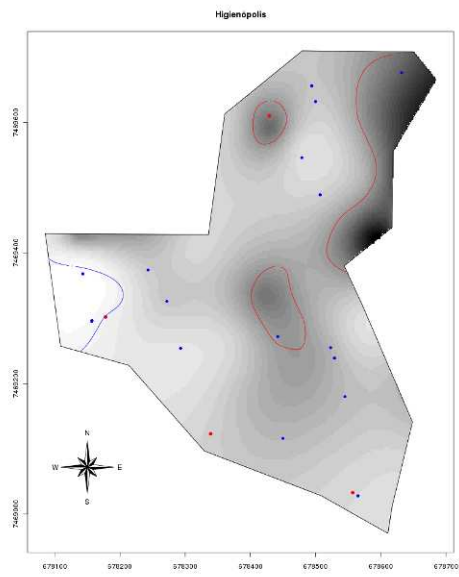


Figura 7

3.3. Artigo 3. Key Sites for Monitoring *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Infestation in Three Different Dengue Endemic Environments of Rio de Janeiro, Brazil

Referência Bibliográfica: Reis IC, Honório NA, Magalhães MAFM, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C.

Situação do manuscrito. Submetido ao periódico “*Acta Tropica*”.

Este artigo atende ao objetivo específico 3.

Apresentação. Nesse trabalho, detectamos e mapeamos os principais pontos estratégicos em áreas urbana, suburbana e favela no Rio de Janeiro. Em seguida, analisamos a distribuição espacial e temporal do vetor primário do dengue em diferentes domicílios, correlacionando-a com a presença dos pontos estratégicos (borracharias, oficinas mecânicas, centros de reciclagem de material descartável, dentre outros) em Higienópolis, Tubiacanga e Palmares, no Rio de Janeiro.

Key Sites for Monitoring *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Infestation in Three Different Dengue Endemic Environments of Rio de Janeiro, Brazil

Izabel Cristina dos Reis^{a,b,*}, Nildimar Alves Honório^a, Cláudia Torres Codeço^c,
Mônica de Avelar Figueiredo Mafra Magalhães^d, Ricardo Lourenço-de-Oliveira^a,
Christovam Barcellos^d

^a Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz-
Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Departamento de Processamento de Imagem, Instituto Nacional de Pesquisas
Espaciais, São José dos Campos, SP, Brasil.

^c Programa de Computação Científica-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

^d Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde –
ICT- Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

***Corresponding author:** Izabel Cristina dos Reis

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, INPE

Av. dos Astronautas, 1758, Jd. da Granja,

São José dos Campos, São Paulo, Brazil, 1245-97

Tel: +55 12 39456481; fax +55 12

E-mail: izareis@dpi.inpe.br

Abstract

Key sites are potential sources of population maintenance and proliferation of *Aedes aegypti*. They are defined as premises with favourable conditions for high mosquito productivity associated with a stable blood source in the immediate vicinity. The objective of this study was to analyse the spatial and temporal distributions of *Ae. aegypti* and their association with the presence of key sites in three neighbourhoods in the city of Rio de Janeiro, Brazil, characterised by distinct population densities, basic infrastructure, dengue history and vegetation coverage. *Ae. aegypti* eggs and adults were collected using traps installed in key sites and in selected domiciles in each area. Mosquito collections were carried out from January to March (summer/rainy season) and June to September 2007 (winter/dry season). Our results showed heterogeneous key site productivity and average-to-high infestation of *Ae. aegypti* in domiciles close to some key sites. The presence of some key sites was closely associated to *Ae. aegypti* infestation in their surrounding areas and should be targets for future monitoring and control. Nevertheless, this strategy must be combined with continuous reduction of *Ae. aegypti* larval habitats and education campaigns at both the key site and domicile levels to reduce dengue transmission and prevent epidemics.

Keywords: Key sites – *Ae. aegypti* – traps – monitoring – space-time – dengue

Introduction

Dengue is one of the most important arboviruses, in terms of both morbidity and mortality (Gubler 1998). In Brazil, the first epidemic of dengue after the reintroduction of *Aedes aegypti* occurred in Boa Vista, Roraima (1981-1982), when serotypes DENV-1 and DENV- 4 circulated (Osanai et al., 1983). Four years later, a dengue outbreak of serotype DENV-1 occurred in Nova Iguaçu in the State of Rio de Janeiro (Schatzmayr et al., 1986), followed by a second large outbreak, in 1990, when the DENV-2 virus was first isolated (Nogueira et al., 1990). DENV-3 serotype was identified in 2000 in Rio de Janeiro, being isolated from *Ae. aegypti* and humans in Nova Iguaçu (Nogueira et al., 2001; Lourenço-de-Oliveira et al., 2002). In 2008, Rio de Janeiro experienced a severe epidemic of dengue, with 255,818 reported cases and 240 deaths (SESDEC-RJ, 2008; SMS-RJ, 2008). After successive epidemics, the State of Rio de Janeiro continues to be very susceptible to the introduction of dengue viruses (Lourenço-de-Oliveira et al., 2004b; Costa-Ribeiro et al., 2006; Honório et al., 2009b in press).

Aedes aegypti, present in all 27 Brazilian States, is considered the main vector for dengue viruses in Brazil (Lourenço-de-Oliveira et al., 2004a). Dengue incidence and the *Ae. aegypti* population density follow seasonal patterns in Rio de Janeiro, peaking during the summer when high rainfall indices and high temperatures are observed (Honório and Lourenço-de-Oliveira 2001, Honório et al., 2009b in press). *Aedes aegypti* is a highly anthropophilic species and well adapted to the urban environment, typically occurring in areas with high human population density and low vegetation coverage (Braks et al., 2003; Lima-Camara et al., 2006; Lagrotta et al., 2008; Honório et al., 2009a). In these areas, *Ae. aegypti* females preferentially lay eggs in artificial breeding habitats, such as used tires, bottles, cans, pots, plant vases and uncovered water reservoirs with clean or stagnant water (Christophers, 1960; Maciel-de-Freitas et al., 2007a,b).

In densely populated settings, deficiencies in the water supply and public garbage collection are considered risk factors for *Ae. aegypti* proliferation (Tauil, 2001). An irregular water supply leads to an increase in the number of containers used for water storage in domiciles, while irregular trash collection favours the accumulation of containers in vacant lots, public spaces, and other

urban environments (Tauil, 2001). The Brazilian Surveillance and Control Program for Dengue and Yellow Fever Vectors defines key surveillance sites as non-residential buildings with any amount of containers of various sizes that favour the proliferation of immature forms of *Ae. aegypti*. Such sites include deposits of used tires, scrap metal, cemeteries, transport companies, bus stations, seaports and airports (Braga, 2000; Tauil, 2001; Sucen, 2002). Without adequate supervision, such key sites may sustain large populations of *Ae. aegypti* and become important sources of adult vectors that infest surrounding premises and threaten dengue control. Specific legislation and surveillance practices in these areas are still lacking in Brazil (Tauil, 2002).

In this study, we used two types of traps to analyse the temporal and spatial distributions of *Ae. aegypti* eggs and adults in key sites and domiciles in three dengue-endemic neighbourhoods of Rio de Janeiro, Brazil.

Materials and Methods

Areas of study. The study was carried out in three neighbourhoods of Rio de Janeiro city, Brazil: Higienópolis (urban), Galeão (Tubiacanga, suburban) and Vargem Pequena (Palmares, suburban slum) (Figure 1). These areas, hereafter referred to as Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, have distinct characteristics, including human population density, conditions of sanitation, vegetation coverage and dengue history (Maciel-de-Freitas et al., 2007b; Honório et al., 2009b in press).

Higienópolis, the urban area (22°52'25"S 43°15'41"W) is an urban neighbourhood situated in the northern zone of Rio de Janeiro, surrounded by slums and the Yellow Line expressway, which crosses Higienópolis and connects it to numerous urban localities. The human population density is 15,891 inhabitants/ km². The water supply is regular and sewage service is available. The houses' yards are usually small and cemented and overall vegetation coverage is low. Higienópolis reported 22 dengue cases in 2007 and 350 in 2008 (SMS, 2008).

Tubiacanga, the suburban area (22°47'08"S 43°13'36"W) is an isolated suburban neighbourhood located on Governador Island. The human population density is 8,219 inhabitants/ km². The water supply is irregular, and many residents have cisterns or drums for water storage. Most houses have access to the sewage system. The houses' yards are usually of medium size and vegetation coverage is moderate. Tubiacanga (as Galeão) reported 42 and 583 cases in 2007 in 2008, respectively (SMS, 2008).

Palmares, the suburban slum (22° 59'26"S 43° 27'36"W) is a recently settled slum located between a rain-forest-covered mountain range and a polluted river, at one of the major axes of the city's western expansion. The human population density is 2,733 inhabitants/ km². The main economic activity is material recycling. The water supply is irregular, and residents store water in barrels and buckets. Houses' yards are nonexistent, and vegetation coverage is low inside the slum and high in its surroundings. Palmares (as Vargem Pequena) reported 87 and 580 cases of dengue in 2007 and 2008, respectively

(SMS, 2008).

Meteorological variables. Rainfall data for each study area were obtained from GeoRio-<http://www.rio.rj.gov.br/georio/alerta/tempo>. Temperature data were acquired from two meteorological stations located <5 km from each study area (Infraero, 2007). In Higienópolis and Tubiacanga, the temperature varied from 24.3°C to 28.5°C during the summer (January-March) and from 18.1°C to 23.3°C during the winter (June-September). In Palmares, the temperature varied from 25.81°C to 29.96°C and from 18.13°C to 25.76°C in the summer and winter, respectively. The urban and suburban areas both had lower than average precipitation, while the suburban slum received the greatest amount of precipitation, with a mean of 50.13 mm rainfall/month in the summer.

Domicile selection. In each of the three neighbourhoods, an area of 500 x 500 m delimited the study site. In each area, 80 domiciles were randomly selected, avoiding those less than 50 metres apart. Residents were invited to participate in the study and one type of mosquito trap was installed in each household, after obtaining consent (Honório et al., 2009b, in press).

Key site identification. In the three neighbourhoods, five key sites were identified by visual inspection and subsequently georeferenced (Fig. 1). Each key site was numbered and named accordingly to its location, i.e., (H) for Higienópolis, (T) for Tubiacanga and (P) for Palmares (Fig. 1, Table 1).

Entomological surveillance. Entomological surveillance of domiciles was carried out during the summer (January 15th to March 28th) and the winter (June 25th to September 26th) of 2007. In each of the three neighbourhoods, one egg trap was placed in each of 40 domiciles and one adult trap was placed in each of 40 other domiciles. Key sites (five in each area) were monitored with two traps apiece, one egg trap and one adult trap. Egg traps consisted of a black plastic container filled with 300 mL of a 10% hay infusion and a wooden paddle for oviposition fastened to the wall (Fay and Eliason, 1966; Honório et al., 2003). Adult traps consisted of a black container with an opening in the top that allowed mosquitoes to enter inside the trap, which contained water and an

adhesive card with a volatile attractant (Eiras, 2002; Maciel-de-Freitas et al., 2008a). Paddles and cards were taken to the laboratory, where eggs and adults were identified (Consoli and Lourenço-de-Oliveira, 1994 taxonomic keys) and counted. House and Breteau indices were obtained from the Municipal Secretary of Health of Rio de Janeiro for each period and each neighbourhood. Entomological surveillance of key sites and domicile surveillance were carried out concomitantly.

Spatial distribution. Summer and winter vector abundance maps were created using a Kernel smoothing function (Bailey and Gatrell 1995). The variables used were the number of collected *Ae. aegypti* eggs or adults per trap. Kernel smoothing generates a probability surface from the interpolation of spatial values. Maps were made in Spatial Analyst software, with an influence area of 100 m and 7 m resolution (ArcGis 9.1, ESRI).

Data analysis. Positivity indices for ovitraps (IPO) and MosquiTRAPs (IPM) were calculated as the number of positive traps divided by the total number of installed traps (Gomes, 1998). IPO and IPM values were compared with the House and Breteau indices. To assess the potential role of key sites as sources of mosquitoes for the neighbourhoods, we calculated the accumulated distribution of eggs and adults as a function of the distance from each key site. We assumed that if a key site were a mosquito source, the distribution would be skewed to the left (lower distances). In other words, more mosquitoes would be captured in domiciles closer to a key site. A randomisation method was used to test for statistical significance by comparing the first quartile of the observed distribution with that obtained by randomly redistributing the capture measurements between domiciles (Manly, 2006). Statistical analyses were performed using R 2.5.1 (R Development Core Team, 2006).

Results

Trap indices, IPOs, IPMs and the mean numbers of eggs and adults per trap varied considerably according to the time of collection (summer or winter) and neighbourhood (Table 1). IPO and IPM reached 89% and 78% and 56% and 67% in the domiciles and key sites, respectively. Except for in two neighbourhoods (Tubiacanga and Palmares) during the summer, the IPM was higher in the domiciles than in the key sites; IPOs were always higher in domiciles. The mean numbers of eggs and adults per trap were similar in traps installed in domiciles and in key sites during the summer but were higher in the tested domiciles in the winter.

A total of 207,474 eggs were collected in domiciles: 76,437 (36.8%) in Higienópolis, 96,088 (46.3%) in Tubiacanga and 34,949 (16.9%) in Palmares. Approximately 90% of those eggs were *Ae. aegypti*, while the remaining 10% were *Ae. albopictus*. A total of 2,396 *Ae. aegypti* adults were collected in domiciles. Of this number, 1,146 (47.8%) were captured in Higienópolis, 1,078 (45.0%) in Tubiacanga and 172 (7.2%) in Palmares. Collections at key sites by both egg and adult traps yielded 16,678 eggs (67.2% were collected during the summer) and 307 adult mosquitoes, 243 of which belonged to the genus *Aedes* (89.3% *Ae. aegypti* and 10.7% *Ae. albopictus*) and 64 of which were *Culex quinquefasciatus*.

Aedes aegypti abundance in domiciles as measured by the amount of eggs collected in ovitraps was significantly higher in Higienópolis and Tubiacanga than in Palmares ($\chi^2 = 7.275$, $df = 2$, $P = 0.02$). The same neighbourhood ranking was obtained when using the number of *Ae. aegypti* adults ($\chi^2 = 18.1$, $df = 2$, $P < 0.001$) (Table 1). The trap data were consistent with the standard House and Breteau indices, and all indicated that the lowest infestation level was in Palmares. When comparing Tubiacanga and Higienópolis, all indices pointed to higher vector abundance in the former, but the difference was not statistically significant (Fig. 2). *Aedes aegypti* abundance in summer and winter, measured by the amount of either eggs or adults collected in the domicile surveillance, was not significantly different ($\chi^2 = 0.0394$, $df = 1$, $P = 0.8426$).

***Aedes aegypti* spatial distribution in domiciles.** Spatially smoothed eggs and adult yields were plotted as maps (Figs. 3-5). Darker shades of grey indicate higher quantities of eggs and adults. The spatial distributions of eggs and adults of *Ae. aegypti* showed a consistent pattern in the summer and winter periods. In Higienópolis, a hotspot of high mosquito abundance was found in the northeast, an area close to the Yellow Line highway and close to several slums (Fig. 3). In Tubiacanga, the mosquito distribution tended to be high in most areas, with large hotspots at the centre (adult trap), and in an area close to the sea (egg trap) (Fig. 4). In Palmares, suburban slum, we observed similar pattern with both types of traps, with a high mosquito density patch at North (Fig. 5).

Key site productivity. Key sites showed remarkably variable infestation indices, even when they belonged to the same category or were in the same neighbourhood (Table 2). In Higienópolis, key site 5H (a transport company) had the highest abundance of eggs (60.7%). It was characterised by partially covered asbestos roofing over many uncovered tires and smaller containers. A repair shop (key site 2H) was also very productive, yielding 54.3% of all adults collected, but it was among the least productive when measured by egg counts. On the other hand, the key sites with the lowest adult productivity were also three repair shops (1H, 3H and 4H), which were distinct from 2H in that they were smaller and frequently had strong paint odours. In Tubiacanga, the most productive key site was 1T, one of the sampled boat yards, with 48% of all eggs collected; it was characterised by the presence of many boats and other containers shaded by trees. The least productive key site in Tubiacanga was 4T, a vacant lot. In Palmares, among three sampled recycling centres (2P, 3P and 4P), 2P was the most productive local key site in terms of eggs (48.2%), while 3P was responsible for 54.8% of all adults collected in all key sites; these places were characterised by partial roofing over a recycling material sorting site. As in Tubiacanga, the sampled vacant lot was the least productive key site in Palmares (1P).

***Aedes aegypti* spatial distribution in key sites.** In Higienópolis, some key sites (2H, 3H and 5H) were located near average-to-high infestation areas during the summer and winter (Fig. 3). Two of the key sites (2H and 5H) were highly infested themselves. The same situation was observed in Tubiacanga for the highly productive key sites (1T and 2T) (Fig. 4). In Palmares, the highly productive key sites (2P and 3P) were near average-to-high infestation hotspots in both seasons (Fig. 5).

To test whether key sites were sources of mosquitoes for the vicinity, we tested the hypothesis that trap captures (eggs or adults) showed greater accumulations near the key sites (Table 3). In Higienópolis, two key sites (2H and 5H) were located at the centres of mosquito hotspots, both in the summer and winter, based on the MosquiTRAP results. In Tubiacanga, where the mosquito distribution was more uniform, there was less strong evidence of an association between infestations and key sites. Still, the ovitraps identified the boat yard (1T) as a significant source, both in the summer and winter. In Palmares, two of the three recycling centres (2P and 3P) were also significantly associated with hotspots.

Discussion

In this work, we investigated the spatial and temporal distributions of eggs and adults of *Ae. aegypti*, through traps installed in key sites and domiciles in three different areas in Rio de Janeiro. Tubiacanga and Higienópolis were the most infested areas, as measured by both traps and the traditional Breteau and House indices. Despite its favourable conditions for *Ae. aegypti* infestation (see Materials & Methods for area description), Palmares had the lowest number of eggs and adults captured (Tables 1 and 2). A longitudinal study carried out in Palmares showed that the mosquito population density was low for *Ae. aegypti* and high for *Cx. quinquefasciatus*. This might be due to the presence of a eutrophised river that crosses this slum community (Honório et al., 2009a). A previous study has shown lower *Ae. aegypti* egg productivity in a slum area when compared to the suburban environment (Lourenço-de-Oliveira et al., 2008).

The summer period was the most productive in the three areas of study. This is consistent with the known population dynamics of *Ae. aegypti* in the region (Consoli and Lourenço-de-Oliveira, 1994; Honório et al. 2009b in press). Ovitrap were more sensitive than MosquiTRAPs in detecting *Ae. aegypti* in the three neighbourhoods (Honório et al. 2009b in press). Ovitrap are considered an economical and sensitive method for monitoring *Ae. aegypti* since they can be used to detect and compare infestation in different areas (Braga et al. 2000, Lourenço-de-Oliveira et al. 2008, Regis et al. 2008, Honório et al. 2009b in press).

Within each neighbourhood, we identified five sites that fit the definition of key sites. Most of these were repair shops, with a high abundance of disposed tires. Close to the sea, boat yards were also common, and within the slum, recycling centers dominated. These types of key sites are likely to be representative for the entire city, as they are common commercial activities in urban, suburban and slum areas. However, not all key sites were important sources of vectors. In Higienópolis, one transportation company and one repair shop (among four sampled) were both highly infested and closely associated with a highly infested neighbourhood. In Palmares, two out of three sampled recycling centres were identified as important mosquito sources, and in Tubiacanga, a boat yard was identified as a source. Indeed, boats to be fixed

are left in open fields; boat yards and other containers have long been considered key factors in mosquito production in Tubiacanga (Maciel-de-Freitas et al 2007b, 2008b). Thus, boat yards are a threat for mosquito control in coastal Rio de Janeiro. In Nova Iguaçu, a neighbour city of Rio, a study found that areas highly infested with *Ae. aegypti* (measured with ovitraps) were also those with high abundance of key sites (gas stations, tyre repair shops and waste iron containers) (Lagrotta et al. 2008). In Londrina, Paraná, *Ae. aegypti* larvae were observed in higher numbers in containers located in abandoned vacant lots (Lopes et al., 1993). In São José do Rio Preto, São Paulo, larvae of *Ae. aegypti* were mostly found in tyre repair shops and tyre deposits, construction material deposits and repair shops (Chiaravalloti-Neto 1997). Cemeteries can also be important key sites due to the abundance of breeding habitats for *Ae. aegypti*, such as vases and plates (Vezzani et al., 2001).

Our results indicate that sites classified as key sites can indeed be important sources of mosquitoes to the areas around them. However, not all key sites are important sources of dengue vectors, and differences in the mosquito productivity of key sites in the same category can be associated with proper management of sites. Additionally, key premises and key containers have been shown to vary their amount of productivity between samplings and throughout the year (Getis et al., 2003; Chadee 2004, Lagrotta et al., 2008; Maciel-de-Freitas et al., 2008b). Intriguingly, we noticed that IPOs, IPMs and the mean numbers of eggs and adults per trap in domiciles were equal to or greater than those in key sites, irrespective of the sampling season in the three surveyed neighbourhoods in Rio. Oviposition and displacement strategies of *Ae. aegypti* females depend on several factors, such as the availability of water-holding containers, number of conspecific eggs and human population density (Chadee 2009, Maciel-de-Freitas et al. 2009), which may vary with time. Indeed, key sites are frequently over exposed to a higher charge of insecticides such as pyrethroids, leading to an early and ultimately development of resistance in local dengue vector populations (Martins Jr, 2009). Therefore, monitoring of key sites with traps used continuously or at least at frequent time intervals can be an effective way of evaluating key sites as sources of dengue vectors to the nearby communities. Nevertheless, this strategy must be combined with the continuous reduction of *Ae. aegypti* larval habitats and education campaigns at

both the key site and domicile levels to reduce dengue transmission and prevent epidemics.

Acknowledgements

The authors wish to thank Leandro Borges de Miranda for support to this research project. We are grateful to Maria Goreti Rosa-Freitas for translation into English and for helpful discussions, comments and a critical review of the manuscript. To Rafael Maciel-de-Freitas for his valuable advice. We also thank the people of Tubiacanga, Higienópolis and Palmares for their collaboration. This work was supported by Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ, Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior-CAPES and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq.

References

- Bailey, T.C., Gatrell, A.C., 1995. Interactive Spatial Data Analysis. Prentice Hall, Harlow, England, 414 pp.
- Braga, I.A., Gomes, A.C., Nelson, M., Mello, R.C.G., Bergamaschi, D.P., Souza, J.M.P., 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. Rev. Bras. Med. Trop. 33, 347-353.
- Braks, M.A.H., Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., Juliano, S.A., Lounibos, L.P., 2003. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. J. Med. Entomol. 40, 785-94.
- Chiaravalloti-Neto, F.C., 1997. Descrição da colonização de *Aedes aegypti* na região de São José do Rio Preto, São Paulo. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 30, 279-285.
- Christophers, S.R., 1960. *Aedes aegypti* (L): *The Yellow Fever Mosquito*. Cambridge University Press, London. 739pp.
- Consoli, R.A.G.B., Lourenço-de-Oliveira, R., 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. 225pp.
- Costa-Ribeiro, M.C.V., Lourenço-de-Oliveira, R., Failloux, A.B., 2006. Geographic and temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. Trop. Med. Int. Health 2, 1-10.
- Eiras, A.E., 2002. Armadilha para captura de mosquitos. Patente: Privilégio e Inovação. n. PI0203907-9, "Armadilha para captura de mosquitos". 05 de set de 2002 (Depósitos).
- Empresa Brasileira de Infra-Estrutura Aeroportuária – INFRAERO 2007. <http://www.infraero.gov.br>.
- Fay, R.W., Eliason, D.A., 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. Mosquito News 26, 531-35
- Fundação Instituto de Geotécnica do Município do RJ - GEO-RIO. GeoRio - <http://www.rio.rj.gov.br/georio/alerta/tempo>.
- Gomes, A.C., 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* e *Aedes* (stegomyia) *albopictus* em programas de vigilância entomológica. Inf. Epidemiol. 7, 49-57.
- Gubler, D.J., 1998. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. Emerg. Infect. Dis. 4, 442-49.

- Honório, N.A., Castro, M.G., Barros, F.S.M., Magalhães, M.A.F.M., Sabroza, P.C., 2009a. The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saúde Públ.* 25, 1203-1214.
- Honório, N.A., Codeço, C.T., Alves, F.C., Magalhães, M.A.F.M., Lourenço-de-Oliveira, R., 2009b. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J. Med. Entomol.* (in press).
- Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2001. Freqüência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. *Rev. Saúde Públ.* 34, 385-91.
- Honório, N.A., Silva, W.C., Leite, P.J., Gonçalves, J.M., Lounibos, L.P., Lourenço-de-Oliveira, R., 2003. 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* 98, 191-198.
- Lagrotta, M.T.F., Silva, W.C., Souza-Santos, R., 2008. Identification of key areas for *Aedes aegypti* control through geoprocessing in Nova Iguaçu, Rio de Janeiro State, Brazil. *Cad. Saúde Públ.* 24, 70-80.
- Lima-Camara, T., Honório, N.A., Lourenço-de-Oliveira, R., 2006. Freqüência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em distintos ambientes no Rio de Janeiro. *Cad. Saúde Públ.* 22, 2079-2084.
- Lopes, J., Silva, M.A.N., Borsato, A.M., Oliveira, V.D.R.B., Oliveira, F.J.A., 1993. *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* L. e a culicidaeofauna associada em área urbana da região sul, Brasil. *Rev. Saúde Públ.* 27, 326-333.
- Lourenço-de-Oliveira, R., Castro, M.G., Braks, M.A., Lounibos, L.P., 2004a. The invasion of urban Forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J. Vector Ecol.* 29, 94-100.
- Lourenço-de-Oliveira, R., Honório, N.A., Castro, M.G., Schatzmayr, H.G., Miagostovich, M.P., Alves, J.C.R., Silva, W.C., Leite, P.J., Nogueira, R.M.R., 2002. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, State of Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97, 799-800.
- Lourenço-de-Oliveira, R., Lima, J.B.P., Peres, R., Alves, F.C., Eiras, A.E., Codeço, C.T., 2008. Comparison of different uses of adult traps and ovitraps for assessing dengue vector infestation in endemic areas. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24, 387-392.

- Lourenço-de-Oliveira, R., Vazeille, M., Filippis, A.M.B., Failloux, A.B., 2004b. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98, 43-54.
- Maciel-de-Freitas, R., Codeço, C.T., Lourenço-de-Oliveira, R., 2007a. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 76, 659-665.
- Maciel-de-Freitas, R., Marques, W.A., Peres, R.C., Cunha, S.P., Lourenço-de-Oliveira, R., 2007b. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 102, 489-496.
- Maciel-de-Freitas, R., Peres, R.C., Alves, F., Brandolini, M.B., 2008. 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* 103, 602-605.
- Manly, B.F.J., 2006. *Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology*. Chapman & Hall/CRC, 2007. 3rd Edition (Texts in Statistical Science Series), 455p.
- Martins, A.J., Lins, R.M.M.A., Linss, J.G.B., Peixoto, A.A., Valle, D., 2009. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 81, 108-115.
- Nogueira, R.M.R., Miagostovich, M.P., Filippis, A.M.B., Pereira, M.A.S., Schatzmayr, H.G., 2001. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 96, 925-926.
- Nogueira, R.M.R., Miagostovich, M.P., Lampe, E., Schatzmayr, H.G., 1990. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 85, 253.
- Osana, C.H., Travassos-da-Rosa, A.P.A., Tang, A.T., Amaral, R.S., Passos, A.D.C., Taui, P.I., 1983. Surto de dengue em boa Vista, Roraima. *Rev. Inst. Med. Trop.* 25, 53-54.
- R Development Core Team, 2006. R: A language and environment for statistical computing. (<http://www.R-project.org>).
- Regis, L., Monteiro, A.M., Melo-Santos, M.A.V., Furtado, A.F., Acioli, R.V., Santos,

- G.M., Nakazawa, M., Carvalho, M.S., Souza, W.V., 2008. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 103, 50-59.
- Schatzmayr, H.G., Nogueira, R.M.R., Travassos-da-Rosa, A.P.A., 1986. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 81, 245-246.
- SESDEC-RJ 2008. Ações em Saúde. Dengue. Relatório de casos de dengue. Secretaria de Defesa Civil do Rio de Janeiro. <http://www.saude.rj.gov/Docs/Acoes/dengue/Relatorio.htm>.
- SMS-RJ 2008. Casos de incidência de Dengue por bairro e mês, e por bairro e semana no Município do Rio de Janeiro. Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro. <http://www.saude.rio.rj.gov.br>
- SUCEN-SP 2009. Superintendência de controle de endemias. Disponível em: http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/dengue_f_amarela/texto_dengue_pro.htm. Acessado em: 08 de fevereiro de 2009.
- Tauil, P.L., 2001. Urbanização e ecologia do dengue. Cad. Saúde Públ. 17, 99-102.
- Tauil, P.L., 2002. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. Cad Saúde Públ. 18, 867-868.
- Vezzani, D., Velásquez, S.M., Soto, S., Schweigmann, N.J., 2001. Environmental characteristics of the cemeteries of Bueno Aires city (Argentina) and infestation level of *Aedes aegypti*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96,467-471.

Legend Figures and Tables

Figure 1. Map of Rio de Janeiro showing the study areas (Higienópolis, Tubiacanga and Palmares) and geographical location of traps installed in domiciles and of Key Sites.

Figure 2. House and Breteau index in relation to ovitraps and MosquiTRAPs positive for adults of *Ae. aegypti* during summer (A) and winter (B) periods of 2007 in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 3. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Higienópolis, Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 4. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Tubiacanga, Rio de Janeiro, Brazil.

Figure 5. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Table 1. *Aedes aegypti* abundance measured by adult traps and egg traps installed in 40 domiciles and in 5 key sites, during the 2007 summer and winter in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Table 2. *Aedes aegypti* abundance measured by adult traps (captured adults/trap week⁻¹) and egg traps (captured eggs/trap week⁻¹) installed in five key sites in each of the neighborhoods - Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil during the 2007 summer and winter.

Table 3. Stars indicate key sites around which domicile captured eggs or adults of *Aedes aegypti* were found to be significantly spatially aggregated, in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Figures

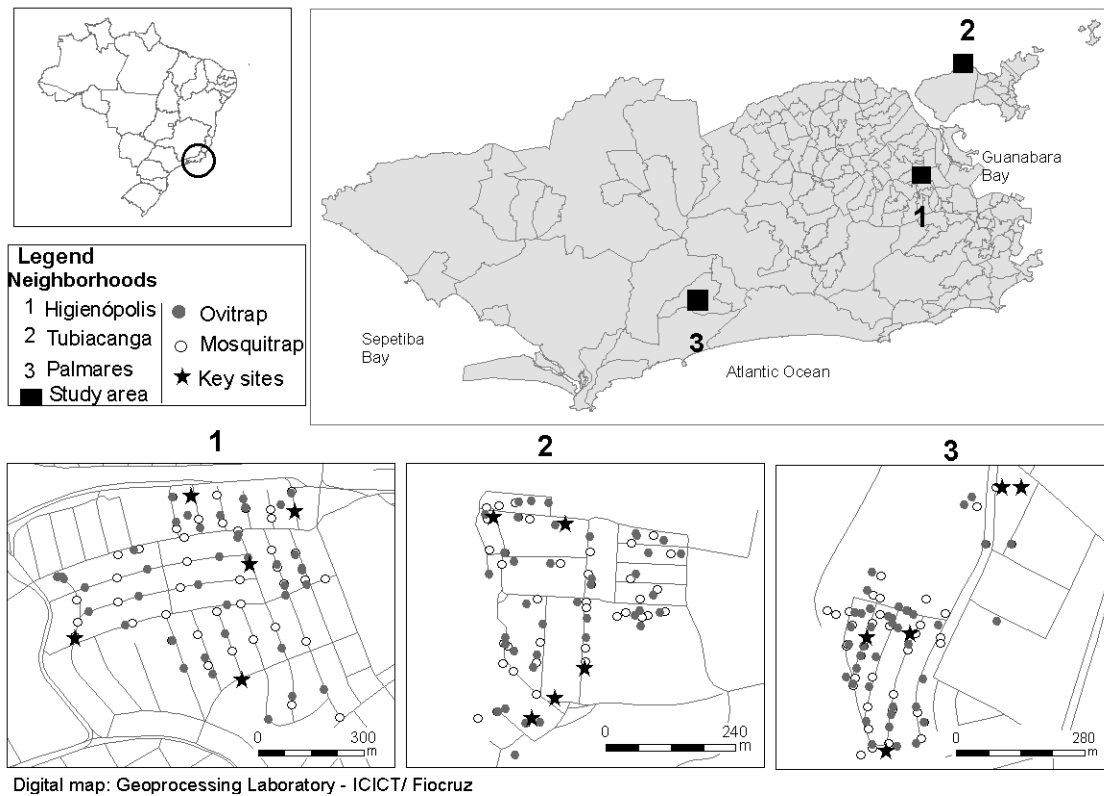


Figure 1 – Map of Rio de Janeiro showing the study areas (Higienópolis, Tubiacanga and Palmares) and geographical location of traps installed in domiciles and of Key Sites.

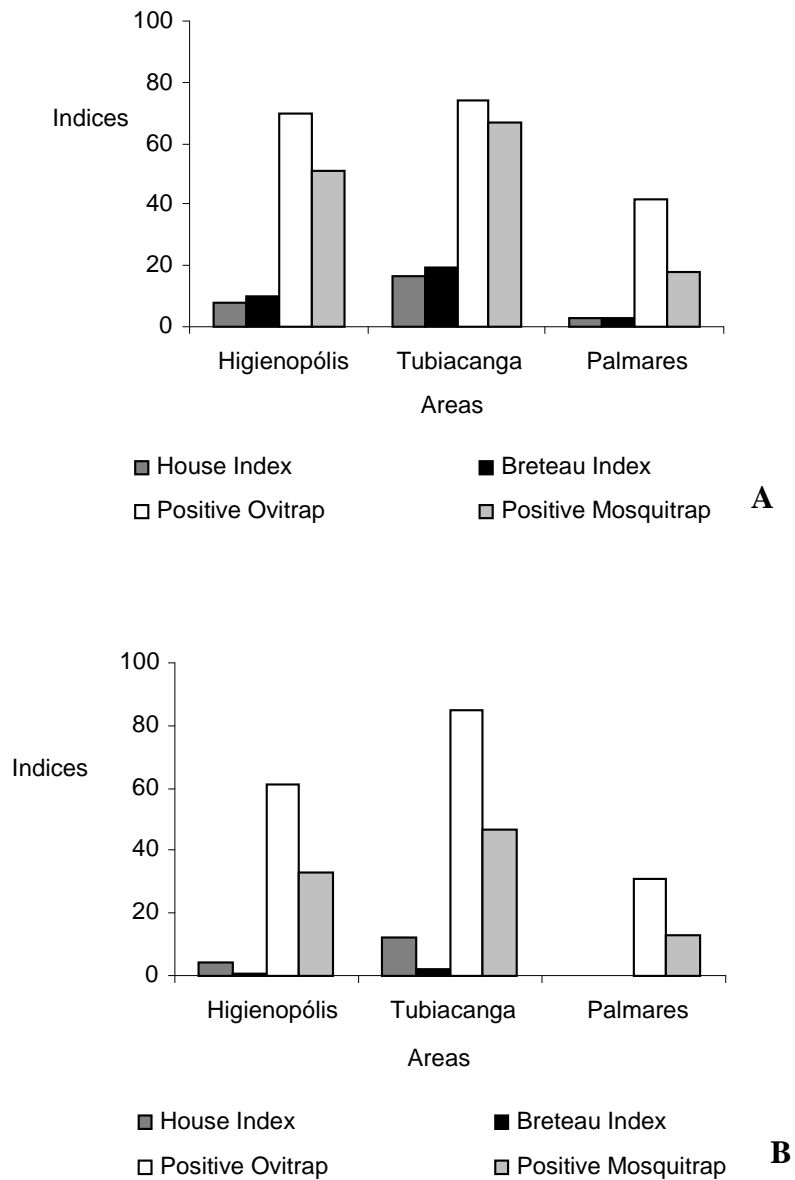


Figure 2. House and Breteau index in relation to ovitraps and MosquiTRAPs positive for adults of *Ae. aegypti* during summer (A) and winter (B) periods of 2007 in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

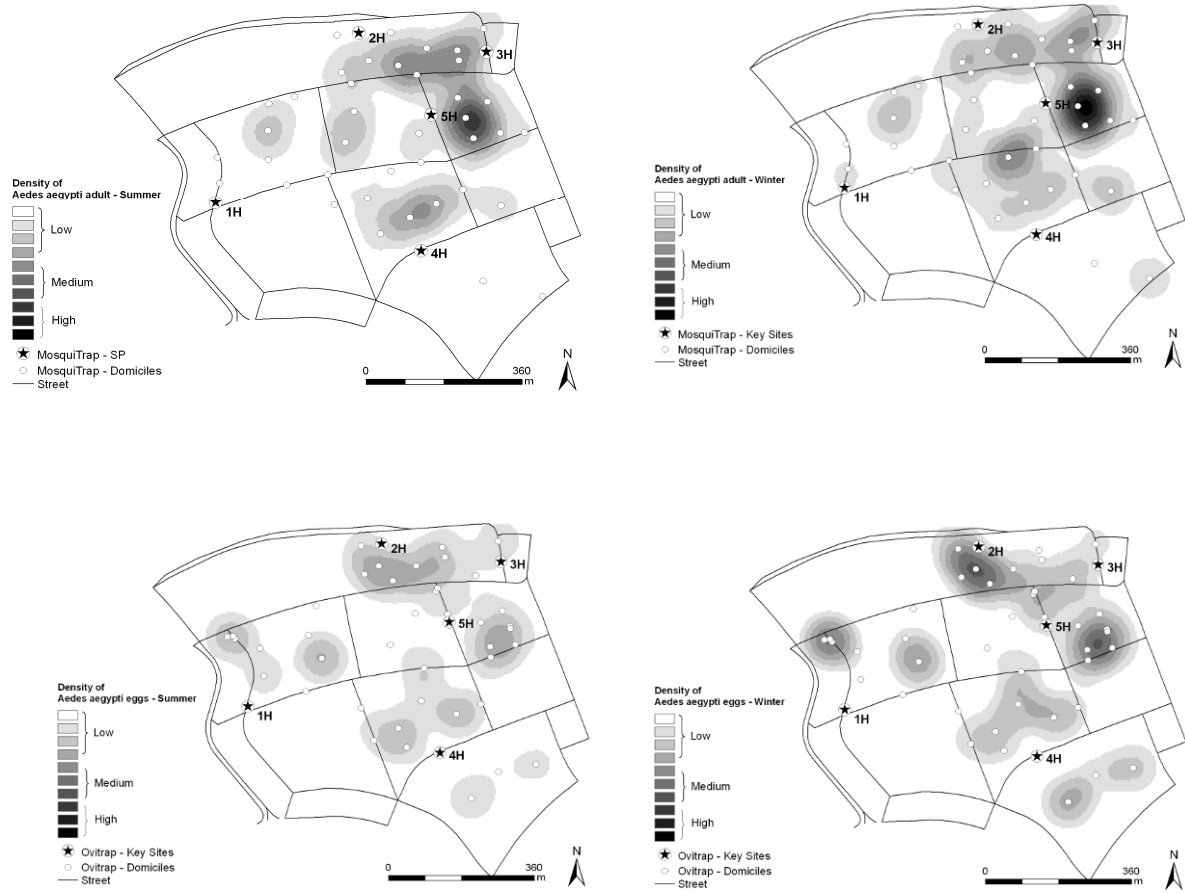


Figure 3. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Higienópolis, Rio de Janeiro, Brazil.

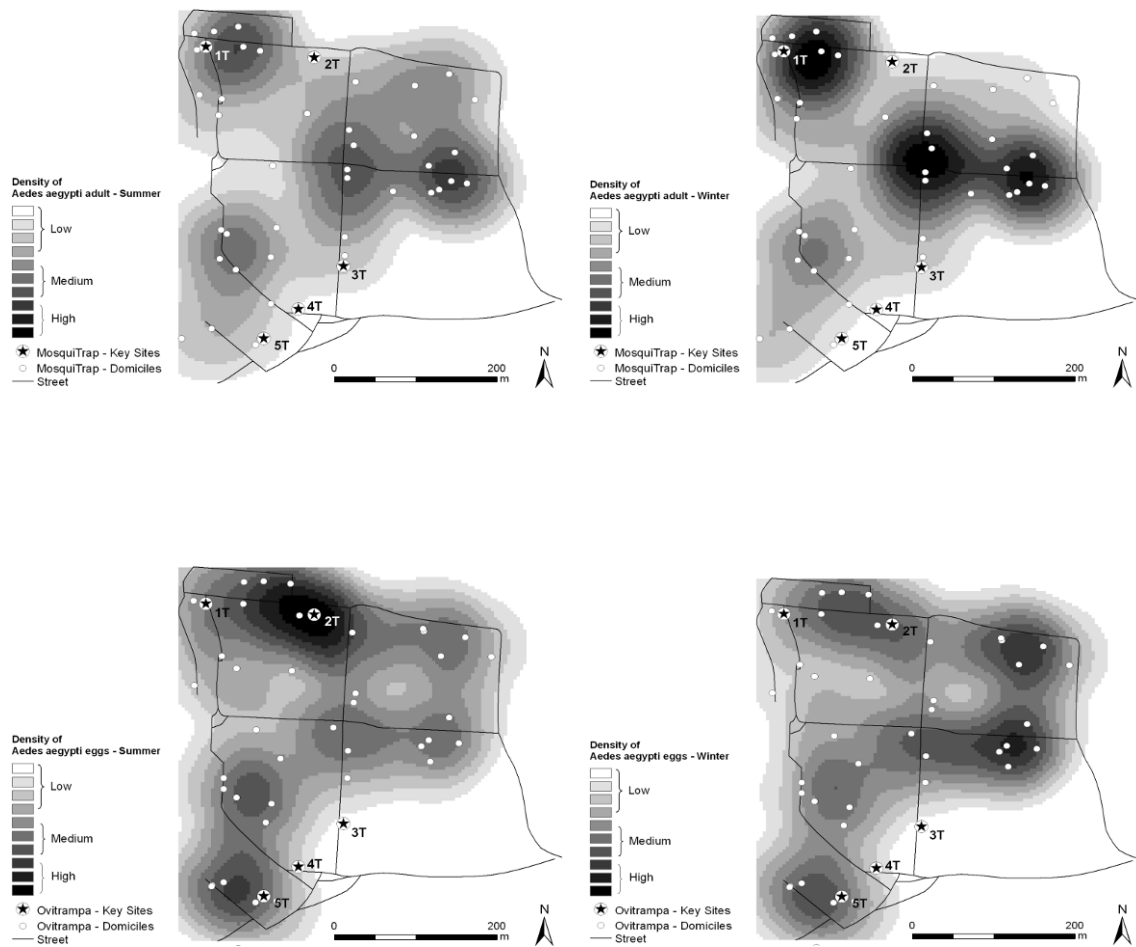


Figure 4. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Tubiacanga, Rio de Janeiro, Brazil.

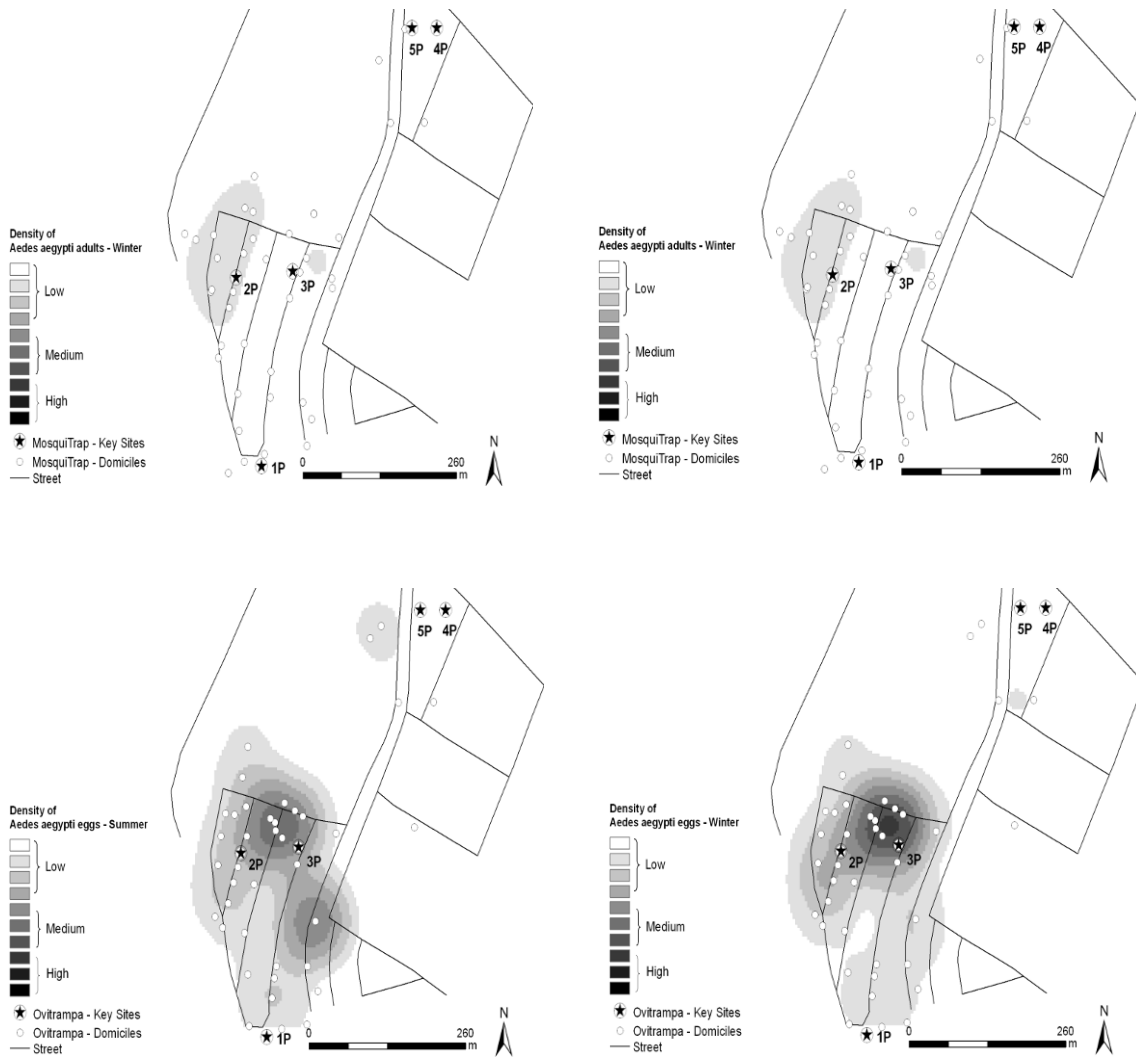


Figure 5. Spatial distribution for eggs and adults of *Ae. aegypti* in several key sites during summer and winter periods of 2007 in Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Table 1. *Aedes aegypti* abundance measured by adult traps and egg traps installed in 40 domiciles and in 5 key sites, during the 2007 summer and winter in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Season	Area	Ovitrap				MosquiTRAP			
		Domiciles		Key Sites		Domiciles		Key Sites	
		Eggs/trap	IPO* (%)	Eggs/trap	IPO (%)	Adults/trap	IPM** (%)	Adults/trap	IPM (%)
Summer	Higienópolis	66.5	74.0	54.9	60.0	1.9	56.0	2.3	33.0
	Tubiacanga	100.5	89.0	111.0	78.0	1.9	56.0	2.0	67.0
	Palmares	36.5	57.0	37.8	34.0	1.3	16.0	1.4	22.0
Winter	Higienópolis	79.0	77.0	4.7	16.0	2.2	52.0	1.5	27.0
	Tubiacanga	84.6	85.0	60.8	68.0	2.0	48.0	1.5	37.0
	Palmares	30.8	42.0	12.6	21.0	1.2	11.0	1.0	7.0

*IPO – Egg traps positivity index

**IPM – Adult traps positivity index

Table 2. *Aedes aegypti* abundance measured by adult traps (captured adults/trap week-1) and egg traps (captured eggs/trap week-1) installed in five key sites in each of the neighborhoods - Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil during the 2007 summer and winter.

Key Sites	Higienópolis (Urban area)				Key Sites	Tubiacanga (Suburban area)				Key Sites	Palmares (Suburban Slum)			
	Summer		Winter			Summer		Winter			Summer		Winter	
	Adult/wk	Egg/wk	Adult/wk	Egg/wk		Adult/wk	Egg/wk	Adult/wk	Egg/wk		Adult/wk	Egg/wk	Adult/wk	Egg/wk
1H (Repair shop)	0.00	51.81	0.21	7.42	1T (Boat yard)	1.81	233.81	0.35	171.50	1P (Vacant lot)	0.00	11.27	0.00	0.00
2H (Repair shop)	2.09	11.72	1.07	0.57	2T Boat yard	2.72	110.00	1.57	28.07	2P (Recycling center)	0.81	81.00	0.21	38.28
3H (Repair shop)	0.27	23.54	0.07	5.85	3T (Repair shop)	0.90	62.72	0.50	51.14	3P (Recycling center)	1.45	75.54	0.07	23.71
4H (Repair shop)	0.00	15.09	0.00	0.00	4T (Vacant lot)	0.27	73.45	0.00	8.85	4P (Recycling center)	0.00	1.72	0.07	0.00
5H (Transport company)	1.36	172.72	0.71	9.50	5T (Scrap yard)	1.09	75.09	0.35	44.78	5P (Repair shop)	0.09	19.54	0.00	0.85

Table 3. Stars indicate key sites around which domicile captured eggs or adults of *Aedes aegypti* were found to be significantly spatially aggregated, in Higienópolis, Tubiacanga and Palmares, Rio de Janeiro, Brazil.

Period	Higienópolis			Tubiacanga			Palmares		
	Key Sites	Ovitrap	MosquiTrap	Key Sites	Ovitrap	MosquiTrap	Key Sites	Ovitrap	MosquiTRAP
		Hotspot	Hotspot		Hotspot	Hotspot		Hotspot	Hotspot
Summer	1H (Repair shop)			1T (Boat yard)	*		1P (Vacant lot)		
	2H (Repair shop)	*	**	2T (Boat yard)			2P (Recycling center)		**
	3H (Repair shop)			3T (Repair shop)			3P (Recycling center)	**	
	4H (Repair shop)			4T (Vacant lot)			4P (Recycling center)		
	5H (Transport company)			5T (Scrap yard)			5P (Repair shop)		
Winter	(1H) (Repair shop)			1T (Boat yard)	**		1P (Vacant lot)		
	2H (Repair shop)			2T (Boat yard)			2P (Recycling center)	**	
	3H (Repair shop)			3T (Repair shop)			3P (Recycling center)		
	4H (Repair shop)			4T (Vacant lot)			4P (Recycling center)		
	5H (Transport company)			5T (Scrap yard)			5P (Repair shop)		

3.4. Artigo 4. Egg and adult traps for *Aedes aegypti* suggest different spatial patterns of vector density and determination of dengue risk areas in Rio de Janeiro.

Referência Bibliográfica: Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Nobre AA, Simões TC, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAF, Reis IC, Codeço CT.

Situação do manuscrito. Em preparação para ser submetido ao periódico “Memórias do Instituto Oswaldo Cruz”.

Este artigo atende ao objetivo específico 4.

Apresentação. Nesse trabalho, objetivamos caracterizar o padrão espacial e avaliar a coerência entre índices de infestação medidos por armadilhas de oviposição (ovos e adultos) na identificação de áreas de maior infestação em três localidades do Rio de Janeiro.

Egg and adult traps for *Aedes aegypti* suggest different spatial patterns of vector density and determination of dengue risk areas in Rio de Janeiro

Nildimar A Honório^{1/+}, Ricardo Lourenço-de-Oliveira¹, Aline Araújo Nobre²,
Taynana Simões³, Marília Sá Carvalho², Oswaldo Gonçalves Cruz², Mônica de
Avelar Figueiredo Mafra Magalhães⁴, Izabel Cristina dos Reis^{1,5}, Cláudia
Torres Codeço²

¹Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz

²Programa de Computação Científica ³Escola Nacional de Saúde Pública

⁴Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde,
Fundação Oswaldo Cruz, Av. Brasil 4365, 21045-900 Rio de Janeiro, Brasil

⁵Departamento de Processamento de Imagem, Instituto Nacional de Pesquisas
Espaciais, São José dos Campos, SP, Brasil

Financial support: CNPq, FAPERJ, CAPES

⁺ Corresponding author: honorio@ioc.fiocruz.br

Abstract

Dengue transmission and vector spatial densities are heterogeneous within Rio de Janeiro city. The spatial distribution patterns of *Ae. aegypti* is determined by the interplay of environmental and behavioral factors. The objective of this study was to characterize spatial patterns of *Ae. aegypti* egg and adult distribution by aggregating data along time dimension, and looking at the differences through space in three distinct urban environments in Rio de Janeiro: an urban, a suburban and a slum. Mosquito sampling were weekly conducted from September 2006 to March 2008, using 40 egg and 40 adult traps in each study area. Egg and adult production was heterogeneous among the three areas. Two areas, the urban and suburban neighborhoods, presented high mean egg density, with an apparently uniform spatial distribution of *Ae. aegypti*, without detecting any important dengue risk area. However, in the slum the egg density average was significantly lower, and a distinct spatial pattern was detected. On the other hand, results from adult trap collections detected significant spatial variations in the three study areas, discriminating high and low relative dengue risk areas. Our results suggest that the spatial pattern observed depends on the type of trap used for mosquito density monitoring, and that heterogeneous distribution of oviposition sites may also affect the risk distribution. Heterogeneous spatial patterns of *Ae. aegypti* density may be important not only for understanding the epidemiological dynamics of dengue but also for specially targeted control measures.

Key words: Spatial distribution - traps - *Ae. aegypti* - surveillance - dengue

Introduction

Dengue fever, a mosquito-borne infection, is one of the most important emerging infectious diseases. Worldwide, dengue epidemics are more frequent and involve large populations (Guzman et al. 1990, Nogueira et al. 2007). Since Brazil's re-invasion by the primary dengue vector *Aedes aegypti* in the late 1960's, several dengue epidemics have occurred (MS 2008). In particular, the State of Rio de Janeiro has been very receptive to dengue viruses and vector, and is the most affected in Brazil in terms of morbidity and mortality (Schatzmayr et al. 1986, Nogueira et al. 1990, 2002, Lourenço-de-Oliveira 2008).

Spatial distribution of dengue cases and vector varies substantially among and within neighborhoods (Luz et al. 2003, Getis et al. 2003, Honório et al. 2009). Rio de Janeiro city urban landscape is very heterogeneous both in sanitation systems and general urbanization, with approximately 30% of the population living in slums and other kind of low income areas (IBGE 2000). The suburban areas, in the outskirts of the city, are the least urbanized, characterized by lower human density, and greater vegetation coverage (either grassland or forest) than the central ones. Vector density varies within the city, and *Aedes aegypti* is usually more abundant in the urban districts and slums (Consoli and Lourenço-de-Oliveira 1994, Braks et al. 2003, Maciel-de-Freitas et al. 2007b).

The spatial distribution of *Ae. aegypti* is determined by the interplay of environmental and behavioral factors. Among the environmental factors, availability of permanent and productive larval habitats follows unplanned urbanization, irregular sanitation and water supply, lack of garbage collection and other conditions that favor the proliferation of potential breeding habitats and influence vector distribution (Tauil 2001, 2002). Among the behavioral factors, this species has been shown to be highly anthropophilic and endophilic, with adult females resting inside houses and feeding frequently on human blood. Oviposition is driven by the presence of co-specific eggs in containers (Lima-Camara et al. 2006, Chadee 2009). Female dispersal behavior depends on the availability of breeding sites and blood hosts (Honório et al. 2003). Therefore, the spatial abundance patterns of *Ae. aegypti* adults are strongly influenced by the presence and abundance of containers that serve as larval development sites (Eisen & Lozano-Fuentes 2009) and house conditions (Tun-Lin

et al. 1995). As result, *Ae. aegypti* tends to be spatially clustered at the household level, in places where human hosts and productive, permanent oviposition sites are abundant (Harrington et al. 2005, Maciel-de-Freitas et al. 2009). Thus heterogeneous distribution of oviposition sites may also affect spatial pattern of risk of dengue infection (Smith et al. 2004).

A 1½ year weekly longitudinal survey of *Ae. aegypti* abundance was carried out in three neighborhoods of Rio de Janeiro between September/2006 and March/2008. We have previously described the temporal patterns of dengue vector abundance in the same areas through spatially aggregating the data to produce weekly infestation indices (mean density indices). Here, we focus on the characterization of the spatial patterns by aggregating the data along the time dimension, and looking at the differences throughout the space.

Material and Methods

Study areas - The city of Rio de Janeiro is the second largest in Brazil, comprising 1,261km², with 6.093,472 inhabitants (IBGE 2000). Mosquito surveys were performed in three neighbourhoods representing three distinct urban environments – an urban and a suburban neighbourhood and a slum (Figure 1), as follows:

Higienópolis (22°52'25''S 43°15'41''W) is an urban neighborhood located within a densely populated metropolitan area (human population density is 15,891 inhabitants/km²). One of the major and busy city's highways, the Yellow Line, crosses the neighborhood. Residents live in houses with no or small cemented yards. Vegetation coverage is low, streets are paved, water supply and garbage services are good. However, Higienópolis is surrounded by some of the largest slums of Rio de Janeiro, with favorable conditions for *Ae. aegypti* proliferation.

Tubiacanga (22° 47' 08'' S; 43° 13' 36'' W) is a small suburban neighborhood located in the district of Galeão, at the border of the Governador Island, in the Guanabara Bay (human population density is 8,219 inhabitants/km²). This mainly residential neighborhood is mostly occupied by houses with large open yards. Streets are unpaved, garbage collection is regular, but access to water is irregular, and residents often store water in containers, which are potential development sites for immature *Ae. aegypti*. This area is quite isolated from other neighborhood by the sea and the airport landing lanes, and there is no slum around.

Palmares (22° 59'26'' S 43° 27' 36'' W) is a disordered human settlement started in the 1990s within the district of Vargem Grande (human population density is 2,732 inhabitants/km²). Palmares constitutes a suburban slum located between a rain forest mountainous range and a polluted river in one of the major axes of expansion of the city, to the West. Housing distribution is crowded and irregular, with narrow unpaved alleys; water storage in potential larval sites and wells are common. Vegetation coverage is low within the neighborhood but very dense around it. For additional details on the three areas see Maciel-de-Freitas et al. (2007a, b) and Honório et al. (2009).

Entomological survey – In each neighborhood, a 500 x 500m study area was defined and 80 houses were randomly sampled from each one. The house nearest to each point was selected. Only houses ≥ 50 m apart were considered. Householders were invited to participate in the study and interviewed upon consent. Two types of traps for ovipositing females, egg (ovitrap) and adult (MosquiTRAP) traps, were used (described elsewhere, Honório et al. 2009). The entomological survey was conducted weekly, from September 2006 to March 2008. In each area, 40 houses received one egg trap and the other 40 received one adult trap. Traps were placed in the peridomestic environment of each house, preferably in the garden or in a shady area. All traps were inspected weekly, and number of *Ae. aegypti* eggs or adults recorded. The location of each household was determined by a hand-held, 12 channel global positioning system (Garmin), accurate to 15 m.

Data analysis - A Generalized Additive Model (GAM) is a statistical model that extends the generalized linear models to include non-parametric smoothing terms. In the generalized linear model, the response variable belongs to the exponential family, and its mean value is related to the linear predictors through a link function. We consider Poisson response for adult data with the log as the canonical link function. The egg data showed overdispersion and a quasi-likelihood estimation with log link function and variance function equal to the square of the mean was used to fit the model. The spatial distribution was modeled using a bi-dimensional smooth function, in our case, a thin plate spline – applied on the geographical coordinates of each household, as depicted in the equation below:

$$\log(y_i) = \text{offset}(\log(\text{week}_i)) + f(\text{north}_i, \text{east}_i) + e_i$$

where y_i is the response variable, that is, the number of eggs or adults collected per trap during the whole studied period (1,5 years); week_i is the number of weeks collected used as an offset to deal with missing counts; function $f(\text{north}_i, \text{east}_i)$ is a smooth function of geographic co-ordinates and e_i are the residuals. Contour lines at RR = 1 were drawn in the maps to identify areas with significantly higher and lower risk than the overall mean (p-value <0.05). To explore the spatial dependence between traps a sample semi-variogram is shown. The semi-variogram is a function that describes the degree of spatial

dependence. This tool recognizes spatial variability on both the large scale (spatial trend) and the small scale (spatial autocorrelation) (Carbajo et al. 2006). The semivariograms describes how sample data are related with separation distance. The semivariograms was used to study the spatial dependence of *Ae. aegypti* oviposition. The semi-variogram was estimated for pair distances between 3 and a maximum distance of 500 meters. To describe the traps profile along the surveillance period a graph presenting the counts in each trap per week and a smooth line synthesizing the overall pattern in each area is presented. All statistical analyses were performed using the statistical software R 2.9.1 (R Development Core Team 2009).

Results

A total of 703,649 eggs of *Aedes* species, the majority being *Ae. aegypti* were collected in egg traps, while 15,059 *Ae. aegypti* adults were caught by adult traps. Egg and adult production was heterogeneous among the three areas (Fig. 2). Using egg data, the suburban area emerged as the most productive area, with a mean of 101 eggs/ trap per week, while the urban area was second most productive, averaging 77 eggs/ trap per week. The slum was the least productive, with a mean of 39.7 eggs/ trap per week. Using adult data, the urban and suburban areas showed similar density indices, with 1.3 *Ae. aegypti*/ trap per week, while the slum presented very low indices, averaging only 0.3 *Ae. aegypti* per trap per week (Honório et al. 2009).

Aedes aegypti spatial distribution- Spatially smoothed eggs and adult counts were depicted on maps (Figs. 3-5). Darker shades of gray indicate higher quantities of eggs and adults. Red dots are placed on the traps coordinates. White lines define significantly high risk areas while black lines circumscribe low risk patches. Table 1 shows the goodness-of-fit of the spatial model and the significance of the spatial term.

Mosquito egg maps and adult maps produced different results: the spatial smooth term for adults was highly significant for all areas, while for eggs counts the suburban area spatial term was not significant, indicating a totally random pattern. However, a large proportion of the total deviance was explained by the models. The visual inspection of the maps as well indicates important differences between the techniques, as no similarity of spatial pattern could be suggested.

Analyzing the urban area (Higienópolis), the variation the range of the RR both for eggs and adults was similar: from 0.5 to 2.3 and 0.4 to 2.8 respectively. (Fig 3A and 3B). However, the significant high and low risk areas are entirely different. The high risk area for adults covers the entire center of the neighborhood while a much smaller areas towards the North-East was significant for the eggs counts model. The low risk areas are even more

contrasting: all NE border for adults and just a small area towards the North for eggs. The semi-variograms of egg and adult production of *Ae. aegypti* are flat, presenting no detectable spatial dependence at the distance lags evaluated. The number of eggs collected per trap varied from 0 up to 700 eggs/week, while the number of adults collected varied from 0 up to 14 mosquitoes/ week, without major differences between summer and winter (Fig. 3C-F).

In Tubiacanga, the suburban area (Fig. 4A), the egg map presented a South-North gradient with a slightly higher risk at North, but without any significantly high or low RR patch; RR varied between 0.8 to 1.1. The adult map showed higher variation ($0.5 \leq RR \leq 2.9$), and with areas with significantly higher and lower than the mean RR all over the place (Fig. 4B). No spatial dependence is suggested by the variograms. The decreasing pattern observed in the adult graphic capture the extreme variation described on the map. Contrary to the urban area, summer peaks are evident in Tubiacanga time series of eggs and adults counts. The number of eggs varied from 0 to 1268 eggs/ week, while the number of adults varied between 0 and 28 mosquitoes/ week (Fig. 4C, D).

In Palmares, the suburban slum, both egg and adult maps (Fig. 5) showed varying patterns, with similar RR range: 0.5 to 2.6 (eggs) and 0.4 to 2.8 (adults). Both maps identified a high RR area at the center, although the area in the adult map is larger along the East–West axis. Both maps also show a significantly low RR at North (Fig. 5A, B). Again the variograms are flat, suggesting the absence of spatial dependence at the scale studied. In Palmares, summer peaks are evident in both egg and adult counts/week (Fig. 5E, F). The number of eggs collected per trap per week varied from 0 up to 1000 eggs, while the number of adults varied between 0 up to 7 mosquitoes/ week.

Discussion

In Brazil, dengue vector density monitoring has been based on the so-called container indexes which depends on larval surveillance (Focks 2003). Recently, larval sampling has been conducted in a relatively reduced number of premises in a strategy called Larval Index Rapid Assay (LIRAA) (Coelho et al. 2008). However, larval surveillances are time consuming and container indices have kept low or even no association with dengue risk and *Ae. aegypti* density (Teixeira et al. 2002). Therefore, alternative methods for mosquito density and dengue monitoring are required (Focks 2003, Morrison et al. 2008), and the use of mosquito traps has been among the most envisaged ones (Krockel et al. 2006, Maciel-de-Freitas et al. 2008, Regis et al. 2008). Nevertheless, the question posed is whether distinct mosquito surveillance methods depict similar indices for monitoring *Ae. aegypti* density and patterns of dengue transmission risk, even when they attract/capture the same mosquito infra-populations (ovipositing females), such as egg and adult traps.

Oviposition traps have already been widely used for monitoring *Ae. aegypti* populations (Regis et al. 2008). However, the models clearly indicate that the spatial pattern depends on the type of trap used for mosquito density monitoring. In the urban and suburban neighborhoods, two areas with high mean egg density, the egg trap detected an apparently uniform distribution of *Ae. aegypti*, without being able to discriminate risk (Figs. 3, 4). Only in Palmares, where the average egg density is significantly lower, the egg trap detected a distinct spatial pattern. Indeed, it is known that egg traps are very sensitive (Braga et al. 2000), and that their positivity tends to increase with time of exposure, saturating with a week of exposure (Lourenço-de-Oliveira et al. 2008), like we used in the present survey. Dibo et al. (2008) showed that egg positivity was not associated with dengue fever incidence, but was sensitive to identify the presence of the vector, specially during the dry seasons, when the number of mosquitoes decrease. In general they are used to detect the presence of the vector in low infestation areas, and to compare infestations among different areas (Focks 2003, Ríos-Velásquez et al. 2005, Regis et al. 2008). Our results reinforce that mosquito density may affect the capacity of

egg trap to differentiate high and low risk areas. Besides, the spatial correlation between number of eggs and adults caught with the two kinds of traps areas is small (Lourenço-de-Oliveira et al. 2008). However, in a temporal study in the same areas the egg traps showed greater sensitivity than adult traps when used for detecting the presence of mosquitoes in household and the linear regression suggested that the relationship between egg and adult trap captures differ between neighborhoods along 1.5 year collection (Honório et al. 2009).

The adult trap, on the other hand, detected a spatial variations in the RR of *Ae. aegypti* infestation in all study sites (urban, suburban and slum) (Figs. 3-5). This pattern is consistent with those reported by Getis et al. (2003), which demonstrated significant spatial structure of *Ae. aegypti* adults in Iquitos, Peru. In Palmares, where mosquito infestation is lower, both traps produced consistent patterns, with a single high relative risk area at the center (most populated area) and a single low relative risk area at north.

Egg and adult collections in the slum (Palmares) were considerably lower than in the suburban and urban neighborhoods, in spite of the favorable conditions for mosquito proliferations such as disorganization of settlements and high human density. The same was observed in a previous comparative survey between other urban districts and slum in Rio de Janeiro by the use of the traps for collecting ovipositing females (Lourenço-de-Oliveira et al. 2008). Low captures in slums may be due to competition with highly available and spatially spread larval sites. However, the results obtained may be due to sampling variations and should be considered with caution.

The analysis of the spatial pattern of *Ae. aegypti* oviposition in relation to environmental variables at the city scale is typically limited to vector distribution, habitat preferences and seasonal period (Kitron 1998), and could be modeled as a function of urbanization variables (Carbajo et al. 2006). Through the use of spatial analysis tools, professionals may describe, illustrate, explain, predict and understand why diverse areas of the city have different dengue incidences and identify locations with a higher concentration of *Ae. aegypti* (Strickman and Kittayapong 2002, Barcellos et al. 2005, Luz et al. 2008).

In conclusion, our results from egg and adult traps for *Aedes aegypti*

suggest different spatial patterns of density and suggest two points: i) egg trap is better than adult trap for evaluating *Ae. aegypti* density in areas with low infestation for detecting heterogeneous patterns; ii) adult trap showed heterogeneous patterns in all study areas, independent of infestations. Heterogeneous spatial patterns of *Ae. aegypti* density may be important not only for understanding the epidemiological dynamics of dengue but also for specially targeted control measures.

Acknowledgements

Special thanks go to Célio da Silva Pinel, Jefferson Silva, Marcelo Vicente, Alexandro Camargo, Celma Marinho, Luciene Silva, Crissie Ferraz, Marcelo Celestino, Mauro Menezes, Renato Carvalho, Denise Pio, Camila Pinto, Débora Elaine, André Luiz and the technicians of Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro for logistical support in the field and laboratory. We also thank Maria Goreti Rosa-Freitas for fruitful discussions during the elaboration of this work. To the people of Tubiacanga, Higienópolis and Palmares for their collaboration.

References

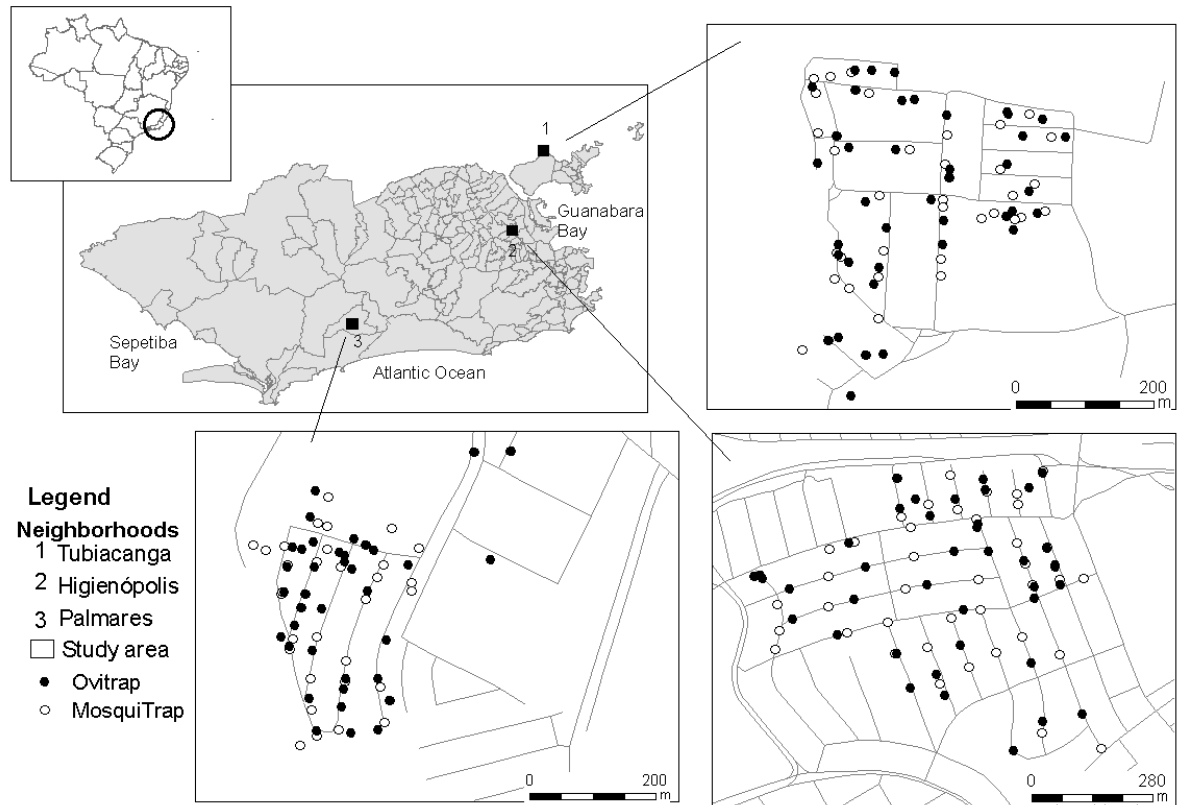
- Barcellos C, Pustai AK, Weber MA, Brito MRV 2005. Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 246-250.
- Braga IA, Gomes AC, Nelson M, Mello RCG, Bergamaschi DP, Souza JMP 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev Bras Med Trop* 33: 347-353.
- Braks MAH, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA, Lounibos LP 2003. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. *J Med Entomol* 40: 785-794.
- Carbajo AE, Curto SI, Schweigmann J 2006. Spatial distribution pattern of oviposition in the mosquito *Aedes aegypti* in relation to urbanization in Buenos Aires: southern fringe bionomics of an introduced vector. *Med Vet Entomol* 20: 209-218.
- Chadee DD 2009. Oviposition strategies adopted by gravid *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) as detected by ovitraps in Trinidad, West Indies (2002–2006). *Acta Trop* (in press).
- Clements NA 1992. *The Biology of Mosquitoes*. Chapman & Hall, London.
- Coelho GE, Burattini MN, Teixeira MG, Coutinho FAB, Massad E 2008. Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 535-539.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro. 225 pp.
- Cressie N 1993. *Statistics for Spatial Data*. 1st edn. John Wiley & Sons, New York.
- Eisen L, Lozano-Fuentes S 2009. Use of mapping and spatial and space-time modeling approaches in operational control of *Aedes aegypti* and dengue. *Plos Negl Trop Dis* 394: e411.doi: 10.1371/journal.pntd.0000411.
- Focks DA 2003. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. In *Tropical disease research*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Getis A, Morrison AC, Gray K, Scott TW 2003. Characteristics of the spatial patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti* in Iquitos, Peru. *Am J Trop*

- Med Hyg* 69: 494-505.
- Guzman MG, Kouri G, Bravo J, Soler M, Vazquez S, Morier L 1990. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: A retrospective seroepidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg* 42: 179-184.
- Harrington LC, Scott TW, Lerdthusnee K, Coleman RC, Costero A, Clark GG, Jones JJ, Kitthawee S, Kittayapong P, Sithiprasasna, Edman JD. 2005. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. *Am J Trop Med Hyg* 72: 209-220.
- Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R, 2009b. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J Med Entomol* (in press).
- Honório NA, Silva WC, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R 2003. 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* 98: 191-198.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE 2000. Censo demográfico 2000 agregados por setores censitários dos resultados do universo, 11-417E. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, Brasil.
- Kitron U 1998. Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: tools for spatial analysis. *J Med Entomol* 35: 435-445.
- Lima-Camara T, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em distintos ambientes no Rio de Janeiro. *Cad Saúde Públ* 22: 2079-2084.
- Lourenço-de-Oliveira R 2008. Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008 – Editorial. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 627-628.
- Lourenço-de-Oliveira R, Castro MG, Braks MA, Lounibos LP 2004a. The invasion of urban Forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J Vector Ecol* 29: 94-100.
- Lourenço-de-Oliveira R, Lima JB, Peres R, Alves FC, Eiras AE, Codeço CT 2008. Comparison of different uses of adult traps and ovitraps for assessing dengue vector infestation in endemic areas. *J Am Mosq Control Assoc* 24: 387-392.

- Luz PM, Codeço CT, Massad E, Struchiner CJ 2003. Uncertainties regarding dengue modelling in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 871-878.
- Luz PM, Mendes BVM, Codeço CT, Struchiner CJ, Galvani AP 2008. Time series analysis of dengue incidence in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 79: 933-939.
- Maciel-de-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R 2007a. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 76: 659-665.
- Maciel-de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, Lourenço-de-Oliveira R 2007b. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 489-496.
- Maciel-de-Freitas R, Peres RC, 2008. 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* 103: 602-605.
- Maciel-de-Freitas R, Souza-Santos R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R 2009. Non-isotropic *Aedes aegypti* dispersal: higher mosquito collection in sites where human and containers are more abundant. *Med. Vet. Entomol* (in press).
- MS - Ministério da Saúde 2008. Serviço de Vigilância em Saúde-SVS. Available from: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area>.
- Nogueira RMR, Araújo JMG, Schatzmayr HG 2007. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006 2007. *Rev Panam Salud Publica* 22: 358-363.
- Nogueira RMR, Miagostovich MP, Filippis AMB, Pereira MAS, Schatzmayr HG 2001. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 925-926.
- Nogueira RMR, Miagostovich MP, Lampe E, Schatzmayr HG 1990. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 253.
- R Development Core Team 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0 (<http://www.R-project.org>).
- Regis L, Monteiro AM, Melo-Santos MAV, Furtado AF, Acioli RV, Santos GM,

- Nakazawa M, Carvalho MS, Souza WV 2008. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 50-59.
- Ríos- Velásquez CM, Codeço CT, Honório NA, Sabroza PC, Moresco M, Cunha ICL, Levino A, Toledo LM, Luz SB 2007. Distributions of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 617-623.
- Schatzmayr HG, Nogueira RMR, Travassos Da Rosa APA 1986. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 245-246.
- Smith DL, Dushoff J, McKenzie FE 2004. The risk of a mosquito-borne infection in a heterogeneous environment. *Plos Biology* 2(11):e368.
- Strickman D, Kittayapong P 2002. Dengue and its vectors in Thailand: introduction to the study and seasonal distribution of *Aedes* larvae. *Am J Trop Med Hyg* 67:247–259.
- Tauil PL 2001. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad Saúde Públ* 17: 99-102.
- Tauil PL 2002. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad Saúde Públ* 18: 867-868.
- Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A 1995. The premise condition index: a tool for streamlining survey of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 53: 591-594.
- Wen TH, Lin NH, Lin CH, King CC, Su MD 2006. Spatial mapping of temporal risk characteristics to improve environmental health risk identification: a case study of a dengue epidemic in Taiwan. *Sci Tot Environ* 367: 631-640.

Figures and Tables



Digital map: Geoprocessing Laboratory - ICICT/ Fiocruz

Figure 1. Map of Rio de Janeiro showing the study areas (Higienópolis, Tubiacanga and Palmares) and the geographical location of traps (ovitrap and MosquiTRAPs).

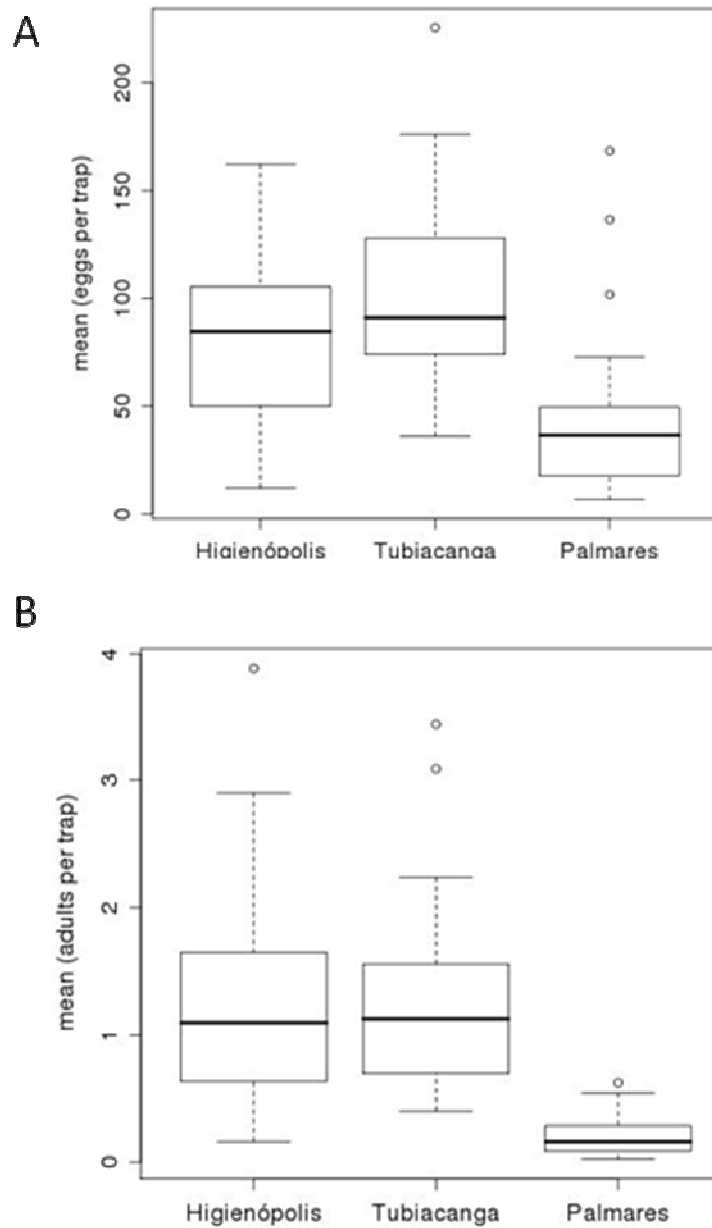


Figure 2. Boxplot of *Ae. aegypti* mean eggs (A) and mean adults (B) per trap collected in egg and adult traps, respectively, in Higienópolis (urban), Tubiacanga (suburban) and Palmares (suburban slum), Rio de Janeiro, Brazil, from September 2006 to March 2008.

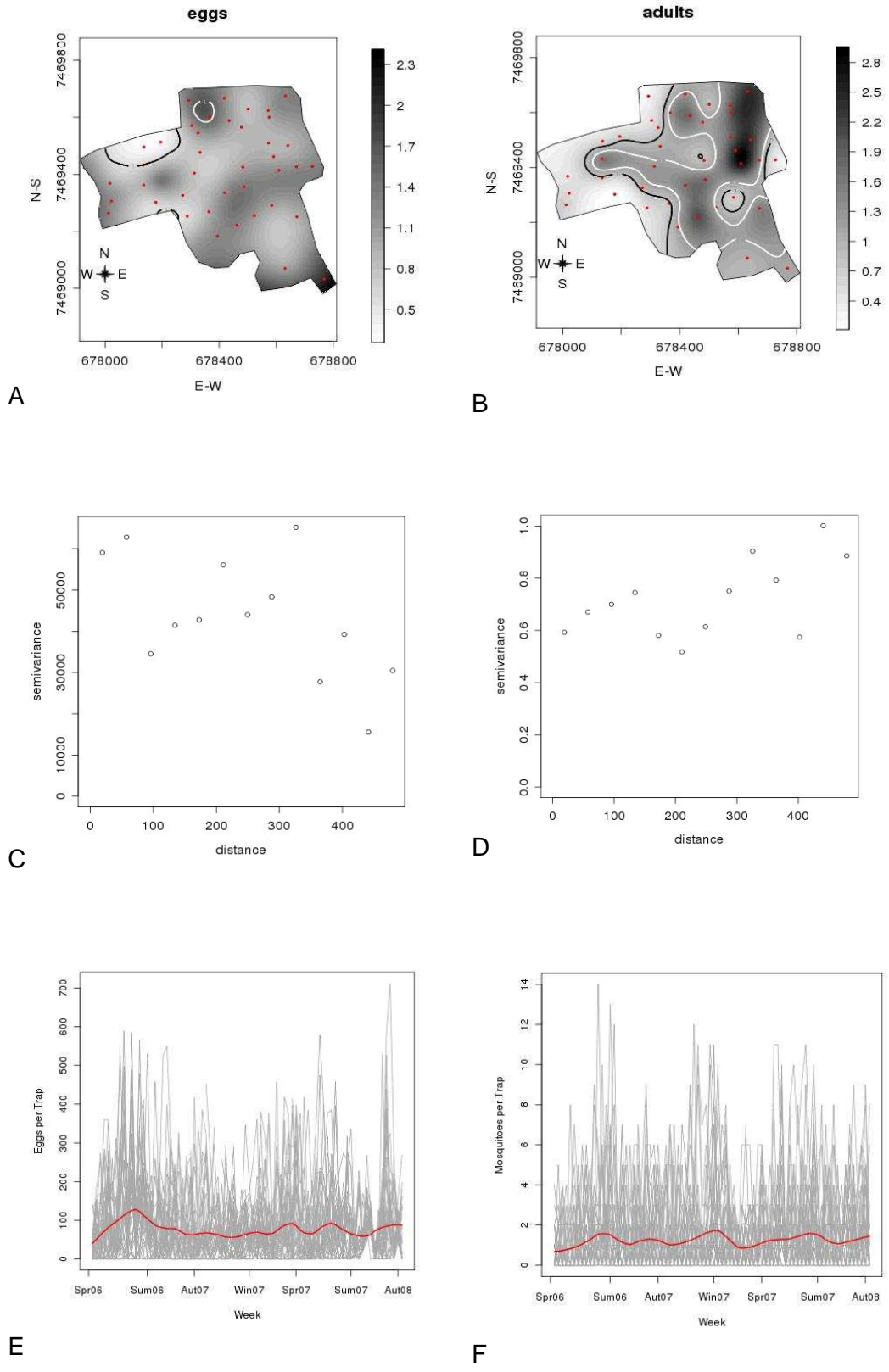


Figure 3. Spatial map of mean eggs (A), mean adults (B), eggs variograms (C), adults variograms (D), eggs counts per trap (E) and adults counts per trap (F) of *Ae. aegypti* in Higienópolis (urban) neighborhood in Rio de Janeiro, Brazil, from September 2006 to March 2008.

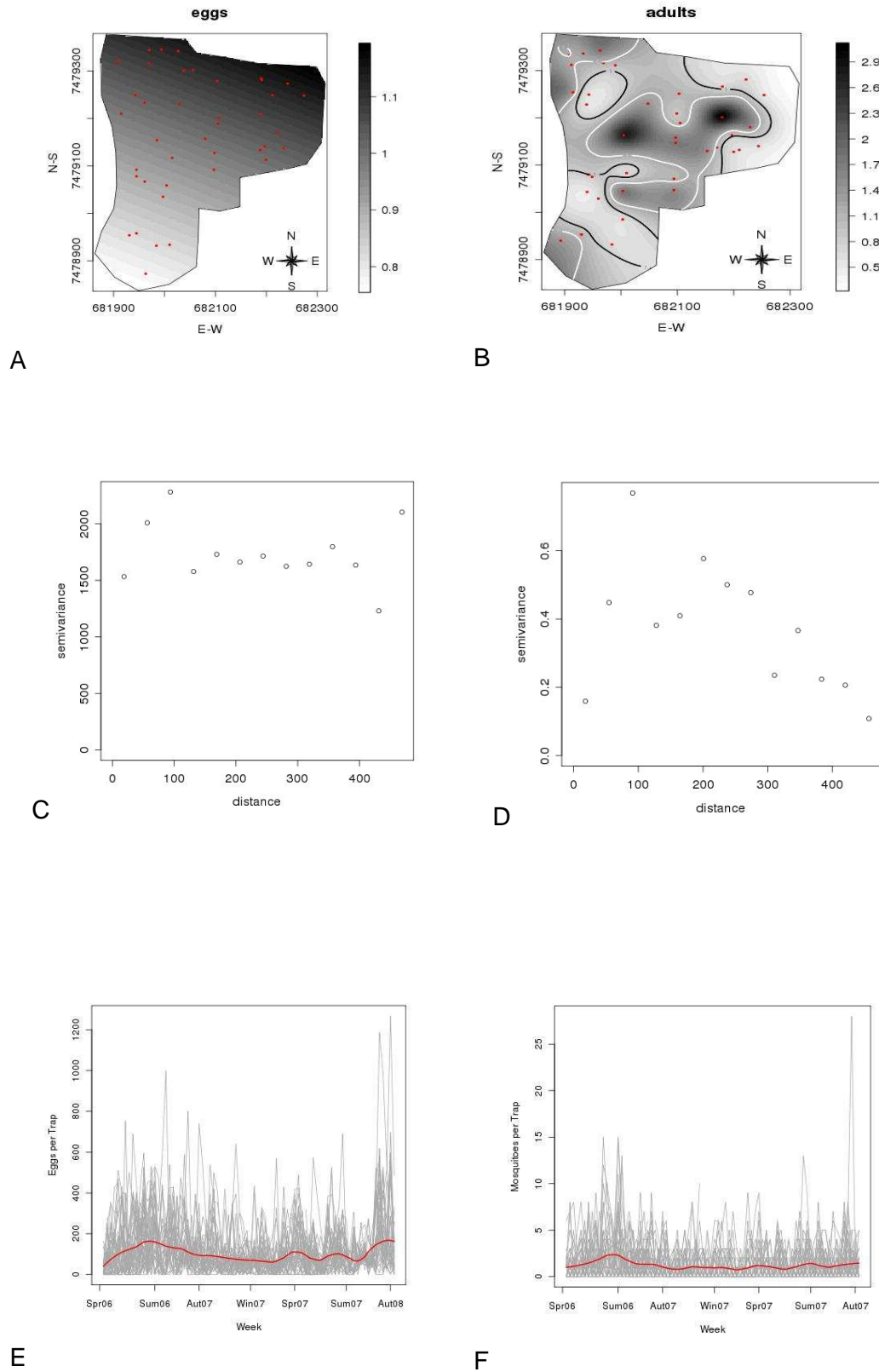
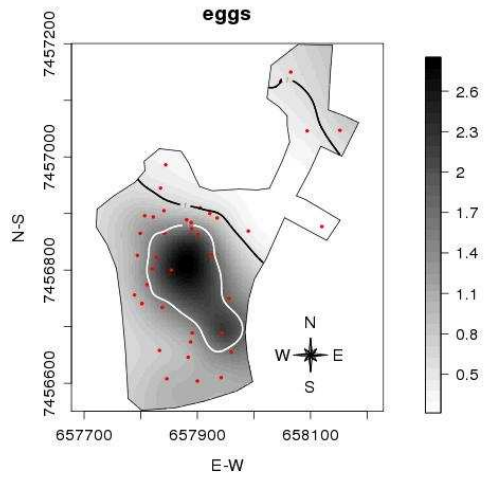
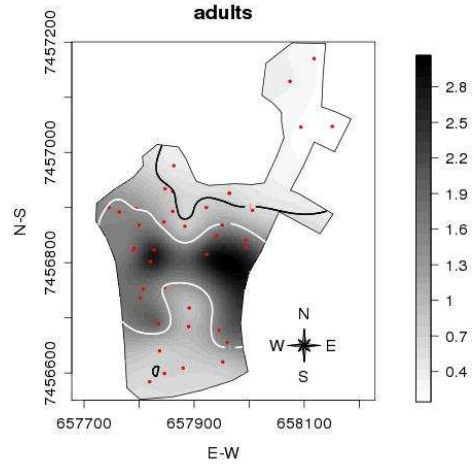


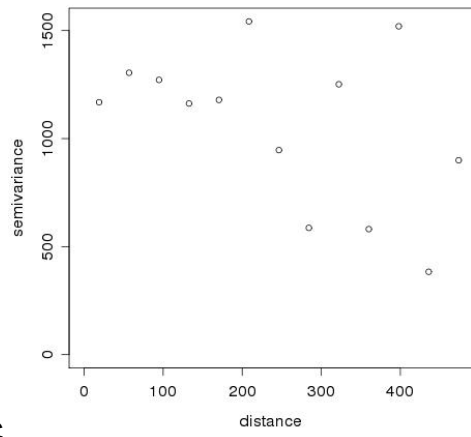
Figure 4. Spatial map of mean eggs (A), mean adults (B), eggs variograms (C), adults variograms (D), eggs counts per trap (E) and adults counts per trap (F) of *Ae. aegypti* in Tubiacanga (suburban) neighborhood in Rio de Janeiro, Brazil, from September 2006 to March 2008.



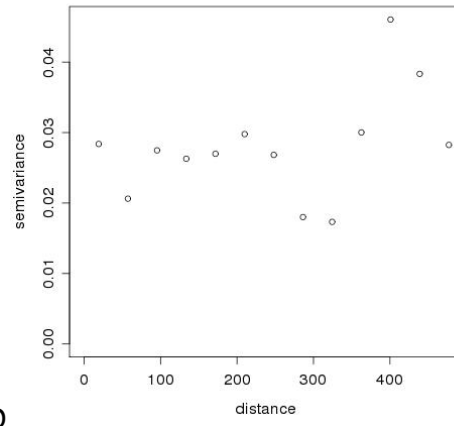
A



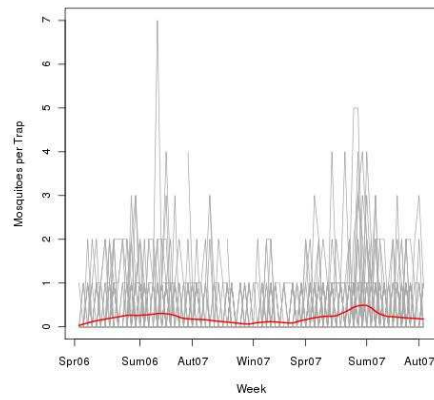
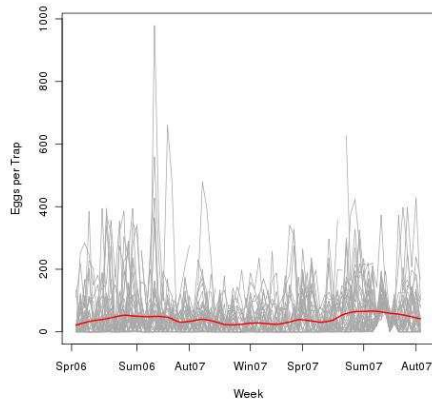
B



C



D



E

F

Figure 5. Spatial map of mean eggs (A), mean adults (B), eggs variograms (C), adults variograms (D), eggs counts per trap (F) and adults counts per trap (F) of *Ae. aegypti* in Palmares (suburban slum) neighborhood in Rio de Janeiro, Brazil, from September 2006 to March 2008.

Table

P-value of the spatial smooth term and goodness of fit of the spatial models produced with egg trap and adult trap data, in three study areas in Rio de Janeiro, Brazil, from September 2006 to March 2008.

	Eggs		Adults	
	p-value (s)	Deviance explained	p-value (s)	Deviance explained
Higienópolis (urban)	0.05	70.9%	<0.001	77.0%
Tubiacanga (suburban)	0.27	6.48%	<0.001	90.2%
Palmares (suburban slum)	0.003	72.8%	<0.001	68.2%

4. DISCUSSÃO

Os padrões de transmissão dos vírus dengue e, conseqüentemente, da doença por eles causada, são determinados pela combinação de fatores que envolvem o hospedeiro humano, o vírus, o vetor e o ambiente (Kuno 1995, Mammen Jr et al. 2008). Sabe-se que, por ser uma doença que envolve múltiplos vírus e síndromes, apresenta uma complexa imunologia (com imunidade cruzada e o fenômeno denominado *antibody enhancement*) que depende da história específica de cada população. *Aedes aegypti* exhibe comportamento oportunístico e muito adaptativo às condições antrópicas e inerentes dos ambientes. Porém, faz-se necessária a compreensão, na escala da cidade e ainda mais localmente, ao nível dos bairros, por exemplo, dos fatores que interferem na dinâmica temporal e espacial do dengue e de seu vetor. Entretanto, a influência desses fatores na dinâmica de transmissão do dengue em áreas urbanas é ainda pouco entendida, principalmente devido ao caráter geralmente pontual dos estudos, que não levam em consideração a variação no tempo e no espaço. Ao mesmo tempo, é igualmente sabido que o espaço e o tempo são duas importantes dimensões que auxiliam a descrever a dinâmica da epidemia e o risco de disseminação (Wen et al. 2006).

Um dado importante para o controle é o conhecimento das flutuações da densidade populacional dos vetores antes e durante epidemias. Ao nível do vetor, existe ampla discussão quanto à eficiência e à eficácia da vigilância entomológica do *Ae. aegypti* exercida no Brasil e em outros países endêmicos, no bojo da qual estão a busca de processos e metodologia que visem à detecção e à determinação de sua distribuição em áreas urbanas de forma ágil. Aí estão incluídas as armadilhas que se propõem como mais eficientes que os métodos convencionais para o monitoramento, assim como a definição de índices de infestação confiáveis e que possam gerar alertas de risco, que permitam o entendimento das características biológicas de populações do vetor, dentre outras abordagens (Focks 2003, Braga & Valle 2007). Os resultados desta tese contribuem para fomentar estas discussões e adicionar informações sobre a dinâmica do dengue, na medida em que comparam diferentes índices e métodos quanto à sua sensibilidade na detecção de

padrões temporais e espaciais de *Ae. aegypti*, em áreas de diferentes perfis urbanísticos no Rio de Janeiro.

A análise temporal da distribuição de *Ae. aegypti* que realizamos (Honório et al. 2009a), empregando duas metodologias de coleta (ovitrampas e MosquiTRAPs) em áreas urbanas do Rio de Janeiro, apontou para o efeito do clima na dinâmica de ovos e adultos do vetor. No caso das armadilhas de ovos, os índices qualitativos apresentaram alta proporção de positividade nas áreas urbanas (Higienópolis) e suburbana (Tubiacanga), enquanto que na área de favela, localizada nos limites de expansão da Zona Oeste (Palmares), a positividade foi baixa, em comparação com as outras duas áreas. É possível que tenha havido algum efeito de competição por sítios de oviposição e mesmo pouca atratividade para fêmeas de *Ae. aegypti* em vista da alta infestação por *Cx. quinquefasciatus* na área (Irving-Bell et al. 1987, Honório et al. 2009a, Chadee 2009). Além disso, a série temporal da positividade das ovitrampas apontou declínio no inverno e aumento no verão, com todas as séries temporais apresentando oscilações e altos picos de positividade no segundo verão (2007-2008), o que confirma a captação do padrão sazonal pelas coletas com ovitrampa. Estes dados corroboram outros estudos realizados em diferentes localidades do mundo que têm encontrado evidências do padrão sazonal da densidade das populações de *Ae. aegypti* com base em índices qualitativos ou quantitativos (Moore et al. 1978, Mogi et al. 1988, Micieli & Campos 2003, Vezzani et al. 2004, Fachinelli et al. 2007).

Diferentemente do índice qualitativo obtido pelas ovitrampas, o índice quantitativo conseguiu discriminar entre as duas áreas de alta infestação – urbana e suburbana. De fato, nossos resultados corroboram com estudos anteriores, que mostraram que as ovitrampas são armadilhas muito sensíveis e capazes de detectar a presença ou ausência de *Ae. aegypti* em áreas de baixa infestação, discriminar e comparar a infestação entre diferentes áreas e períodos do ano (Braga et al. 2000, Focks 2003, Morato et al. 2005, Ríos-Velásquez et al. 2007, Honório et al. 2009a). Lourenço-de-Oliveira et al. (2008a) comprovaram a sensibilidade da ovitrampa a partir dos índices qualitativos, bem como a tendência da saturação da armadilha através do aumento da exposição no ambiente peridomiciliar. Regis et al. (2008) detectaram alta positividade para ovos de *Ae. aegypti* num estudo utilizando

ovitrampas modificadas em Recife, Pernambuco. Segundo Morato et al. (2005) o índice de positividade da ovitrampa e o índice de densidade de ovos permitem avaliar melhor a infestação de uma cidade com custo operacional reduzido e com maior facilidade de padronização do que os índices tradicionais, tais como o índice de infestação predial e índice de Breteau.

Já as armadilhas de adultos (MosquiTRAPs), apresentaram índices de positividade inferiores àqueles das ovitrampas. As áreas urbana e suburbana apresentaram índices de positividade similares e as evidências de sazonalidade foram menos perceptíveis com o uso da MosquiTrap. Quanto aos índices quantitativos, referentes à densidade de *Ae. aegypti* adultos, a MosquiTRAP não discriminou entre as áreas urbana e suburbana. De fato, nossos dados apontam para a maior sensibilidade das ovitrampas do que das MosquiTRAPs para detectar a presença de *Ae. aegypti* em áreas de baixa infestação e discriminar áreas com alta infestação. O limiar de detecção da MosquiTRAP correspondeu a cerca de 25-52 ovos por ovitrampa. Abaixo deste limiar, a armadilha de adultos não detectou a presença de *Ae. aegypti*. No Brasil, estudos anteriores que comparam a ovitrampa com a MosquiTRAP, numa série longitudinal mais curta, demonstraram que a sensibilidade da ovitrampa foi superior à da MosquiTRAP (Fávaro et al. 2006, Gama et al. 2007, Lourenço-de-Oliveira et al. 2008a).

O comportamento epidêmico dos vírus dengue aparentemente correlaciona estreitamente com flutuações de temperatura e chuva (Halstead 2008). Nesse contexto, o clima é um importante componente da distribuição espacial e temporal de artrópodes vetores transmissores de doenças, atuando ambos para limitar sua expansão e influenciar a dinâmica de transmissão (Rosa-Freitas et al. 2006). Estudos anteriores das inter-relações entre tempo, clima e dengue enfocaram, primeiramente, na procura de informações de como os mosquitos *Aedes* e os *Flavivirus* dengue são impactados pelos elementos meteorológicos, especialmente a temperatura (Reiter 1988, Schreiber 2001). De fato, o aumento da temperatura ambiente diminui o período de incubação extrínseco do vírus (Watts et al. 1987), pode aumentar tanto a taxa de picada (Mcdonald 1956) quanto a sobrevivência do vetor (Tun-Lin et al. 2000) que, conseqüentemente, ampliam a capacidade vetorial das populações envolvidas e o risco de transmissão (Reiter 2001). Em nossos inquéritos (Honório et al

2009a), analisamos o efeito da temperatura e da chuva em diferentes períodos anteriores medidos por semanas (defasagens) sobre a densidade de ovos e adultos de *Ae. aegypti* em três bairros cariocas. Quanto à temperatura, nossos dados demonstraram um efeito positivo sobre a densidade do mosquito no período de retardo de uma semana em todas as áreas de estudo, independentemente da armadilha empregada para a coleta (Honório et al. 2009a). Adicionalmente, nossos resultados sugerem que a temperatura média semanal na faixa de 22-24°C é extremamente associada com elevada abundância de *Ae. aegypti* e, conseqüentemente com o aumento do risco da transmissão do dengue, enquanto que temperaturas médias abaixo deste limiar contribuem para o declínio das populações de *Ae. aegypti*. Coincidentemente, estudo sobre o desenvolvimento embrionário deste mosquito revelou que a taxa de eclosão dos ovos chega a 90% quando a temperatura está acima de 22°C (entre 22 e 28°C), caindo rapidamente abaixo deste valor ou muito acima dele (31°C) (Farnesi et al. 2009). Peryassu, em observações no Rio de Janeiro, já havia afirmado que temperaturas abaixo de 20°C eram prejudiciais tanto para o desenvolvimento quanto para a reprodução de *Ae. aegypti* (Lourenço-de-Oliveira 2008b). Além disso, estudos mais recentes demonstraram que a taxa de sobrevivência máxima para adultos de *Ae. aegypti* está na faixa de 20-30°C (Rueda et al. 1990, Tun-Lin et al. 2000), porém temperaturas acima de 30°C podem ter um impacto mínimo e/ou negativo sobre as populações de *Ae. aegypti* (Schreiber 2001, Beserra et al. 2006).

O efeito da chuva sobre a dinâmica de mosquitos tem sido amplamente discutido na literatura (Bates 1945, Ho et al. 1971, Moore et al. 1978, Lounibos 1981, Watts et al. 1987, Honório & Lourenço-de-Oliveira 2001, Lourenço-de-Oliveira et al. 2004a, Vezzani et al. 2004, Dibo et al. 2008). A chuva deve ser importante em áreas onde os criadouros de mosquitos são produzidos principalmente pela precipitação pluviométrica. O efeito positivo da chuva sobre a densidade populacional de *Ae. aegypti* foi observado nos períodos mais longos em semanas após as chuvas (defasagens 3-5) em todas as áreas de estudo e um efeito negativo quando considerado o período de apenas uma semana (defasagem 1, chuvas recentes) apenas em Tubiacanga. O efeito positivo da chuva a longo prazo (defasagens 3-5) pode ser atribuído ao impacto da precipitação pluviométrica sobre a dinâmica da população de mosquitos,

ampliando o número de criadouros para a oviposição, estimulando a eclosão de ovos e culminando com a elevação da densidade de *Ae. aegypti*. Em Tubiacanga e Palmares, o ambiente peridomiciliar é amplo e geralmente é observada grande disponibilidade de criadouros a céu aberto. Também, nessas áreas, existem muitos reservatórios permanentes e centros de reciclagem (pontos estratégicos) que acumulam materiais descartados sem a devida vedação, o que favorece a proliferação e manutenção do *Ae. aegypti* em locais influenciados pelas chuvas (Maciel-de-Freitas et al. 2007b, Reis et al. 2009, submetido). Por outro lado, o efeito negativo da chuva ocorrida no período de uma semana antes (defasagem 1) detectado na área suburbana, pode ter influência na redução da eficiência das armadilhas e no comportamento do *Ae. aegypti*, uma vez que amplia a quantidade de criadouros e propicia competição com outros sítios locais de oviposição alternativos, dentre outras possibilidades.

A transmissão do dengue e a distribuição e densidade populacional do *Ae. aegypti* são heterogêneos na cidade do Rio de Janeiro (Luz et al. 2003). A distribuição espacial das populações do *Ae. aegypti* é determinada pela ação combinada de fatores ambientais e comportamentais do vetor. Dentre os fatores ambientais, podemos citar a alta densidade populacional humana, a disponibilidade de criadouros para as formas imaturas do *Ae. aegypti*, a precariedade nos serviços de saneamento, suprimento de água e coleta de lixo nas áreas urbanas (Tauil 2001). Segundo Sabroza et al. (1992), a impossibilidade de acesso de agentes do serviço público a determinadas áreas da cidade impede a cobertura adequada da região infestada visando à identificação e destruição dos focos das formas imaturas de *Aedes*. Além disso, a distribuição intermitente de água no sistema de abastecimento público em certas áreas, ou a total inexistência deste, leva a população a manter reservatórios improvisados sobre as lajes das casas ou nos quintais, o que proporciona condições ideais à reprodução do vetor (Sabroza et al. 1992, Barcellos et al. 1998, Souza-Santos 1999). Já os fatores comportamentais estão relacionados ao elevado grau de antropofilia e endofilia do *Ae. aegypti*, sua capacidade de dispersão (Honório et al. 2003, Maciel-de-Freitas & Lourenço-de-Oliveira 2009) e a busca de sítios de oviposição que possuam preferencialmente formas imaturas da mesma espécie (Lima-Camara et al.

2006, Chadee 2009), dentre outros.

No Brasil, a vigilância e o monitoramento de *Ae. aegypti* é feita a partir dos índices tradicionais, através do monitoramento das coletas de formas imaturas, essencialmente as larvárias, em unidades domiciliares e pontos estratégicos. Tais atividades são geralmente realizadas entre quatro e seis vezes ao ano (Braga et al. 2000). Contudo, esse método é reconhecidamente pouco sensível, laborioso e não reflete a população de mosquitos adultos na área. Além disso, os índices gerados raramente podem ser associados com o risco de transmissão do dengue (Teixeira et al. 2002, Focks 2003). Sendo assim, o uso de armadilhas tem sido muito discutido para posterior validação como método útil na vigilância vetorial (Braga et al. 2000, Focks 2003, Ritchie et al. 2003, Morato et al. 2005, Maciel-de-Freitas et al. 2008a). Entretanto uma pergunta surge: distintas armadilhas de mosquitos podem apresentar índices comparáveis de acompanhamento da densidade de *Ae. aegypti* e padrões de risco de transmissão do dengue, mesmo quando elas se baseiam em estágios diferentes do vetor?

Já vimos que, no monitoramento temporal, ovitrampas e MosquiTRAPs mostram resultados coerentes, identificando padrões sazonais similares e discriminam entre áreas de baixa e alta infestação. Entretanto, as ovitrampas discriminam melhor áreas com alta infestação e em alguns casos são a única a detectar a presença do vetor. Além do padrão temporal, é de interesse avaliar a distribuição espacial do vetor dentro das áreas, visando a identificação de áreas de alta e baixa infestação relativas à média de cada bairro. Como há muita variabilidade nas coletas das armadilhas de uma semana para outra (dados não publicados), uma forma de identificar áreas consistentemente de alta infestação é através da agregação dos dados semanais para compor um índice que é a soma de todos os ovos ou adultos coletados por cada armadilha durante todas as semanas do estudo. Este índice é importante para investigação de focos duradouros.

Nossos resultados com relação à análise do padrão espacial dos índices agregados de ovos ou adultos, ou seja, o total de ovos ou adultos capturados por cada armadilha durante todo o período do estudo (Honório et al. 2009, em preparação) apontaram para resultados contrastantes entre as duas armadilhas. Com base na ovitrampa, verificamos que as áreas urbana e

suburbana, que apresentaram alta densidade média de ovos, mostraram um padrão de distribuição homogêneo, sem captar áreas importantes de risco relativo alto ou baixo (quantidade de ovos significativamente maior ou menor do que a média da área). Em Palmares, por outro lado, que apresentou baixa densidade média de ovos de *Ae. aegypti* (Honório et al. 2009a), o uso de ovitrampa captou um padrão espacial heterogêneo, distinguindo áreas de proteção e risco relativo de quantidade de ovos, dentro da comunidade. Um estudo realizado em Manaus, Amazonas, também encontrou distribuição uniforme da produção de ovos obtidos pela ovitrampa (Rios-Velásquez et al. 2005).

Por sua vez, a MosquiTrap detectou um padrão espacial heterogêneo no total de *Ae. aegypti* capturados pelas armadilhas, em todas as áreas de estudo, apontando em cada localidade, para a presença de áreas de significativamente baixo e alto risco relativo em relação à média de capturas de adultos de *Ae. aegypti* de cada área (Honório et al. 2009, em preparação). Getis et al. (2003) determinaram o padrão espacial de *Ae. aegypti* (larvas, pupas e adultos) e de criadouros positivos, em Iquitos, Peru. Os autores verificaram que os adultos, capturados por aspiradores movidos à bateria, formaram uma aglomeração (*cluster*), que sugeriria uma estrutura espacial significativa quando comparados aos dados das pupas e criadouros positivos. Este estudo, porém, foi realizado em uma escala temporal menor (2 meses). Os nossos resultados, que agregam 82 semanas, indicam que padrões espaciais significantes também podem ocorrer numa janela temporal maior.

Em suma, nossos resultados indicam que a ovitrampa não identificou focos duradouros de produção de *Ae. aegypti* nas áreas urbana e suburbana, ao longo de 82 semanas de observação, enquanto que a MosquiTRAP detectou áreas de alto e baixo risco relativo. Essa diferença entre as armadilhas pode ter ocorrido porque o número de ovos colocados por fêmea é variável e depende das condições locais e ao agregar os dados da ovitrampa por 82 semanas, as pequenas variações positivas e negativas podem se cancelar gerando um índice com alta variabilidade (ruído), com pouco poder de discriminação. Enquanto que as MosquiTRAPs, que coletam diretamente os adultos, não sofrem do mesmo efeito. Futuras investigações serão feitas para verificar se este fenômeno acontece com os dados desagregados tanto de

ovitrampas como de MosquiTRAPs. É importante identificar as áreas que apresentam alta densidade do vetor, ampliando o entendimento epidemiológico desta arbovirose e identificando áreas consideradas críticas para que as ações de controle sejam feitas com êxito.

Discute-se na literatura a relevância de pontos estratégicos para a manutenção de populações do *Ae. aegypti*. Neste trabalho, detectamos e mapeamos locais considerados estratégicos para o controle em cada localidade de estudo. Estes são as borracharias, com pneus expostos ao tempo; os depósitos de ferro velho a céu aberto; os terrenos baldios e não cuidados, com múltiplos recipientes, potenciais criadouros, ou mesmo já retendo água; centros de reciclagem que acumulam grande quantidade de materiais descartáveis em local descoberto, dentre outros. Assim, identificamos uma diversidade de pontos estratégicos existentes nos três bairros, porém com predominância dos centros de reciclagem em Palmares, das oficinas de barco em Tubiacanga e das oficinas mecânicas em Higienópolis. Em Tubiacanga, barcos deixados a céu aberto já haviam sido apontados como um dos criadouros mais produtivos para *Ae. aegypti* (Maciel-de-Freitas et al. 2007b, 2008b) e foi no local de reparo de barcos desta localidade em que ovos de *Ae. aegypti* foram por nós coletados (Reis et al. 2009, submetido), representando, portanto, um local que necessita de ação focal de controle e educação. Houve heterogeneidade na quantidade de ovos e de adultos coletados em cada categoria de ponto estratégico. Isto é, nem todos os pontos estratégicos foram considerados produtivos. Mas, em Palmares, dois dos locais de reciclagem foram respectivamente os mais produtivos para coletas de ovo e adultos. Os dados evidenciaram associação entre a infestação de *Ae. aegypti* nos domicílios próximos e determinados pontos estratégicos monitorados em cada área de estudo (Reis et al. 2009, submetido). Diversos estudos em todo o mundo têm buscado identificar casas-chave, criadouros mais produtivos e locais considerados estratégicos com condições de gerar grande quantidade de *Ae. aegypti* (Focks et al. 1981, Tun-Lin et al. 1995, Maciel-de-Freitas et al. 2007a, Maciel-de-Freitas et al. 2008b). Um estudo realizado em Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, encontrou pontos estratégicos altamente infestados por *Ae. aegypti* (Lagrotta et al. 2008). Já em São José do Rio Preto, São Paulo, larvas de *Ae. aegypti* foram detectadas principalmente em oficinas mecânicas, e

borracharias (Chiaravalloti-Neto 1997). Com efeito, muitos pontos estratégicos são distribuídos na cidade do Rio de Janeiro e merecem muita atenção da vigilância entomológica, uma vez que são considerados locais propícios para a proliferação e manutenção do *Ae. aegypti*, mas principalmente das ações de educação em saúde. Independente da utilização ou não de inseticidas, ações de controle devem ser feitas combinando redução destes pontos estratégicos, quando possível, com a educação visando a redução de criadouros potenciais, nos casos cuja eliminação dos pontos é impraticável.

Nos estudos com dengue, dados sobre os vetores são importantes por conta do contato homem-vetor que se configura como o principal fator de risco para esta arbovirose. Entretanto, outros fatores tais como a densidade humana, os padrões de mobilidade e imunidade das populações humanas, a detecção dos sorotipos circulantes, podem gerar informações adicionais nas análises de transmissão do dengue (Teixeira et al. 1999, Wen et al. 2006). Sabe-se que o dengue apresenta-se nos grandes centros urbanos, como o Rio de Janeiro, sob a forma epidêmica de grande magnitude, e sob a forma hiperendêmica nos lugares onde um ou mais sorotipos circularam anteriormente (Teixeira et al. 1999). Durante os anos de 2007-2008, o estado do Rio de Janeiro, vivenciou uma alarmante epidemia com milhares de casos notificados e concentração de casos graves em crianças com altas taxas de internação e letalidade (Teixeira et al. 2008). Por isso, há certa urgência para o entendimento do dengue a partir de estudos que integrem a epidemiologia e a entomologia (Cunha et al. 1997, Teixeira et al. 2002a, Siqueira et al. 2004, Morrison et al. 2008). Em nossos inquéritos sorológicos (Honório et al. 2009b), conseguimos detectar infecções recentes de dengue em cada área de estudo, bem como evidenciar a co-circulação dos sorotipos DENV-2 e DENV-3 em Tubiacanga e em Palmares, com predominância em indivíduos abaixo de 15 anos de idade. Segundo Teixeira et al. (2008), a mudança da distribuição da idade nesta epidemia é única e recente na história do dengue no Brasil, caráter já consolidado na Ásia (Halstead 2008).

Nossos dados não evidenciaram correlação entre a localização dos domicílios das infecções recentes de dengue e a distribuição espacial da abundância de *Ae. aegypti* adultos nas áreas de estudo (Honório et al. 2009b). Quanto à soroprevalência para o dengue nas áreas de estudo, encontramos

maior heterogeneidade espacial nas áreas mais isoladas -suburbana e favela-, com aumento do risco de soroprevalência em áreas com intensa atividade comercial e maior movimentação humana. Esse resultado sugere que os humanos devem ser responsáveis pela introdução dos vírus dengue em bairros pequenos do Rio de Janeiro e que esta introdução parece ser focal dentro dos bairros (Honório et al. 2009b). A manutenção de baixa densidade populacional do vetor num dado bairro como um todo é obviamente importante. Mas, ela deve ser ainda mais intensa e perene nestes pontos de grande probabilidade de introdução de sorotipos virais. Assim, a compreensão da dinâmica espacial e temporal do dengue e do *Ae. aegypti* em áreas urbanas propicia melhor entendimento e oferece subsídios para a implementação de estratégias mais eficazes de controle do vetor.

5. CONCLUSÕES

- Índices qualitativos (positividade) e quantitativos (densidade) medidos por armadilhas de ovos (ovitrampas) e de adultos (MosquiTRAP) detectaram padrão sazonal da dinâmica populacional de *Ae. aegypti* com altos picos no verão;
- A ovitrampa apresentou maior sensibilidade que a MosquiTRAP para detectar a presença de *Ae. aegypti* e discriminar entre áreas de alta infestação, utilizando os índices de densidade;
- O limiar de detecção da MosquiTRAP variou entre as áreas, correspondendo a uma média de densidade ovos de 25-52 ovos/ovitrampa. Abaixo deste limiar, as armadilhas de adulto não positivaram;
- Ovitrapas e MosquiTRAPs revelaram padrões espaciais diferentes ao analisar o total de capturas por armadilha, por todo o período de estudo. A densidade média de *Ae. aegypti* afeta a capacidade da ovitrampa de distinguir locais de baixo e alto risco relativo de quantidade de ovos, dentro de cada área;
- As MosquiTRAPs, por outro lado, detectaram locais de alto e baixo risco relativo, independentemente da densidade média do vetor;
- A quantidade de chuva entre 3 e 5 semanas antes da leitura das armadilhas exerceu um efeito positivo sobre a densidade de ovos e de adultos de *Ae. aegypti* nas três áreas, o que deve estar relacionado à produção de novos criadouros ali existentes;
- Constatamos influência da temperatura e da chuva na semana anterior à coleta sobre a densidade de ovos e de adultos capturados nas áreas urbana, suburbana e de favela;
- A temperatura média semanal na faixa de 22-24°C mostrou-se associada com alta abundância de *Ae. aegypti* e, conseqüentemente, com o aumento do risco de transmissão de dengue, enquanto que abaixo de 22-24°C o efeito é linear e negativo, contribuindo para o declínio da população de *Ae. aegypti*;
- Pontos estratégicos apresentaram heterogeneidade na produtividade de ovos e adultos de *Ae. aegypti*, o que sugere necessidade de seu permanente mapeamento e monitoramento;
- A distribuição espacial de ovos e adultos de *Ae. aegypti* coletados nos domicílios sugere a existência de um padrão consistente no verão e inverno

nas áreas de estudo. Ademais, evidenciamos a associação entre a infestação de *Ae. aegypti* nos domicílios e em determinados pontos estratégicos nas áreas de estudo;

- Na epidemia de dengue ocorrida no Rio de Janeiro, durante o período compreendido entre os anos de 2007 e 2008, constatamos a circulação dos sorotipos DENV-2 e DENV-3, com predominância de infecções recentes em indivíduos abaixo de 15 anos de idade;

- Não observamos correlação espacial entre as infecções recentes de dengue e a distribuição espacial da abundância de *Ae. aegypti* adultos nas áreas de estudo;

- Soroconversões de IgM e IgG foram observadas em proporções diferentes em cada área de estudo. Foram também detectadas infecções assintomáticas de dengue, que evidenciam uma circulação silenciosa dos vírus;

- Observou-se uma associação entre soroprevalência do dengue e idade, com um efeito linear e significativo nas áreas urbana e de favela;

- Os nossos resultados apontam para maior heterogeneidade espacial da soroprevalência de dengue nas áreas mais isoladas, ou seja, suburbana e favela, com variação nos padrões espaciais da soroprevalência em pontos dos bairros onde há intensa atividade comercial e maior movimentação humana.

6. PERSPECTIVAS

Ao longo deste trabalho, não conseguimos evidenciar associação entre as infecções recentes do dengue e a densidade das populações adultas de *Ae. aegypti*. Este resultado nos leva a considerar a necessidade de avaliar a relação entre mosquitos (formas imaturas e adultas) infectados e incidência de dengue. Finalizada a presente tese, é de nosso interesse a detecção dos vírus dengue nos mosquitos capturados durante todo o estudo longitudinal, assim como – caso haja resultados positivos – a avaliação da associação entre estes e as infecções recentes de dengue. Pretendemos com isto identificar *clusters* nas áreas de estudo e avaliar o risco de infecção em nível domiciliar para, dessa forma, melhor compreender a transmissão dos vírus dengue em escala local.

Cabe ressaltar que o nosso estudo, usando duas armadilhas (ovitampas e MosquiTRAPs), gerou uma grande quantidade de informações relevantes sobre a utilização dessas ferramentas, o que pode auxiliar o desenho de estudos futuros de avaliação de armadilhas para a vigilância e monitoramento. Além disso, acreditamos que os dados do presente estudo poderão subsidiar o desenvolvimento de modelos matemáticos de dinâmica de transmissão de dengue no Rio de Janeiro.

Por outro lado, consideramos relevante atuar em território típico de favela com características exclusivamente urbanas, cujas peculiaridades favoreceriam a manutenção e proliferação do *Ae. aegypti*. A comunidade de Palmares, devido ao seu posicionamento periférico e forte interação com o ambiente silvestre, mostrou-se não representativa da “favela típica carioca”. Nesse sentido, em 2008 passamos a trabalhar de modo mais sistemático em Manguinhos – território pertencente à Região Administrativa de Ramos no município do Rio de Janeiro, um complexo de favelas, com alta densidade populacional, circulação de distintos sorotipos e inúmeros fatores ambientais que favorecem a manutenção do vetor da dengue. Com o apoio da Rede de Ações Integradas de Atenção à Saúde no Controle da Dengue da Fiocruz, buscamos, de modo articulado aos moradores das comunidades locais, entender e mapear a distribuição do *Ae. aegypti* através da utilização

concomitante de diferentes abordagens (métodos e armadilhas) que avaliem a infestação do vetor. Além disso, pretendemos desenvolver as análises espaciais com maior resolução para avançar na compreensão do padrão de distribuição de *Ae. aegypti*, inclusive em situações que considerem a diversidade de outros sítios de oviposição local.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alto BW, Juliano SA 2001. Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): implications for range expansion. *J Med Entomol* 38: 646-656.
- Andrade MEB 2000. Geografia médica: origem e evolução. In: Barata RB, organizadora. Doenças endêmicas: abordagens sociais, culturais e comportamentais. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 151-166 pp.
- Araújo JM, Schatzmayr HG, Filipis AM, Dos Santos FB, Cardoso MA, Brito C, Coelho JM, Nogueira RMR 2009c. A retrospective survey of dengue virus infection in fatal cases from an epidemic in Brazil. *J Virol Methods* 155: 34-38.
- Araújo JMG 2009. Vírus dengue sorotipo 3 (DENV-3) no Brasil: Estudo sobre patogenia, sítios de replicação, filogenia e evolução molecular. Doutorado [Biologia Celular e Molecular] – Instituto Oswaldo Cruz.
- Araújo JMG, Filipis AMB, Schatzmayr HG, Araújo ESM, Brito C, Cardoso MA, Camacho LAB, Nogueira RMR 2009b. Quantification of dengue virus type 3 RNA in fatal and nonfatal cases in Brazil, 2002. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 104: 15-18.
- Barata R 1988. Meningite: Uma doença sob censura? São Paulo: Cortez.
- Barcellos C, Coutinho K, Pina MF, Magalhães MMAF, Paola JCM, Santos SM 1998. 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 Públ* 14: 597-560.
- Barcellos C, Lammerhirt CB, Almeida MAB, Santos E 2003. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. *Cad Saúde Públ* 19: 1283-1292.
- Barcellos C, Pustai AK, Weber MA, Brito MRV 2005. Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 246-250.
- Barcellos C, Ramalho WM, Gracie R, Magalhães MAFM, Fontes MP, Skaba D 2008. Georreferenciamento de dados de saúde na escala submunicipal: algumas experiências no Brasil. *Epidemiol Sev Saúde* 17: 59-70.
- Barcellos C, Sabroza PC 2000. Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in the western Rio de Janeiro: a geographical

- approach. *Int J Environ Health Res* 10: 301-313.
- Barcellos CC, Sabroza PC, Peiter P, Rojas LI 2002. Organização espacial, saúde e qualidade de vida: Análise espacial e uso de indicadores na avaliação de situações de saúde. *Informe Epidemiológico SUS* 11: 129-138.
- Barret FA 1993. A medical geography anniversary. *Soc Sci Med* 37: 701-710.
- Barreto ML 1982. *Esquistossomose Mansônica*: Distribuição da doença e organização social do espaço. Dissertação de Mestrado, Salvador: Universidade Federal da Bahia.
- Bates M 1945. Observations on climate and seasonal distribution of mosquitoes in Eastern Colômbia. *J Anim Ecol* 14: 17-25.
- Beserra EB, Castro FP, Santos JW, Santos TS, Fernandes CRM. 2006. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. *Neotrop Entomol* 35: 853-860.
- Bonfim C, Medeiros Z 2008. Epidemiologia e geografia: dos primórdios aos geoprocessamento. *Rev Espaço para a Saúde* 10: 53-62.
- Braga IA, Gomes AC, Nelson M, Mello RCG, Bergamaschi DP, Souza JMP 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev Bras Med Trop* 33: 347-353.
- Braga IA, Valle D 2007. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativa de controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 16: 295-392.
- Braks MAH, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA, Lounibos LP 2003. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. *J Med Entomol* 40: 785-794.
- Carbajo AE, Curto SI, Schweigmann J 2006. Spatial distribution pattern of oviposition in the mosquito *Aedes aegypti* in relation to urbanization in Buenos Aires: southern fringe bionomics of an introduced vector. *Med Vet Entomol* 20: 209-218.
- Carvalho MS, Souza-Santos R 2005. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas e perspectivas. *Cad Saúde Públ* 21: 361-378.
- Castro MG, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Lourenço-de-Oliveira R 2004. 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* 99: 809-814.

- Chadee DD 2009. Oviposition strategies adopted by gravid *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) as detected by ovitraps in Trinidad, West Indies (2002–2006). *Acta Trop* (in press).
- Chevillon C, Failloux AB 2003. Questions on viral population biology to complete dengue puzzle. *Trends Microbiol* 11: 415-421.
- Chiaravalloti-Neto F 1997. Descrição da colonização de *Aedes aegypti* na região de São José do Rio Preto, São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 30: 279-285.
- Christophers SR 1960. *Aedes aegypti* (L): *The Yellow Fever Mosquito*. Cambridge University Press, London. 739pp.
- Clarke DH, Casals J 1958. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropode-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg* 7: 561-573.
- Coelho GE, Burattini MN, Teixeira MG, Coutinho FAB, Massad E 2008. Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 535-539.
- Conceição GMS, Saldiva PHN, Singer JM 2001. Modelos MLG e MAG para análise da associação entre poluição atmosférica e marcadores de morbimortalidade: uma introdução baseada em dados da cidade de São Paulo. *Rev Bras Epidemiol* 4: 206-219.
- Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, Brasil. 225pp.
- Corbet PS, Chadee DD 1993. An improved method for detecting substrate preferences shown by mosquitoes that exhibit “skip oviposition”. *Phys Entomol* 18: 144-118.
- Cordeiro MT, Silva AM, Brito CAA, Nascimento EJM, Magalhães MCF, Guimarães GF, Lucena-Silva N, Carvalho EMF, Marques Jr ETA 2007. Characterization of a dengue patient cohort in Recife, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 77: 1128-1134.
- Corrêa PRL, França E, Bogutchi TF 2005. Infestação pelo *Aedes aegypti* e ocorrência da dengue em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Rev Saúde Públ* 39: 33-40.
- Correia VRM, Monteiro AMV, Carvalho MS, Werneck GL 2007. Uma aplicação do sensoriamento remoto para a investigação de endemias urbanas. *Cad Saúde Publ* 23: 1015-1028.
- Costa AIP, Natal D 1998. Geographical distribution of dengue and socioeconomic

- factors in an urban locality in Southeastern Brazil. *Rev Saúde Públ* 32: 232-236.
- Costa-Ribeiro MCV, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux AB, 2006. Geographic and temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Med Int Health* 2: 1-10.
- Cunha MCM, Caiaffa WT, Oliveira CL, Kroon EG, Pessanha JEM, Lima JA, Proietti FA 2008. Fatores associados à infecção pelo vírus do dengue no município de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, Brasil: características individuais e diferenças intra-urbanas. *Epidemiol Serv Saúde* 17: 217-230.
- Cunha RV, Dias M, Nogueira RMR, Chagas N, Miagostovich MP, Schatzmayr HG 1995. Secondary dengue infection in schoolchildren in a dengue endemic area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 37: 517-521.
- Cunha RV, Maspero RC, Miagostovich MP, Araújo ESM, Luz DC, Nogueira RMR, Schatzmayr HG 1997. Dengue infection in Paracambi, state of Rio de Janeiro, 1990-1995. *Rev Soc Bras Med Trop* 30: 379-383.
- Czeresnia D, Ribeiro AM 2000. O conceito de espaço em epidemiologia: uma interpretação histórica e epistemológica. *Cad Saúde Públ* 16: 595-617.
- De Simone TS, Nogueira RMR, Araújo ESM, Guimarães FR, Santos FB, Schatzmayr HG, Souza RV, Teixeira FG, Miagostovich MP 2004. Dengue virus (DENV) surveillance: the co-circulation of DENV-1, 2 and 3 in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 98: 553-562.
- Degallier N, Teixeira JMS, Soares SS, Pereira RD, Pinto SCF, Chaib AJM, Vasconcelos PFC, Oliveira E 2003. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. *Rev Saúde Públ* 37: 386-387.
- Degallier N, Teixeira JMS, Vilarinhos PTR 2000. First isolation of dengue 1 virus from *Aedes aegypti* in Federal District, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 95-96.
- Degallier N, Travassos-da-Rosa APA, Vasconcelos PFC, Figueiredo TM, Travassos-da-Rosa JFS, Rodrigues SG, Travassos-da-Rosa ES 1996. La dengue et ses vecteurs au Bresil. *Bull Soc Path Exot* 89: 128-136.
- Dibo MR, Chierotti AP, Ferrari MS, Mendonça AL, Chiaravalloti-Neto F 2008. Study of the relationship between *Aedes (Stegomyia) aegypti* egg and adult densities, dengue fever and climate in Mirasso, state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 554-560.

- Eiras AE 2002. Armadilha para captura de mosquitos. Patente: Privilégio e Inovação. n. PI0203907-9, "Armadilha para captura de mosquitos". 05 de set de 2002 (Depósitos).
- Facchinelli L, Valério L, Pombi M, Reiter P, Costantini C, Torre D 2007. Development of a novel sticky trap for container-breeding mosquitoes and evaluation of its sampling properties to monitor urban populations of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol* 21: 183-195.
- Farnesi LC, Martins AJ, Valle D, Rezende GL 2009. Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) influence of different Constant temperatures. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 124-126.
- Fávaro EA, Dibo MR, A Mondini, Ferreira AC, Barbosa AAC, Eiras AE, Barata , EAMF, Chiaravalloti-Neto F 2006. Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTraps™ in Mirassol, São Paulo, Brazil. *J Vector Ecol* 31: 285-291.
- Fávaro EA, Mondini A, Dibo MR, Barbosa AAC, Eiras AE, Chiaravalloti-Neto F. 2008. Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in São Paulo, Brazil. *J. Vector Ecol* 33: 8-16.
- Fay RW, Perry S 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News* 25: 276-281.
- Ferreira UM 1991. Epidemiologia e Geografia: O complexo Patogênico de Max Sorre. *Cad de Saúde Públ* 7: 301-309.
- Figueiredo LTM 2000. The Brazilian flaviviruses. *Microbes and Infections* 2: 1643-1649.
- Figueiredo LTM, Cavalcante SMB, Simões MC 1990. Dengue serologic survey of schoolchildren in Rio de Janeiro, Brazil, in 1986 and 1987. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 24: 217-225.
- Focks DA 2003. A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors, *World Health Organization. Tropical Disease Research* 35 pp.
- Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E 2000. 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* 62: 11-18.
- Focks DA, Sackett SR, Bailey DL, Dame DA 1981. Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, Louisiana, with an estimate of the population density of *Aedes aegypti* (L.). *Am J Trop Med Hyg* 30: 1329-1335.

- Franco O 1976. História da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, *Ministério da Saúde*, 208 pp.
- Funasa 2001. Dengue. *Situação epidemiológica, riscos e medidas de controle*. Boletim Epidemiológico Eletrônico, 1:1 – 2. Fundação Nacional de Saúde. Disponível no site <http://www.funasa.gov.br>.
- Gama RA, Silva EM, Silva IM, Resende MC, Eiras AE 2007. Evaluation of the sticky MosquiTRAP™ for detecting *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) during the dry season in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Neotrop Entomol* 36: 294-302.
- Getis A, Morrison AC, Gray K, Scott TW 2003. Characteristics of the spatial patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti* in Iquitos, Peru. *Am J Trop Med Hyg* 69: 494-505.
- Glass GE 2000. Update: Spatial aspects of epidemiology: The interface with medical geography. *Epidemiol Rev* 22: 136-139.
- Glasser CM, Gomes AC 2002. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. *Rev Saúde Públ* 36: 166-172.
- Gomes AC 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (stegomyia) aegypti* e *Aedes (stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. *Inf Epidemiol SUS* 7: 49.
- Gomes AC, Marques GRAM 1988. Encontro de criadouro natural de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Públ* 22: 245.
- Gomes AC, Silva NN, Bernal RTI, Leandro AS, Camargo NJ, Silva AM, Ferreira AC, Ogura LC, Oliveira SJ, Moura SM 2007. Specificity of the Adultrap for capturing females of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 216-219.
- Gubler DJ 1993. Dengue and dengue haemorrhagic fever in the Americas. In: World Health Organization, Regional Office for Southeast Asia, New Delhi: Monograph on dengue/dengue haemorrhagic fever, Regional Publication, SEARO no. 22, 9-22pp.
- Gubler DJ 1998. Resurgent vector-borne diseases as a globalhealth problem. *Emerg Infec Dis* 4: 442-449.

- Gubler DJ 2002. Epidemic/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol* 10: 100-103.
- Gubler DJ, Kuno G (eds) 1997. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*, CAB International, London, 478 pp.
- Gubler DJ, Kuno G, Sather GE, Velez M, Oliver A 1984. Use of mosquito cell cultures and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 33: 158-165.
- Guzmán MG, Kouri G, Valdes L, Bravo J, Alvarez M, Vasquez S, Delgado L, Halstead SB 2000. Epidemiologic studies on dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol* 152: 793-799.
- Guzmán MG, Vázquez S, Martínez E, Alvarez M, Rodriguez R, Kouri G, Los Reyes J, Acevedo J 1997. Dengue in Nicaragua, 1994: reintroduction of serotype 3 in the Americas. *Rev Panam Salud Publica* 1: 193-199.
- Halstead SB 1988. Pathogenesis of dengue: Challenges to molecular biology. *Science* 239: 479-481.
- Halstead SB 2008. Dengue virus – Mosquito interactions. *Ann Rev Entomol* 53: 273-291.
- Hawley WA 1988. The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 4 (Suppl. 1): 1- 40.
- Ho BC, Chan KL, Chan YC 1971. *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore city. 3 population fluctuations. *Bull World Health Organ* 44: 635-641.
- Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH 1991. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5´-3´ exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 7276-7280.
- Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R, 2009a. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J Med Entomol* (in press).
- Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R 2001. Freqüência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. *Rev Saúde Públ* 34: 385-391.
- Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R, Nobre AA, Simões TC, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAF, Reis IC, Codeço CT 2009. Egg and adult traps for *Aedes aegypti* suggest different spatial patterns of vector density and determination of

- dengue risk areas in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (Em preparação).
- Honório NA, Nogueira RMR, Codeço CT, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAFM, Araújo JMG, Araújo ESM, Gomes MQ, Pinheiro SP, Pinel CS, Lourenço-de-Oliveira R 2009b. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. *Plos Negl Trop Dis* (aceito).
- Honório NA, Silva WC, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R 2003. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in a urban endemic dengue area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 191-198.
- Ibáñez-Bernal S, Briseño B, Mutebi JP, Argot E, Rodrigues G, Martinez-Campos C, Paz R, Román P de La Fuente-San, Tapia-Conyer R, Flisser A. 1997. First Record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, México. *Med Vet Entomol* 11: 305-309.
- Igarashi A 1978. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. *J Gen Virol* 40: 531-544.
- Irving-Bell RJ, Okoli EI, 1987 Diyelong DY, Lyimo EO, Onyia OC 1987. Septic tank mosquitoes: competition between species in central Nigeria. *Med Vet Entomol* 1: 243-250.
- Juliano SA, O'Meara GF, Morrill JR, Cutwa MM 2002. Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. *Oecologia* 130: 458-469.
- Khin M, Than K 1983. Transovarial transmission of dengue 2viruses by *Aedes aegypti* in nature. *Am J Trop Med Hyg* 32: 590-594.
- Kouri GP, Guzman MG, Bravo J. 1986. Hemorrhagic dengue in Cuba: history of an epidemic. *Bull PAHO* 20: 24-30.
- Kouri GP, Guzmán MG, Bravo JR, Triana C 1989. Dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. *Bull World Health Org* 67: 375-380.
- Kröckel U, Rose A, Eiras AE, Geier M 2006. New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates na urban enviroment. *J Am Mosq Control Assoc* 22: 229-238.
- Kuno E 1991. Sampling and analysis of insect populations. *Annu Rev Entomol* 36: 285-304.

- Kuno G 1995. Review of the factors modulating dengue transmission. *Epidemiologic Reviews* 17: 321-335.
- Kuno G, Gomez I, Gubler D J 1987. Detecting artificial anti-dengue IgM immune complexes using an enzyme - linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 36: 153-159.
- Kyle JL, Harris E 2008. Global spread and persistence of dengue. *Ann Rev Microbiol* 62: 71-92.
- Lacaz CS, Baruzi RG, Júnior WS (org) 1972. Introdução à Geografia Médica. São Paulo: Edgar Blücher/Edusp.
- Lagrotta MTF, Silva WC, Souza-Santos R 2008. Identification of key areas for *Aedes aegypti* control through geoprocessing in Nova Iguaçu, Rio de Janeiro State, Brazil. *Cad Saúde Públ* 24: 70-80.
- Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam V 1992. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 30: 545-551.
- Laue T, Emmerich P, Schmitz H 1999. Detection of dengue virus RNA in patients after primary or secondary dengue infection by using the TaqMan automated amplification system. *J Clin Microbiol* 37: 2543-2547.
- Lima-Camara T, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em distintos ambientes no Rio de Janeiro. *Cad Saúde Públ* 22: 2079-2084.
- Lima-Camara TN, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R. 2007. Parity and ovarian development of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) in Metropolitan Rio de Janeiro. *J Vector Ecology* 32: 34-40.
- Lounibos LP 1981. Habitat segregation among African treehole mosquitoes. *Ecol Entomol* 6: 129-154.
- Lourenço-de-Oliveira R 2008b. Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008 – Editorial. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 627-628.
- Lourenço-de-Oliveira R, Castro MG, Braks MA, Lounibos LP 2004a. The invasion of urban Forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *J Vector Ecol* 29: 94-100.
- Lourenço-de-Oliveira R, Honório NA, Castro MG, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Alves JCR, Silva WC, Leite PJ, Nogueira RMR 2002. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 799-800.

- Lourenço-de-Oliveira R, Lima JBP, Peres R, Alves FC, Eiras AE, Codeço CT 2008a. Comparison of different uses of adult traps and ovitraps for assessing dengue vector infestation in endemic areas. *J Am Mosq Control Assoc* 24, 387-392.
- Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filipis AMB, Failloux AB 2003. *Aedes albopictus* from Brazil and southern United States: genetic variation and vector competence for dengue and yellow fever viruses. *Am J Trop Med Hyg* 69: 105-114.
- Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, Filippis AMB, Failloux AB 2004b. *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 98: 43-54.
- Luz C, Tai MHH, Santos AH, Silva HHG 2008. Impact of moisture on survival of *Aedes aegypti* eggs and ovicidal activity of *Metarhizium anisopliae* under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 214-215.
- Luz PM, Codeço CT, Massad E, Struchiner CJ 2003. Uncertainties regarding dengue modeling in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 871-878.
- Maciel-de-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R 2007a. Daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* females in Rio de Janeiro, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 76: 659-665.
- Maciel-de-Freitas R, Lourenço-de-Oliveira R 2009. Presumed unconstrained dispersal of *Aedes aegypti* in the city of Rio de Janeiro. *Rev Saúde Públ* 43: 8-12.
- Maciel-de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, Lourenço-de-Oliveira R 2007b. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 489-496.
- Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB 2008a. 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* 103: 602-605.
- Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Sousa-Santos R, Lourenço-de-Oliveira R 2008b. Occurrence, productivity and spatial distribution of key-premises in two dengue-endemic areas of Rio de Janeiro and their role in adult *Aedes aegypti* spatial

- infestation pattern. *Trop Med Int Health* 13: 1488-1494.
- Madeira NG, Macharelli CA, Carvalho LR 2002. Variation of the oviposition preferences of *Aedes aegypti* in function of substratum and humidity. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 415-420.
- Mammem MP Jr, Pimgate C, Koenraad CJM, Rothman AL, Aldstadt J, Nisalak A, Jarman RG, Jones JW, Srikiatkachorn, Ypil-Butac CA, Getis A, Thammapalo S, Morrison AC, Libraty DH, Green S, Scott TW 2008. Spatial and temporal clustering of dengue virus transmission in Thai Villages. *Plos Negl Trop Dis* 2: e263.doi:10.1371/JOURNAL.PNTD.0000263.
- Mariano F 1917. A dengue. Considerações a respeito de sua incursão no Rio Grande do Sul em 1916. *Arch Bras Med* 7: 272-277.
- Marzochi KBF 1994. Dengue in Brazil – situation, transmission and control – a proposal for ecological control. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89: 235-245.
- Mcdonald WW 1956. *Aedes aegypti* in Malaya II. Larval and adult biology. *Ann Trop Med Parasitol* 50: 300-414.
- Medronho RA, Werneck GL, Perez MA 2009. Distribuição das doenças no espaço e no tempo. In: Medronho, RA (Org), Epidemiologia. Atheneu, São Paulo. 2ª. edição. 83-102 pp.
- Medronho RA, Werneck GL. 2002. Técnicas de análise espacial em saúde. In: Medronho, R.A. (Org), Epidemiologia. Atheneu, Rio de Janeiro. 427-446pp.
- Meira R 1916. “Urucubaca” gripe ou dengue? Clínica Médica. Gráfica O Estado de São Paulo, 273-285.
- Melo PRS, Reis EAG, Ciuffo IA, Góes M, Blanton RE, Reis MG 2007. The dynamics of dengue vírus serotype 3 introduction and dispersion in the state of Bahia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 905-912.
- Miagostovich MP, Vorndam V, Araújo ESM, Santos FB, Schatzmayr HG, Nogueira RMR 1999. Evaluation of IgG enzyme-linked immunosorbent assay for dengue diagnosis. *J Clin Virol* 14: 183-189.
- Mieli MV, Campos RE 2003. Oviposition activity and seasonal pattern of a population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in subtropical Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 659-663.
- Miller BR, Ballinger ME 1988. *Aedes albopictus* mosquitoes introduced into Brazil: vector competence for yellow fever and dengue viruses. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 82: 476-477.

- Mogi M, Choochote W, Khamboonruang C, Suwanpanit P 1990. Applicability of presence-absence and sequential sampling for ovitrap surveillance of *Aedes* (Diptera: Culicidae) in Chiang Mai, northern Thailand. *J Med Entomol* 27: 509-514.
- Mogi M, Khamboonruang C, Choochote W, Suwanpanit P 1988. Ovitrap surveys of dengue vector mosquitoes in Chiang Mai, northern Thailand: seasonal shifts in relative abundance of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti*. *Med Vet Entomol* 2: 319-324.
- Mondini A, Bronzoni RVM, Nunes SHP, Chiaravalloti-Neto F, Massad E, Alonso WJ, Lázaro ESM, Ferraz AA, Zanotto PMA, Nogueira ML 2009. Spatio-temporal tracking and phylodynamics of an urban dengue 3 outbreak in São Paulo, Brazil. *Plos Negl Trop Dis* 3:e448. doi:10.1371/journal.pntd.0000448
- Mondini A, Chiaravalloti Neto F 2007. Investigação do papel das variáveis socioeconômicas na transmissão de dengue em cidade de porte médio do interior do estado de São Paulo. *Rev Saúde Publ* 41: 923-930.
- Mondini A, Chiaravalloti-Neto F 2008. Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. *Science of the Total Environment* 393: 241-248.
- Moore CG, Cline BL, Ruiz-Tibén E, Lee D, Romney-Joseph H, Rivera-Correa E 1978. *Aedes aegypti* in Puerto Rico: environmental determinants of larval abundance and relation to dengue virus transmission. *Am J Trop Med Hyg* 27: 1255-1231.
- Morato VCG, Teixeira MG, Gomes AC, Bergamaschi DP, Barreto M 2005. Infestation of *Aedes aegypti* estimated by oviposition traps in Brazil. *Rev Saúde Públ* 39: 553-558.
- Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R 2008. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *Plos Med* 5: e68.doi:10.1371/journal.pmed.0050068.
- MS 2005. Serviço de Vigilância em Saúde - SVS. Ministério da Saúde. <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area>.
- MS 2008. Dengue: Manual de enfermagem (adulto e criança). Ministério da Saúde Disponível em: http://www.dengue.org.br/dengue_manual_enfermagem.pdf.
- Nathan MB, Knudsen AB 1991. *Aedes aegypti* infestation characteristics in several Caribbean countries and implications for integrated community-based control. *J*

Am Mosq Control Assoc 7: 400-404.

Nogueira RMR, Araujo JMG, Schatzmayr HG 2007. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. *Rev Panam Salud Pública* 22: 358-363.

Nogueira RMR, Miagostovich MP, Filippis AMB, Pereira MAS, Schatzmayr HG 2001. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 925-926.

Nogueira RMR, Miagostovich MP, Lampe E, Schatzmayr HG 1990. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85: 253.

Nogueira RMR, Miagostovich MP, Schatzmayr HG, Santos FB, Araújo ESM, Filippis AMB, Souza RV, Zagne SMO, Nicolai C, Baran M, Teixeira FG 1999. Dengue in the state of Rio de Janeiro, Brazil, 1986-1988. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 297-304.

Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Filippis AMB, Santos FB, Cunha RV, Coelho JO, Souza LJ, Guimarães FR, Araújo ESM, De Simone TS, Baran M, Teixeira Jr G, Miagostovich MP 2005. Dengue virus type 3, Brazil, 2002. *Emerg Infect Dis* 11: 1376-1381.

Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Farias MFDB, Farias FJC 1988. Virological study of a dengue type 1 epidemic at Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83: 219-225.

OMS 1987. Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle. Organização Mundial da Saúde. Genebra. 79 pp.

OMS 1997. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control. Organização Mundial da Saúde. Genebra.

OMS 2003. Guidelines for dengue surveillance and mosquito control. Regional office for the western pacific Manila. 105pp.

OPAS 1989. El dengue en las Américas. 1980-1987. Boletim Epidemiológico. Organización Panamericana de la Salud 10: 1-8.

OPAS 1997. Resurgimiento del dengue em las Américas. Organización Panamericana de la Salud. Bol. Epidemiol. 10: 1-8.

OPAS 2007. Pan American Health Organization. <http://www.new.paho.org>.

Osanaí CH, Travassos-da-Rosa APA, Tang AT, Amaral RS, Passos ADC, Tauil PL 1983. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. *Rev Inst Med Trop de São Paulo* 23: 53-54.

Paiva CHA 2006. Samuel Pessoa: uma trajetória científica no contexto do

- sanitarismo campanhista e desenvolvimentista no Brasil. *História, Ciência e Saúde* – Mangueiras, Rio de Janeiro 13(4): 795-831.
- Parker MB 1986. Hatchability of eggs of *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae): effects of different temperatures and photoperiods during embryogenesis. *Ann Entomol Soc Am* 79: 925-930.
- Pedro A 1923. O dengue em Nitcheroy. *Brazil- Med* 1: 173-177.
- Pessoa SB 1978. *Ensaio Médico-Sociais*. São Paulo: CEBES/Editora Hucitec.
- Pinheiro FP 1989. Dengue in the Américas, 1980-1987. *Epidemiol Bull Pan Am Health Organ* 10: 1-8.
- Pinheiro FP, Corber SJ 1997. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever and its emergence in the Americas. *World Health Stat* 50: 161-169.
- Pontes RJS, Freeman J, Oliveira-Lima JW, Hodgson JC, Spielman A 2000. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. *Am J Trop Med Hyg* 62: 378-383.
- Regis L, Monteiro AM, Melo-Santos MAV, Furtado AF, Acioli RV, Santos GM, Nakazawa M, Carvalho MS, Souza WV 2008. Developing new approaches for detecting and preventing *Aedes aegypti* population outbreaks: basis for surveillance, alert and control system. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 50-59.
- Reis IC, Honório NA, Codeço CT, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C 2009. Key sites for monitoring *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) infestation in three different dengue endemic environments of Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Tropica* (Submetido).
- Reis TJ 1896. A febre dengue em Curitiba. *Gaz Med Bahia*, Salvador (7): 263 - 266.
- Reiter P 1988. Weather, vector biology, and arboviral recrudescence. In: Monath TP (ed) *The arboviruses: epidemiology and ecology*, volume I. CRC, Boca Raton, Fla, 245-255 pp.
- Reiter P 2001. Climate change and mosquito-borne disease. *Environ Health Perspect* 109: 141-152.
- Reiter P, Gubler DJ 1997. Surveillance and control of urban dengue vectors. In: Gubler DJ, Kuno G, editors. *Dengue and dengue haemorrhagic fever*. Wallingford, oxon: CAB International, p. 425-462.
- Rigau-Perez JG, Ayala-López A, García-Rivera EJ, Hudson SM, Vondam V,

- Reiter P, Cano MP, Clark GG 2002. The reappearance of dengue-3 and subsequent dengue-4 and dengue-1 epidemic in Puerto Rico in 1998. *Am J Trop Med Hyg* 67: 355-362.
- Ríos-Velásquez CM, Codeço CT, Honório NA, Sabroza PC, Moresco M, Cunha ICL, Levino A, Toledo LM, Luz SB 2007. Distributions of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 617-623.
- Ritchie SA, Long S, Hard A, Webb CE, Russe RC. 2003. An aduticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 19: 235-242.
- Rodhain F 1992. Recent data on the epidemiology of dengue fever. *Bull Acad Natl Med* 176: 223-236.
- Rojas LI 1998. geografia y salud: Temas Y perspectivas em América Latina. *Cad Saúde Públ* 14: 701-711.
- Rosa-Freitas MG, Schreiber KV, Tsouris P, Weimann ETS, Luitgards-Moura JF 2006. Identification of significant associations between combinations of weather factors and dengue in Boa Vista, Roraima, Brazilian Amazon. *Rev Panam Salud Publica* 20: 256-267.
- Rosen G 2006. Uma História da Saúde Pública. São Paulo: Hucitec.
- Rosen L, Shroyer DA, Tesh RB, Freier JE, Lien JC 1983. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 32: 1108-1119.
- Rueda LM, Patel KJ, Axtell RC, Stinner RE 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 27: 892-898.
- Sabroza PC, Toledo LM, Osanai CH 1992. A organização do espaço e os processos endêmicos-epidêmicos. In: Saúde, Ambiente e Desenvolvimento. Processos e Conseqüências sobre as Condições de Vida (M. C. Leal, P. C. Sabroza, R. H. Rodriguez & P. M. Buss, org.), vol. 2, pp. 57-77, São Paulo: Editora Hucitec/Rio de Janeiro: ABRASCO.
- Santos M 1999. A natureza do espaço: técnica e tempo: razão e emoção. São Paulo: Hucitec.
- Santos M 2002. Por uma geografia nova: da crítica da geografia a uma geografia crítica. São Paulo: Edusp.

- Schatzmayr HG 2000. Dengue situation in Brazil by year 2000. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 179-181.
- Schatzmayr HG, Nogueira RMR, Travassos Da Rosa APA 1986. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 81: 245-246.
- Schreiber KV 2001. An investigation of relationships between climate and dengue using a water budgeting technique. *Int J Biometeorol* 45: 81-89.
- Scott TW, Clark GG, Lorenz LH, Amerasinghe PH, Reiter P, Edman JD 1993. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. *J Med Entomol.* 30:94-99.
- Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GC, Strickman D, Kittayapong P, Zhou H, Edman J 2000. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: populations dynamics. *J Med Entomol* 37: 77-88.
- Serufo JC, Oca HM, Tavares VA, Souza AM, Rosa RV, Jamal MC, Lemos JR, Oliveira MA, Nogueira RMR, Schatzmayr HG. 1993. Isolation of dengue vírus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos city, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 88: 503-504.
- SESDEC-RJ 2008. Ações em Saúde. Dengue. Relatório de casos de dengue. Secretaria de Defesa Civil do Rio de Janeiro. <http://www.saude.rj.gov/Docs/Acoes/dengue/Relatorio.htm>. Acessado em: 08 de fevereiro de 2009.
- Silva LJ 1985a. Organização do espaço e doença. In: Textos de apoio: Epidemiologia 1 (J.R Carvalheiro, org), Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública/Abrasco 159-188pp.
- Silva-Nunes M, Souza VAF, Pannuti CS, Sperança MA, Terzian ACB, Nogueira ML, Yamamura AMY, Freire MS, Silva NS, Malafronte RS, Muniz PT, Vasconcelos HB, Silva EVP, Vasconcelos PFC, Ferreira MU 2008. Risk factors for dengue virus infection in rural Amazonia: population-based cross-sectional surveys. *Am J Trop Med Hyg* 79: 485-494.
- Siqueira JB, Martelli CMT, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG, Amorim FP, Moreira BC, Cardoso DDP, Souza WV, Andrade ALSS 2004. Household survey of dengue infection in central Brazil: Spatial point pattern analysis and risk factors assessment. *Am J Trop Med Hyg* 71: 646-651.
- Siqueira-Junior JB, Maciel IJ, Barcellos C, Souza WV, Carvalho MS, Nascimento

- NE, Oliveira RM, Morais-Neto O, Martelli CMT 2008. Spatial point analysis based on dengue surveys at household level in central Brazil. *BMC Public Health* 8: 361.doi:10.1186/1471-2458/8/361.
- Smith DL, Dushoff J, McKenzie FE 2004. The risk of a mosquito-borne infection in a heterogeneous environment. *Plos Biology* 2(11):e368.
- Snow J (1813-1858) 1999. Sobre a maneira de transmissão do cólera. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: Abrasco.
- Souza IC, Vianna RP, Moraes RM 2007. Modeling of dengue incidence in Paraíba State, Brazil, using distributed lag models. *Cad Saúde Públ* 23: 2623-2630.
- Souza-Santos R 1999. Factors associated to the occurrence of immature forms of *Aedes aegypti* in the Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 53: 373-382.
- SUCEN 2002. Normas, orientações e recomendações técnicas para a vigilância e controle de *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo. Superintendência de controle de endemias. São Paulo: Secretaria de Estado de Saúde.
- Tassinari WS, Pellegrini D, Sabroza PC, Carvalho MS 2004. Distribuição espacial da leptospirose no município do Rio de Janeiro ao longo dos anos 1996-1999. *Cad Saúde Públ* 20: 1721-1729.
- Tauil PL 2001. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad Saúde Públ* 17: 99-102.
- Tauil PL 2002. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad Saúde Públ* 18: 867-868.
- Teixeira MG, Barreto ML, Costa MCN, Ferreira LD, Vasconcelos P 2003. Dinâmica de circulação do vírus da dengue em uma área metropolitana do Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 12: 87-97.
- Teixeira MG, Barreto ML, Costa MCN, Ferreira LDA, Vasconcelos PFC, Cairncross S 2002b. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. *Trop Med Int Health* 7: 757-762.
- Teixeira MG, Barreto ML, Costa MCN, Ferreira LDA, Vasconcelos PFC 2002a. Avaliação de impacto de ações de combate ao *Aedes aegypti* na cidade de Salvador, Bahia. *Rev Bras Epidemiol* 5: 108-115.
- Teixeira MG, Barreto ML, Guerra Z 1999. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. *Informe Epidemiológico do SUS* 8: 5-33.
- Teixeira MG, Costa MCN, Coelho G, Barreto ML 2008. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 14:1663.

- Thammapalo S, Nagao Y, Sakamoto W, Saengtharatip S, Tsujitani M, Nakamura Y, Coleman PG, Davies C 2008. Relationship between transmission intensity and incidence of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Plos Negl Trop Dis* 2(7): e263.doi :10.1371/journal.pntd.0000263.
- Tu Wu-Chun, Chen Chheng-Chen, Hou RF 1998. Ultrastructural studies on the Reproductive System of Male *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) infected with Dengue 2 virus. *J Med Entomol* 35: 71-76.
- Tun-Lin W, Burkot TR, Kay BH 2000. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Med Vet Entomol* 14: 31-37.
- Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A 1995. The premise condition index: a tool for streamlining surveys of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Hyg* 53: 591-594.
- Van Benthem BHB, Vanwambeke SO, Khantikul N, Burghoorn-Maas C, Panart K, et al 2005. Spatial patterns of and risk factors for seropositivity for dengue infection. *Am J Trop Med Hyg* 72: 201-208.
- Vasconcelos PFC, Lima JWO, Travassos-da-Rosa APA, Timbó MJ, Travassos-da-Rosa ES, Lima HR, Rodrigues SG, Travassos-da-Rosa JFS 1998. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Rev Saúde Públ* 32: 447-54.
- Vasconcelos PFC, Mota K, Straatman A, Santos-Torres S, Travassos-Da-Rosa APA, Tavares Neto J 2000. Epidemia de dengue em Itupirara e Prado, Bahia. Inquérito soro-epidemiológico. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 61-67.
- Vezzani D, Velásquez SM, Schweigmann N 2004. Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires city, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 351-356.
- Watts DM, Burke DS, Harrison BA, Whitmire RE, Nisalak A 1987. Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. *Am J Trop Med Hyg* 36: 143-152.
- Wen TH, Lin NH, Lin CH, King CC, Su MD (2006) Spatial mapping of temporal risk characteristics to improve environmental health risk identification: a case study of a dengue epidemic in Taiwan. *Sci Tot Environ* 367: 631-640.
- Werneck GL 2008. Georeferenced data in epidemiologic research. *Ciência & Saúde Coletiva* 13: 1753-1766.

Wood SN 2006. Generalized additive models: an introduction with Chapman & Hall//CRC, Boca Raton, FL.

8. APÊNDICE

Neste item estão incluídos a relação dos artigos publicados e/ou no prelo que abordam principais aspectos relacionados à biologia e ecologia do *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*, desenvolvidos em Roraima e Manaus (Região Norte) e Rio de Janeiro (Região Sudeste). Cabe ressaltar que estes trabalhos com *Aedes* foram publicados durante a vigência da tese de doutorado (2005-2009).

1. Honório NA, Castro MG, Barros FSM, Magalhães MAFM, Sabroza PC. *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* spatial distribution pattern in a habitat transition zone in Rio de Janeiro, Brazil. **2009**. *Cadernos de Saúde Pública* 25: 1203-1214.
2. Codeço CT, Honório NA, Ríos-Velásquez CM, Santos MCA, Mattos IV, Luz SB, Reis IC, Cunha GB, Rosa-Freitas MG, Tsouris P, Castro MG, Hayd RLN, Luitgards-Moura JF. **2009**. Seasonal dynamics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the northernmost state of Brazil: a likely port-of-entry for dengue virus 4 in the country. *Mem Inst Oswaldo Cruz* (no prelo).
3. Honório NA, Barros FS, Tsouris P, Rosa-Freitas MG. **2008**. *Toxorhynchites guadeloupensis* (Dyar & Knab) (Diptera: Culicidae) found in oviposition traps for *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) in Roraima, Brazilian Amazon. *Neotropical Entomology* 36(5):809-811.
4. Aguiar DB, Fontão A, Rufino P, Macedo VA, Ríos-Velásquez CM, Castro MG, Honório NA. **2008**. Primeiro registro de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em Roraima, Brasil. *Acta Amazônica* 38: 367-360.
5. Ríos-Velásquez CM, Honório NA, Codeço CT, Sabroza PC, Luz SB. **2007**. Distribution of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102(5): 617-623.
6. Lima-Camara TN, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R. 2007. Parity and ovarian development of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) in Metropolitan Rio de Janeiro. *Journal of Vector Ecology* 32(1): 34-40.