



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ILMD

INSTITUTO LEÔNIDAS
& MARIA DEANE
Fiocruz Amazônia

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA INTERAÇÃO
PATÓGENO HOSPEDEIRO
(PPGBIO - INTERAÇÃO)**

JAQUELINE CARVALHO DE OLIVEIRA SILVA

**OCORRÊNCIA DE ARBOVIROSES EM DUAS POPULAÇÕES
RIBEIRINHAS PERTENCENTES AO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ NO
AMAZONAS**

Manaus - AM

2023

JAQUELINE CARVALHO DE OLIVEIRA SILVA

**OCORRÊNCIA DE ARBOVIROSES EM DUAS POPULAÇÕES
RIBEIRINHAS PERTENCENTES AO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ NO
AMAZONAS**

Dissertação de mestrado ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro – PPGBIO INTERAÇÃO, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Biologia da Interação Patógeno Hospedeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luís Marcelo Aranha Camargo

Manaus - AM

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

S586o

Silva, Jaqueline Carvalho de Oliveira

Ocorrência de arboviroses em duas populações ribeirinhas pertencentes ao município de Humaitá no Amazonas. / Jaqueline Carvalho de Oliveira Silva. – Manaus: Instituto Leônidas e Maria Deane, 2023.

58 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Luís Marcelo Aranha Camargo.

1. Arbovírus 2. Zika vírus 3. Chikungunya vírus 4. Dengue I. Título

CDU 616.988(811.3)(043.3)

CDD 616.92098113

22. ed.

Elaborado por Ycaro Verçosa dos Santos - CRB-11 Nº 287

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda sua misericórdia e bondade, por renovar minhas forças todos os dias e por cumprir todas as Suas promessas para a minha vida.

Ao meu marido, Nathan Wesley Santos Silva, por todo seu amor, companheirismo, apoio e ajuda com aquilo que cabia ao seu conhecimento.

Ao meu filho, Théo de Oliveira Silva, que me faz querer ser uma pessoa melhor a cada dia e que me fez companhia em grande parte dessa jornada para obtenção desse título.

Aos meus pais, Renildo Rolim de Oliveira Silva e Simone Carvalho de Oliveira, que sempre se dedicaram a mim. O amor e carinho de vocês durante toda a minha vida foi essencial para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje. Obrigada por toda a dedicação de vocês.

Aos meus avós, tios e primos, que mesmo de longe sempre estão torcendo e orando por mim.

A minha prima Bárbara pela ajuda e confecção dos mapas.

Ao Professor Dr. Luís Marcelo Aranha Camargo, por todo ensinamento dado, paciência, orientações, atenção e acolhimento ao longo desses anos. Obrigada por acreditar em mim.

A todos os meus alunos, em especial a Cristhian Ribeiro, Igor Guadagnin, Igor Rodrigo, João Pedro Berno, Bruno Câmara, Hayslla Couto, Lohaine Lima e Tainara Costa, que direta e indiretamente me ajudaram nesse estudo. Obrigada por todo o esforço de vocês.

Ao Leormando Dornelas, parceiro de pesquisa, que me ajudou nas coletas de campo.

A UNINASSAU Vilhena e aos meus coordenadores, Michele Doimo e Normandis Cardoso Filho, pelo suporte e liberações em períodos fora de férias para que eu pudesse cumprir com compromissos da minha pesquisa.

Aos meus amigos, em especial a Camila Fontes, que sempre me incentiva nas minhas escolhas e por todo carinho.

Ao ILMD pela oportunidade de realizar esse curso de mestrado.

Ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP), pelo suporte laboratorial e a Ralyria Mello e Ana Karolina Antunes pelo apoio com os meus testes durante o período em que estive no ICB II.

Ao Instituto Nacional de Epidemiologia na Amazônia Ocidental – (INCT-EpiAmo) pelo financiamento dessa pesquisa.

A todos os participantes dessa pesquisa, que contribuíram para que a ciência seja continuada nesse país.

*Sonhos determinam o que você quer.
Ação determina o que você conquista.*

Aldo Novak

RESUMO

Introdução: As comunidades ribeirinhas da Amazônia são formadas por diferentes grupos sociais, habitando as áreas rurais às margens dos rios e lagos da Amazônia brasileira. Geralmente realizam deslocamento para as áreas urbanas através de transportes fluviais, estando expostos então a doenças urbanas como as arboviroses. No Brasil, atualmente, os vírus Dengue, Zika e Chikungunya são considerados emergentes, fazendo-se necessário a vigilância epidemiológica dessa população para esses vírus. **Método:** Estudo transversal, para detecção de anticorpos IgG e IgM contra os vírus Dengue, Zika e Chikungunya em amostras sorológicas humanas, além de análises moleculares para a presença desses vírus nessas amostras. Foram realizados também coletas entomológicas na busca de vetores locais para essas doenças. **Resultados:** Este estudo contou com 205 amostras sorológicas humanas, que apresentaram positividade de anticorpos para todos os vírus testados. O anticorpo mais prevalente foi o IgG contra o vírus dengue, estando presente em 85 indivíduos (41,4%). Nenhuma amostra sorológica humana apresentou positividade molecular. Nas análises entomológicas foram capturados 3.187 dípteros, sendo o gênero *Mansonia* o mais frequente. Não foram identificados *Aedes aegypt* e *Aedes albopictus* nas duas coletas realizadas. **Conclusões:** Os homens tiveram uma maior prevalência de anticorpos IgG para o vírus Dengue se comparado as mulheres. Quando comparadas as infecções por qualquer tipo de arbovírus pela faixa etária, os adultos possuem maior prevalência de infecção. Esses fatos podem ser justificados por serem os homens adultos que mais se deslocam para as áreas urbanas, ficando assim expostos a essas infecções.

Palavras-chave: Arbovírus; Ribeirinhos; Dengue; Zika; Chikungunya;

ABSTRACT

Introduction: Riverside communities in the Amazon are formed by different social groups, inhabiting rural areas on the banks of rivers and lakes in the Brazilian Amazon. They generally travel to urban areas by river transport, thus being exposed to urban diseases such as arboviruses. In Brazil, currently, Dengue, Zika and Chikungunya viruses are considered emerging, making epidemiological surveillance of this population necessary for these viruses. **Method:** Cross-sectional study to detect IgG and IgM antibodies against Dengue, Zika and Chikungunya viruses in human serological samples, in addition to molecular analysis for the presence of these viruses in these samples. Entomological collections were also carried out in the search for local vectors for these diseases. **Results:** This study included 205 human serological samples, which were positive for antibodies to all tested viruses. The most prevalent antibody was the IgG against the dengue virus, being present in 85 individuals (41.4%). No human serological sample showed molecular positivity. In entomological analyses, 3,187 dipterans were captured, with the genus *Mansonia* being the most frequent. *Aedes aegypt* and *Aedes albopictus* were not identified in the two collections carried out. **Conclusions:** Men had a higher prevalence of IgG antibodies to the Dengue virus compared to women. When comparing infections by any type of arbovirus by age group, adults have a higher prevalence of infection. These facts can be explained by the fact that it is adult men who move the most to urban areas, thus being exposed to these infections.

Keywords: Arbovirus; Riverside; Dengue; Zika; Chikungunya;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Transporte de deslocamento por via fluvial para as cidades próximas as comunidades ribeirinhas.	12
Figura 2. Unidade de Saúde Fluvial de Humaitá que realiza os atendimentos de saúde da região.....	13
Figura 3. Ciclo de transmissão dos arbovírus. Ciclo mantido por animais silvestres como reservatório (a), ciclo mantido por reservatórios humanos (b).....	17
Figura 4. Esquema representativo do realce dependente de anticorpos (ADE).	23
Figura 5. Mapa de localização das comunidades de estudo.	30
Figura 6. Armadilhas de ovitrampas posicionadas em região ribeirinha.	31
Figura 7. Armadilha para captura de mosquitos pela técnica de Shannon.....	31
Figura 8. Captura de mosquitos por aspirador de Nasci em mata fechada.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de Referência para interpretação dos resultados para o teste TR DPP® ZDC IgM/IgG.	33
Tabela 2. Primers utilizados no painel de arbovírus	34
Tabela 3. Primers utilizados no painel de arbovírus de RT-PCR convencional.....	35
Tabela 4. Dados sociodemográficos dos indivíduos participantes do estudo.	36
Tabela 5. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Dengue na população de estudo por sexo biológico.	37
Tabela 6. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Zika na população de estudo por sexo biológico.	37
Tabela 7. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Chikungunya na população de estudo por sexo biológico.	37
Tabela 8. Correlação de soroprevalência para as arboviroses testadas por condições socioeconômicas.	38

LISTA DE ABREVIações

Ae.	<i>Aedes</i>
ADE	Realce dependente de anticorpos
CHIKF	Febre Chikungunya
CHIKV	Vírus Chikungunya
Cx.	<i>Culex</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control</i>
CZS	Síndrome congênita do Zika Vírus
DC	Dengue clássica
DCs	Células dendríticas
DENV	Vírus do <i>Dengue</i>
DHF	Febre do dengue hemorrágica
DSS	Síndrome do choque associada ao dengue
ESFR	Equipes de Saúde das Famílias Ribeirinhas
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IMC	Índice de massa corporal
INF-γ	Interferon gama
INF-I	Interferon tipo I
LVCM	Laboratório de Virologia Clínica e Molecular
MAYV	Vírus Mayaro
OMS	Organização Mundial da Saúde
OROV	Vírus Oropouche
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido ribonucleico
RT-qPCR	PCR quantitativa em Tempo Real
SNC	Sistema nervoso central
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UBSF	Unidades Básicas de Saúde Fluviais
WNV	Vírus do Nilo Ocidental
YFV	Vírus da Febre Amarela
ZIKV	Vírus Zika
μL	Microlitros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GERAL	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1. ARBOVÍRUS	16
3.2. VETORES	17
3.3. VÍRUS DENGUE	20
3.4. VÍRUS ZIKA	24
3.5. FEBRE CHIKUNGUNYA	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. TIPO DE PESQUISA	29
4.2. LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA E POPULAÇÃO DE INTERESSE	29
4.3. COLETA DE VETORES	30
4.4. ANÁLISES SOROLÓGICAS PARA PESQUISA DE ANTICORPOS	32
4.5. ANÁLISES MOLECULARES	33
4.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	35
5. RESULTADOS	36
5.1. Análises sociodemográficas	36
5.2. Análises Imunológicas	37
5.3. Análises Entomológicas	38
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1. INTRODUÇÃO

A Bacia Amazônica possui mais de 7 milhões de quilômetros quadrados, sendo desses aproximadamente 5 milhões pertencentes a Amazônia brasileira, também chamada de Amazônia legal. Possui uma extensa área de florestas e rios, e uma baixa densidade demográfica, onde as populações que vivem em áreas rurais sofrem pelo isolamento e dificuldade ao acesso a saúde pública (ELLWANGER *et al.*, 2020; GAMA; SECOLI, 2020).

As comunidades ribeirinhas da Amazônia legal constituem-se em bases em diferentes grupos sociais, desde nativos, indígenas, migrantes nordestinos, estrangeiros e migrantes de outras regiões do país. Essas populações habitam áreas às margens de rios e lagos da Amazônia brasileira, tendo como renda a pesca, caça, agricultura familiar, garimpo e subsídios do governo federal, sendo carentes de recursos básicos de saneamento e dependentes do deslocamento às áreas urbanas para assistência à saúde e aquisição de bens (GAMA *et al.*, 2018; GUIMARÃES *et al.*, 2020).

O deslocamento até as áreas urbanas geralmente é por via fluvial, realizado com pequenas embarcações. Estas viagens geram custos aos ribeirinhos, sendo realizadas, geralmente, somente se houver necessidades. Esses contatos com a área urbana criam oportunidades para aquisições de doenças urbanizadas, porém para algumas doenças, os ribeirinhos só apresentam sintomas após retornarem às suas comunidades, onde não possuem assistência à saúde adequada (DE FIGUEIREDO JÚNIOR *et al.*, 2020; GARNELO *et al.*, 2020).

Figura 1. Transporte de deslocamento por via fluvial para as cidades próximas as comunidades ribeirinhas.



Fonte: SIQUEIRA, 2021

O acesso a assistência à saúde a essa população ribeirinha é realizada a partir da Política Nacional de Atenção Básica, implantada no Brasil desde 2011 pelas Portarias MS/GM nº 2.488 e 2.490, voltadas para a operacionalização e financiamento das ações de saúde realizadas pelas Equipes de Saúde das Famílias Ribeirinhas (ESFR), juntamente com as equipes das Unidades Básicas de Saúde Fluviais (UBSF) presentes na região amazônica, porém, pela grande dispersão demográfica e pelo enorme território de florestas e rios, são grandes as desigualdades de acesso a saúde dessa população se comparado a outras regiões no país (CASTRO *et al.*, 2020; GUIMARÃES *et al.*, 2020).

Figura 2. Unidade de Saúde Fluvial de Humaitá que realiza os atendimentos de saúde da região.



Fonte: Ribeiro, 2022.

Os arbovírus são vírus veiculados e transmitidos aos humanos por artrópodes, através da picada de insetos hematófagos. No Brasil os vírus mais prevalentes são o vírus do Dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV), sendo ambos transmitidos principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti*, que possui preferência por ambientes próximos à humanos, depositando seus ovos em águas paradas (limpas ou pouco poluídas). Em condições climáticas favoráveis, os mosquitos mostram maior longevidade, permitindo que as fêmeas aumentem sua alimentação e postura de ovos. (DA ROCHA TARANTO *et al.*, 2015; DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017)

Raramente o vírus Chikungunya, o vírus Dengue e o vírus Zika causam mortalidade, mas muitas vezes levam a muitos casos com doenças debilitantes. Os sintomas, associados, por exemplo, à infecção por CHIKV, podem ser crônicos e durar anos (HUANG; HIGGS; VANLANDINGHAM, 2019)

Por conta das rápidas mudanças climáticas, desmatamentos, migração populacional, ocupação desordenada do espaço urbano, globalização de intercâmbio internacional e fatores sociais e econômicos, dos quais se destaca a ausência de saneamento básico, as arboviroses representam importantes e constantes ameaças às regiões tropicais (LIMA-CAMARA, 2016).

Sendo assim, a vigilância de arboviroses, especialmente em regiões de difícil acesso a saúde e a tratamentos de qualidade, é claramente necessária para identificar as ameaças futuras que essas populações podem ter e traçar estratégias de prevenção e promoção de saúde para atender as necessidades locais.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Identificar a ocorrência de arboviroses em duas populações ribeirinhas pertencentes ao município de Humaitá no Amazonas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar a soroprevalência de arboviroses comumente urbanas em populações ribeirinhas do Amazonas.

Verificar a frequência de positividade para anticorpos IgG e IgM contra ZIKV, CHIKV e DENV nas amostras analisadas;

Estudar os aspectos de idade, sexo e local de moradia na ocorrência das arboviroses;

Realizar análises moleculares para pesquisa de RNA viral, para os vírus ZIKV, CHIKV, DENV, MAYV E OROV.

Identificar a presença de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, vetores de arboviroses comumente urbanas, em regiões ribeirinhas;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. ARBOVÍRUS

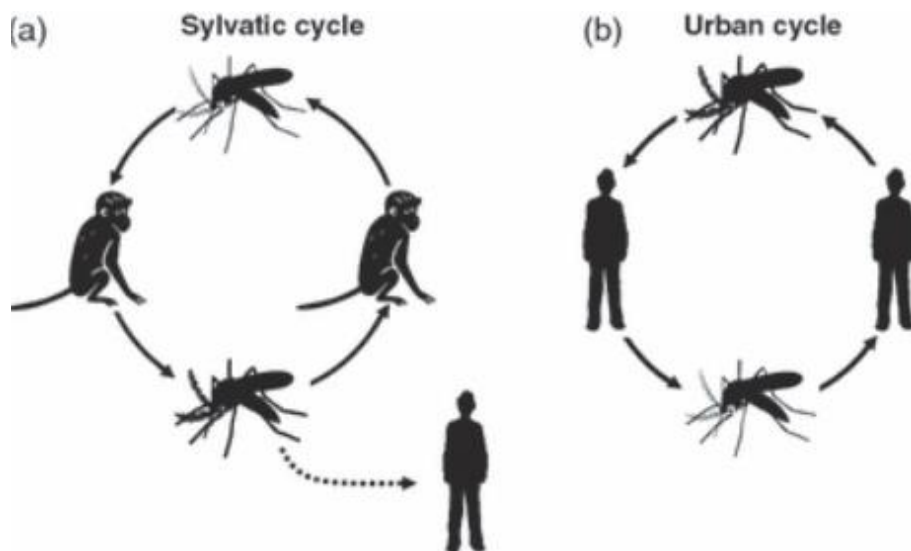
Os vírus transmitidos por artrópodes, denominados arbovírus (*arthropod-borne virus*), possuem os requisitos de infectar invertebrados e vertebrados, servindo esse último como reservatório, se distinguindo ecologicamente de outros patógenos. Durante o repasto sanguíneo realizado pelo artrópode, partículas virais circulantes no sangue dos hospedeiros infectados são levadas para o intestino médio, dando início a infecção no mosquito. Os vírus então invadem a barreira epitelial intestinal para estabelecer sua infecção nas células epiteliais e posteriormente os arbovírus se espalham para a hemolinfa na hemocele do mosquito. Após uma replicação robusta nas glândulas salivares do mosquito, os vírus se tornam prontos para transmissão na próxima refeição de sangue do mosquito, que transmite os vírus por injeção intradérmica das partículas infecciosas nos hospedeiros, juntamente com algumas proteínas da saliva do mosquito (HUANG; HIGGS; VANLANDINGHAM, 2019; WU *et al.*, 2019).

A maioria dos arbovírus possuem um genoma constituído por ácido ribonucléico (RNA), se apresentando de forma variada, sendo fita simples ou fita dupla. Acredita-se que a grande variabilidade genética proporcionada pelas características da molécula de RNA permite a propagação destes vírus em hospedeiros vertebrados e invertebrados, uma vez que o RNA possui uma alta taxa de mutação durante a seu processo de replicação (CIOTA, 2019; OGUNLADE *et al.*, 2021).

São pertencentes às famílias *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Bunyaviridae*, *Rhabdoviridae* e *Reoviridae*. Existem mais de 140 arbovírus diferentes que infectam ao homem, e deste os mais importantes incluem o vírus do Dengue (DENV), vírus Zika (ZIKV), vírus Chikungunya (CHIKV) vírus da Febre Amarela (YFV), vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus Mayaro (MAYV) e vírus Oropouche (OROV). No Brasil, atualmente, o DENV, ZIKV e CHIKV são os mais emergentes (CIOTA, 2019; WU *et al.*, 2019; YOUNG, 2018).

Arbovírus urbanos como os DENV 1, 2, 3 e 4 (DENV 1-4), CHIKV e ZIKV, possuem potencial de infectar animais selvagens e transferir para ciclos de manutenção silvestres na América do Sul. O ZIKV e CHIKV foram inicialmente encontrados em primatas africanos, sendo transmitidos por mosquitos que habitam a copa das árvores. Os DENV 1-4 eram originalmente vírus de primatas do Sudeste Asiático que também eram transmitidos por esses mosquitos. Esses vírus se adaptaram e começaram a ser transmitidos por mosquitos antropofílicos, como *Aedes aegypti*, e usar o homem como reservatório. Os ciclos de manutenção urbana permitiram sua disseminação em áreas tropicais do mundo causando epidemias (FIGUEIREDO, 2019).

Figura 3. Ciclo de transmissão dos arbovírus. Ciclo mantido por animais silvestres como reservatório (a), ciclo mantido por reservatórios humanos (b).



Fonte: (PETERSEN; BUSCH, 2010)

3.2. VETORES

Os dois principais vetores de arboviroses no Brasil são o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, estando presentes em regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo que suas distribuições aumentaram muito nos últimos anos, influenciadas principalmente pelas alterações climáticas, urbanizações e conexões entre países cada vez mais facilitada pelas viagens (KAMAL *et al.*, 2018; KRAEMER, Moritz UG *et al.*, 2015; LETA *et al.*, 2018).

Essas duas espécies são pertencentes à família Culicidae, subfamília Culicinae. *Ae. aegypti* tem origem na África subsaariana, sendo inicialmente uma

espécie silvestre. Acredita-se que foi introduzida nas Américas por meio de navios logo após a chegada dos europeus em 1500. A espécie se adaptou, foi domesticada e agora é endêmica nas Américas e na Ásia. O alcance de *Ae. albopictus* foi restrito à Ásia até a última parte do século 20. Pode ter sido introduzido no hemisfério ocidental através de um carregamento de pneus usados em 1985 e expandiu seu território para mais de 40% da massa terrestre do mundo ao longo dos últimos 30 anos (JONES *et al.*, 2020).

Diferente da maioria dos mosquitos, *Aedes*. sp. possuem hábitos diurnos, utilizando como criadouro os reservatórios artificiais como pneus, latas, vasilhames, pratos de vasos de plantas e caixas d'água, porém, podem também utilizar recipientes naturais como bromélias e buracos em árvores. A fêmea, após o repasto sanguíneo, procura esses locais para depositar seus ovos, preferencialmente acima da linha d'água. Seus ovos possuem ainda uma resistência ao dessecação, ficando viáveis por um longo período mesmo em ambientes secos. Quando entram em contato com a água segue o seu ciclo evolutivo (KRAEMER *et al.*, 2019).

Há uma ampla concordância de que o ZIKV é transmitido por *Aedes aegypti* tanto em laboratório quando em campo e que essa espécie possui uma grande competência vetorial. Por competência Vetorial entende-se a capacidade de ser infectado e transmitir um patógeno. (AYLLÓN *et al.*, 2017; CEVALLOS *et al.*, 2018; GUERBOIS *et al.*, 2016; WEGER-LUCARELLI *et al.*, 2016). Apesar da taxa de infecção do *Ae. albopictus* pelo ZIKV ser menor, se comparado a outros arbovírus também transmitidos por essa espécie, este também é considerado um competente vetor para essa arbovirose (MCKENZIE; WILSON; ZOHDY, 2019).

O'Donnell e colaboradores (2017), identificaram em populações de *Aedes vexans*, coletados nas Grandes Planícies da América do Norte, que estes são fisiologicamente capaz de se infectar oralmente e transmitir o vírus Zika, e que poderiam ser potenciais vetores de ZIKV em locais onde *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* não conseguem se desenvolver.

A grande maioria dos estudos para identificação de competência vetorial de ZIKV por *Culex quinquefasciatus*, demonstra que este mosquito é refratário ao vírus, uma vez que a replicação viral é bloqueada no intestino médio e glândulas salivares

do mosquito. Sendo assim este não seria competente enquanto vetor do ZIKV (ELIZONDO-QUIROGA *et al.*, 2019; FERNANDES *et al.*, 2017; FERREIRA-DE-BRITO *et al.*, 2016; MACLEOD; DIMOPOULOS, 2020; MAIN *et al.*, 2018; ROUNDY *et al.*, 2017). Porém, Guedes *et al.* (2017), fizeram o primeiro registro no Brasil de possível competência vetorial de *Cx. quinquefasciatus*, infectado em laboratório, com posterior identificação de RNA em suas glândulas salivares por RT-qPCR. Guo *et al.* (2016), na China, também identificaram a presença de ZIKV em glândulas salivares de *Cx. quinquefasciatus*, e ainda comprovaram a capacidade de transmissão desses para ratos em experimentos laboratoriais. Esses resultados controversos são esperados e podem ser devido as diferenças na combinação de genótipos de mosquito e vírus usados em ensaios de alimentação artificial de sangue.

Recentemente Alencar *et al.* (2021), identificaram infecções naturais e transmissão vertical de ZIKV em *Haemagogus leucocelaenus*. Esse vetor é adaptado a ambientes urbanos e rurais e de grande importância na distribuição de outras arboviroses como a Febre Amarela, possuindo ampla distribuição geográfica (ABREU *et al.*, 2019; ALENCAR *et al.*, 2016).

Inúmeros estudos comprovam a capacidade vetorial de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em transmitir DENV experimentalmente e a infecção também é observada em mosquitos coletados no campo (AMOA-BOSOMPEM *et al.*, 2021; ARAGÃO *et al.*, 2019; BOYLES *et al.*, 2020; DOS REIS *et al.*, 2019; FERREIRA-DE-LIMA; LIMA-CAMARA, 2018; MARTINS, Victor Emanuel Pessoa *et al.*, 2012; MEDEIROS *et al.*, 2018; WEI *et al.*, 2021). Há também um registro de populações de campo de *Cx. quinquefasciatus* infectados por DENV, porém sem comprovações de sua capacidade vetorial competente (SERRA *et al.*, 2016).

Para CHIKV o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* possuem registros de capacidades vetoriais experimentais e também detecções de mosquitos infectados capturados em campo (ARAGÃO *et al.*, 2018; BOHERS *et al.*, 2020; CEVALLOS *et al.*, 2018; DÍAZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2015; DZUL-MANZANILLA *et al.*, 2015; NUCKOLS *et al.*, 2015). Também foram realizados experimentos com *Haemagogus leucocelaenus* e *Aedes terreus* que se mostraram competentes como vetores do CHIKV (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA; FAILLOUX, 2017).

Tanto DENV e ZIKV possuem registros de infecções verticais naturais e experimentais documentadas, porém o CHIKV possui somente documentações de infecções verticais experimentais. Essas infecções verticais possibilitariam a permanência do vírus nos mosquitos mesmo que em áreas não endêmicas, dificultando assim o controle dessas doenças (ALENCAR *et al.*, 2021; CHOMPOOSRI *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2018; FERREIRA-DE-LIMA *et al.*, 2020; FERREIRA-DE-LIMA; LIMA-CAMARA, 2018; MEDEIROS *et al.*, 2018; SMARTT *et al.*, 2017).

3.3. VÍRUS DENGUE

O DENV pertence à família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus*, possuindo 4 subtipos diferentes (DENV 1, 2, 3 e 4), sendo apontada como a arbovirose mais prevalente no mundo e com grande estimativa de infecções subnotificadas, pois muitos países notificam apenas casos confirmados por laboratório, que representam apenas uma pequena proporção da carga total (BEGUM *et al.*, 2019; LETA *et al.*, 2018).

Os DENVs foram encontrados na década de 1960 em menos de 10 países endêmicos e apenas alguns milhares de casos foram relatados a cada ano. Em contraste, em 2017, o vírus se tornou endêmico em 124 países, causando cerca de 400 milhões de infecções anuais e 100 milhões de casos sintomáticos (GIRARD *et al.*, 2020)

Por ser do gênero *Flavivirus* possui RNA de fita simples positiva. O DENV apresenta uma estrutura icosaédrica com superfície densamente coberta com glicoproteínas E e proteínas M e um núcleo constituído pela proteína C do capsídeo. Além disso apresenta sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5). A proteína E possui capacidade de se ligar a inúmeros receptores celulares para dar início a entrada do vírion na célula, possuindo 3 domínios (EDI, EDII e EDIII). O domínio E-DIII do vírion tem importante papel no reconhecimento celular, sendo este um dos alvos das vacinas em desenvolvimento. Os principais receptores celulares que a proteína E possui tropismo são os carboidratos, lectinas e receptores celulares de claudina-1. Após adentrar a célula o material genético do vírus é exposto ao citoplasma celular e o vírus irá se replicar utilizando a maquinaria da célula infectada (KHETARPAL; KHANNA, 2016; LAURETI *et al.*, 2018; VAN LEUR *et al.*, 2021).

A célula infectada secreta a proteína NS1 que irá circular na corrente sanguínea do hospedeiro com papel de evasão imune, por conseguir se ligar e desencadear a degradação da proteína C4 do sistema complemento e ativação do sistema complemento, desencadeado parte da patogenicidade. Além disso, na corrente sanguínea, a NS1 tem papel ativando diretamente a hiperpermeabilidade endotelial, bem como induzindo a liberação de citocinas vasoativas de células mononucleares do sangue periférico. Dentro da célula infectada a NS1 tem função de auxílio para a replicação e montagem viral (PUERTA-GUARDO *et al.*, 2019).

A febre dengue, doença desencadeada pelo DENV, apresenta sinais e sintomas variados, a depender da cepa do vírus e sua virulência, idade do indivíduo, sexo, índice de massa corporal (IMC) elevado, estado imunológico e genética do hospedeiro, variando de uma síndrome semelhante à gripe leve, conhecida como dengue clássica (DC), porém, o hospedeiro pode sofrer agravos, como a chamada febre do dengue hemorrágica (DHF) (SANTOS SOUZA; DA SILVA ALMEIDA; BOSCARDIN, 2016).

Originalmente a OMS classificou o dengue como dengue, dengue hemorrágica e Síndrome do choque associada ao dengue. Em 2009, a OMS revisou as suas classificações, distinguindo agora entre dengue grave e não grave. O dengue grave também é conhecida como síndrome do choque do dengue. O dengue não grave inclui os quadros não confirmados, dengue sem sinais de alerta e as com sinais de alerta, que anteriormente eram determinadas como hemorrágicas. Além disso, a OMS reconhece agora três fases no curso da infecção, sendo a primeira fase chamada de febril, a segunda de crítica e a última de recuperação (VERHAGEN; GROOT, 2014)

As primeiras células infectadas pelo DENV são células imunes, como as células dendríticas (DCs), monócitos e macrófagos. As células transportam os antígenos fagocitados até os linfonodos regionais para ativação do sistema imune adaptativo, porém, nesse momento o vírus se multiplica intensamente dentro dessas células e se distribui sistemicamente, seguido por infecção sistêmica do fígado, pulmões e baço (VAN LEUR *et al.*, 2021).

A depender do sistema imune do paciente, esse irá responder adequadamente e desenvolver imunidade adaptativa com consequente resolução da doença, caso

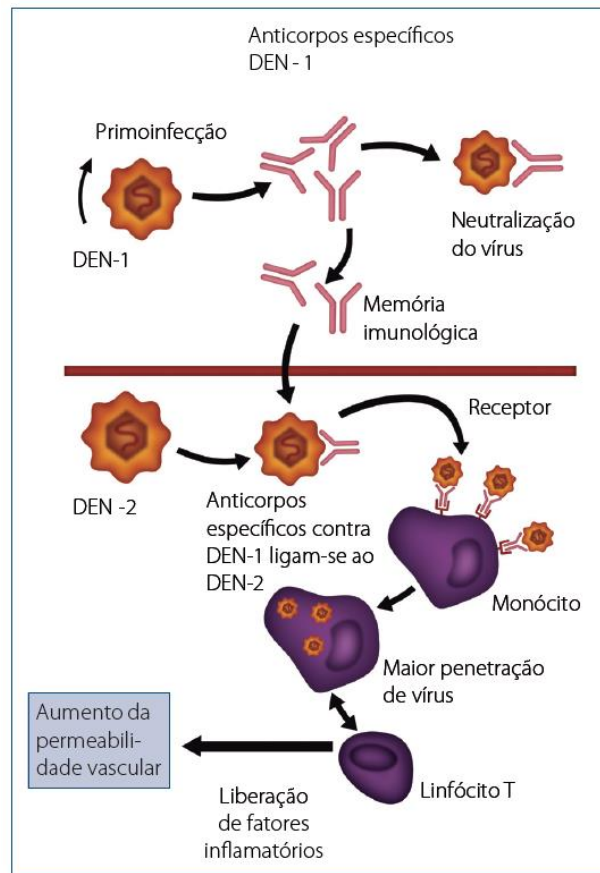
contrário ocorre o agravamento para a DHF. A DC apresenta quadros variáveis, sendo os principais sintomas a febre alta, cefaleia, mialgia, artralgia e exantemas. O quadro clínico de DC pode ainda apresentar hepatomegalia dolorosa e vômitos. Os sintomas gerais de febre e mal-estar relacionam-se à presença, em níveis elevados, de citocinas inflamatórias séricas, como TNF- α , IL-6 e IFN- γ . As mialgias relacionam-se, em parte, à multiplicação viral no próprio tecido muscular, inclusive o tecido oculomotor é acometido, produzindo cefaleia retrorbitária (VERONESI; FOCACCIA, 2015)

O controle da infecção primária inicialmente se dá pela imunidade inata e celular, posteriormente anticorpos do tipo IgM se tornam detectáveis próximo ao quarto dia após o início dos sintomas, atingindo altos níveis por volta do sétimo ou oitavo dia e posteriormente a isso um declínio lento, ficando indetectáveis após alguns meses. Os anticorpos IgG no início da infecção são produzidos em níveis baixos e a partir da primeira semana de sintomas se elevam, atingindo altos valores em duas a três semanas, ficando detectáveis por vários anos, conferindo imunidade contra o sorotipo infectante, provavelmente por toda a vida (HALSTEAD, 2019).

O EDIII de cada um dos quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV3, DENV-4) induz anticorpos fortemente neutralizantes, que são amplamente sorotipo específico. Já o EDI, EDII e a proteína M induzem respostas cruzadas fraca entre os sorotipos do dengue. Acreditasse que essa reação cruzada faça com que o vírus tenha um acesso facilitado as células do hospedeiro via receptor Fc, como uma via alternativa durante uma infecção secundária com um sorotipo heterólogo, levando ao aumento da infecção pela disponibilidade de mais células do sistema imune. Este fenômeno é conhecido como realce dependente de anticorpos (ADE) (KHETARPAL; KHANNA, 2016).

Sendo assim, DHF e a Síndrome do choque do dengue (DSS) ocorrem mais frequentemente em indivíduos com imunidade monotípica durante uma segunda infecção heterotípica por DENV. Casos graves também ocorrem (com pouca frequência) em infecções primárias. Por outro lado, a terceira e quarta infecções por DENV são tipicamente leves ou assintomática (GUZMAN *et al.*, 2016)

Figura 4. Esquema representativo do realce dependente de anticorpos (ADE).



Fonte: (VERONESI; FOCACCIA, 2015)

A forma mais grave possui no início sintomas semelhantes a da DC, porém com agravamento do quadro no terceiro a quarto dia, com coagulopatias, extravasamento do plasma para espaços intersticiais, hemoconcentração aumentada, hipoproteinemia, derrame pleural, ascite e hemorragias, podendo levar a um choque hipovolêmico (BEGUM *et al.*, 2019; CHONG *et al.*, 2019; MUSTAFA *et al.*, 2015).

Os monócitos infectados expressam antígenos de dengue na sua membrana, induzindo fenômenos de eliminação imune por linfócitos T CD4+ e CD8+ citotóxicos. Os macrófagos, ativados pelos linfócitos e agredidos ou lisados pelas células citotóxicas, liberam tromboplastina, que inicia os fenômenos da coagulação e, também, liberam proteases ativadoras do complemento, causadoras da lise celular. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), de origem macrófagica e linfocitária, foi observado em níveis elevados, em casos graves, pois esse afeta células inflamatórias e endoteliais, contribuindo para a trombocitopenia e induzindo a produção de IL-8 e

umentando a permeabilidade vascular (KHETARPAL; KHANNA, 2016; VERONESI; FOCACCIA, 2015)

As células do estroma da medula óssea demonstraram ser suscetíveis à infecção com DENV, com isso podendo desencadear plaquetopenia e plaquetopatia, pois durante a fase aguda febril da DHF, a medula óssea apresenta-se hipocelular, com redução de todas as linhagens celulares, devido à ação direta viral sobre as células do estroma medular e sobre as células progenitoras hematopoéticas (CHUANSUMRIT; TANGNARARATCHAKIT, 2006; MARTINA; KORAKA; OSTERHAUS, 2009; ZAPATA; COX; SALVATO, 2014).

Além das complicações do dengue grave, o dengue também pode apresentar sintomas atípicos, como complicações neurológicas, sendo mais observado em crianças, com ampla variedade de manifestações do SNC, com alterações de consciência, cefaleia, convulsões e sinais meníngeos (PRABHAT *et al.*, 2020; SIPS; WILSCHUT; SMIT, 2012)

3.4. VÍRUS ZIKA

O ZIKV também pertence à família *Flaviviridae*, está presente em mais de 120 países das regiões tropicais e subtropicais, emergindo principalmente em áreas urbanas pobres e porções periféricas do mundo. Foi isolado pela primeira vez em macaco Rhesus, em 1947, na Floresta Zika, em Uganda, já em humanos, o isolamento foi confirmado na Nigéria em 1952. A sua principal forma de transmissão é pelo vetor, porém, há registros de transmissão sexual, saliva, leite materno, urina, transfusão sanguínea e de forma vertical da mãe para o feto (FAIZAN *et al.*, 2016; LIMA-CAMARA, 2016).

Em seus primeiros surtos significativos, em 2007 na Ilha Yap nos Estados Federados da Micronésia, apresentou somente sintomas leves e de curta duração. O segundo surto registrado ocorreu na Polinésia Francesa em 2013-2014, com algumas das infecções sendo associadas a síndrome de Guillain-Barré. No ano de 2015, no Brasil, foi associado a um aumento nos casos de microcefalia e permaneceu se espalhando pela América do Sul e Central. Em 2016 foi declarado como “Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional”, pela OMS (LIN *et al.*, 2018).

Além da transmissão vetorial e vertical, o ZIKV possui suspeita de transmissão sexual. Em 2008 um cientista que adquiriu a infecção durante uma viagem, e após retornar para sua cidade sem registros de casos, apresentou sintomas da doença além de prostatite e hematospermia, além disso, sua esposa também apresentou sintomas compatíveis. Os dois confirmaram ter tido relações sexuais um dia após o retorno do cientista e ambos tiveram o diagnóstico confirmado por testes laboratoriais. Outros estudos fizeram o isolamento de ZIKV por RT-qPCR em sêmens do homens com infecção pela doença (MUSSO; GUBLER, 2016).

O vírus possui uma estrutura simétrica, com núcleocapsídeo icosaédrico envelopado. Seu genoma é de RNA fita simples, codificando três proteínas estruturais sendo a proteína do capsídeo (C), pré-membrana (Pr-M) e do envelope (E), e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5). A proteína E é o principal componente envolvido na ligação aos receptores celulares, fusão de membrana e de reconhecimento imunológico do hospedeiro. Semelhando aos outros flavivírus, a proteína E do ZIKV possui quatro domínios, sendo o primeiro o domínio transmembrana, seguido dos domínios I, II e III (POLONIO; PERON, 2021; SHI; GAO, 2017).

As células de tropismo do vírus são os fibroblastos dérmicos humanos, queratinócitos epidérmicos e células dendríticas. Além disso células do sistema reprodutivo masculino, células da retina, do córtex cerebral e hipocampo também podem ser infectadas. A replicação do vírus ativa resposta imune antiviral, produção de INF-I em células infectadas e células T são ativadas durante a fase aguda da febre Zika (AGRELLI *et al.*, 2019; CHRISTIAN; SONG; MING, 2019; MUSSO; GUBLER, 2016).

Apresenta na grande maioria das vezes uma infecção assintomática. Habitualmente os sintomas são inespecíficos, como febre baixa, mialgia, artralgia, acometendo principalmente mão, joelho e tornozelo. É comum também o exantema maculopapular, frequentemente acompanhado de prurido e conjuntivite não purulenta. Outras manifestações também podem ser notadas como anorexia, náuseas, vômitos, vertigem e cefaleia. Na maioria dos pacientes, os sintomas são usualmente leves e apresentam resolução espontânea após cerca de 2 a 7 dias, porém graves

complicações neurológicas como microcefalia em recém-nascidos e síndrome de Guillain-Barré (BAUD *et al.*, 2017; LEE; NG, 2018; SHARMA *et al.*, 2020).

O vírus tem como alvo cérebros imaturos, como as células progenitoras neurais humanas específicas do prosencéfalo, células embrionárias do feto e os organoides cerebrais embrionários, levando à necrose celular e desregulação cíclica celular, desencadeando a síndrome congênita do ZIKV (CZS) em fetos infectados durante a gravidez. As complicações neurológicas graves são de microcefalia, lisencefalia, ventriculomegalia e calcificações corticais, associadas ou não à artrogripose, restrição de crescimento intrauterino, uveíte e degeneração da retina (BRASIL *et al.*, 2016; PIELNAA *et al.*, 2020; POLONIO *et al.*, 2017; VENTURA *et al.*, 2016).

A síndrome de Guillain-Barré é uma doença autoimune, desencadeada por uma inflamação nos nervos periféricos e leva à fraqueza e paralisia muscular. A resposta imune é de extrema importância para combater a infecção, mas também pode estar associada a indução dessa doença autoimune, produzindo anticorpos neutralizantes contra o ZIKV que age por mimetismo molecular nos glicolipídios dos nervos periféricos, induzindo lesão da mielina e membranas axonais, levando ao desmielinização inflamatória (FERRARIS; YSSEL; MISSÉ, 2019; WEAVER *et al.*, 2016).

3.5. FEBRE CHIKUNGUNYA

O CHIKV pertence à família *Togaviridae*, sendo do gênero *Alphaviridae*. Foi isolado pela primeira vez na Tanzânia em 1952. Ao contrário do DENV, que pode causar infecção assintomática, a maioria dos indivíduos com infecção por CHIKV são sintomáticos, sendo que seu nome deriva da palavra *Makonde* que significa “aquilo que se dobra” ou “se contorce” referindo-se à postura curvada dos pacientes infectados (GANESAN; DUAN; REID, 2017; VU; JUNGKIND; ANGELLE DESIREE LABEAUD, 2017).

Este vírus possui formato esférico envelopado, com genoma de RNA fita simples positiva, empacotada pela proteína C, formando o nucleocapsídeo. O envelope é uma bicamada lipídica derivada da célula hospedeira, com duas glicoproteínas transmembranares, E1 e E2, podendo ser classificado em três linhagem genéticas com base nas sequências do gene E1. Além disso, possui quatro

proteínas não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3 E NSP4) (BARR; VAIDHYANATHAN, 2019; BARRETO-VIEIRA *et al.*, 2021).

Além da transmissão vetorial o CHIKV possui transmissão congênita, sendo essa indicada quando a viremia e os sintomas estão presentes nas mães pelo menos uma semana a várias semanas antes do parto. Anteriormente as infecções por CHIKV eram menos graves e mais limitadas, porém nos dias de hoje, já evoluíram para manifestações graves nos fetos e neonatos. Essa mudança pode estar relacionada a mudança no genótipo viral ao longo dos anos. A encefalite neonatal, como consequência da transmissão vertical, foi observada, por exemplo, durante a epidemia brasileira em 2016 (BARR; VAIDHYANATHAN, 2019; SILVA *et al.*, 2018)

A proteína viral que facilita a ligação com a célula de tropismo é a glicoproteína E2, essa proteína possui tropismo por células epiteliais e endoteliais humanas, fibroblastos primários e macrófagos. Posteriormente a infecção, são levadas para os linfonodos e se distribuem sistemicamente e se replicam nos tecidos. O desenvolvimento da resposta imune se dá pela produção de INF-I pelas células não hematopoiéticas, principalmente os fibroblastos. Posteriormente os linfócitos CD8+ são encontrados nas erupções cutâneas em pacientes agudos e as CD4+ são predominantes nos derrames sinoviais de pacientes crônicos (GANESAN; DUAN; REID, 2017)

Esse vírus possui um tempo de incubação de 4 a 7 dias e causa a chamada Febre Chikungunya (CHIKF), que é caracterizada por febre alta, erupção cutânea, cefaleia, poliartralgia grave e mialgia, sendo semelhante as demais arboviroses aqui abordadas, porém, após a fase aguda, a doença é frequentemente seguida por sintomas crônicos de dor articular episódica e debilitante, com inchaço e fadiga articular. Estudos indicam que 50% das pessoas que adquirirem a CHIKF irão sentir dores crônicas (PEREIRA e SCHOEN, 2017; GANESAN, DUAN e REID, 2017).

A fase aguda pode se apresentar também de forma grave, com falência cardíaca e de múltiplos órgãos. A sepse viral e o choque séptico associados à febre Chikungunya também podem ser fatais. Pode também resultar em complicações neurológicas, com mortalidade frequentemente associada a doenças do sistema nervoso central (SNC), incluindo encefalite e encefalopatia (SUHRBIER, 2019)

A forma crônica da doença pode se apresentar com artralgia e/ou artrite, alopecia e depressão. Esta forma está associada a altos níveis de IL-6 e IL-12 circulantes. A IL-6 é expressa especificamente nas articulações afetadas e pode inibir a ação de seu receptor osteoprotegerina, liberada pelos osteoblastos, resultando em osteoclastogênese e perda óssea severa, como foi demonstrado em camundongos. Essa doença crônica pode persistir por anos em alguns pacientes e é altamente prejudicial à saúde e qualidade de vida (ZAID *et al.*, 2018).

Embora os sintomas neurológicos sejam incomuns, eles podem ser graves, particularmente em recém-nascidos. O cérebro tem vários métodos para combater a infecção por CHIKV. Modelos de camundongos demonstraram que astrócitos e oligodendrócitos eram particularmente suscetíveis à infecção, enquanto as células microgliais eram mais resistentes. Em resposta ao CHIKV, as células microgliais produzem citocinas e moléculas pró-apoptóticas, incluindo IL-12, IFN- α e TNF- α (SUHRBIER, 2019).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

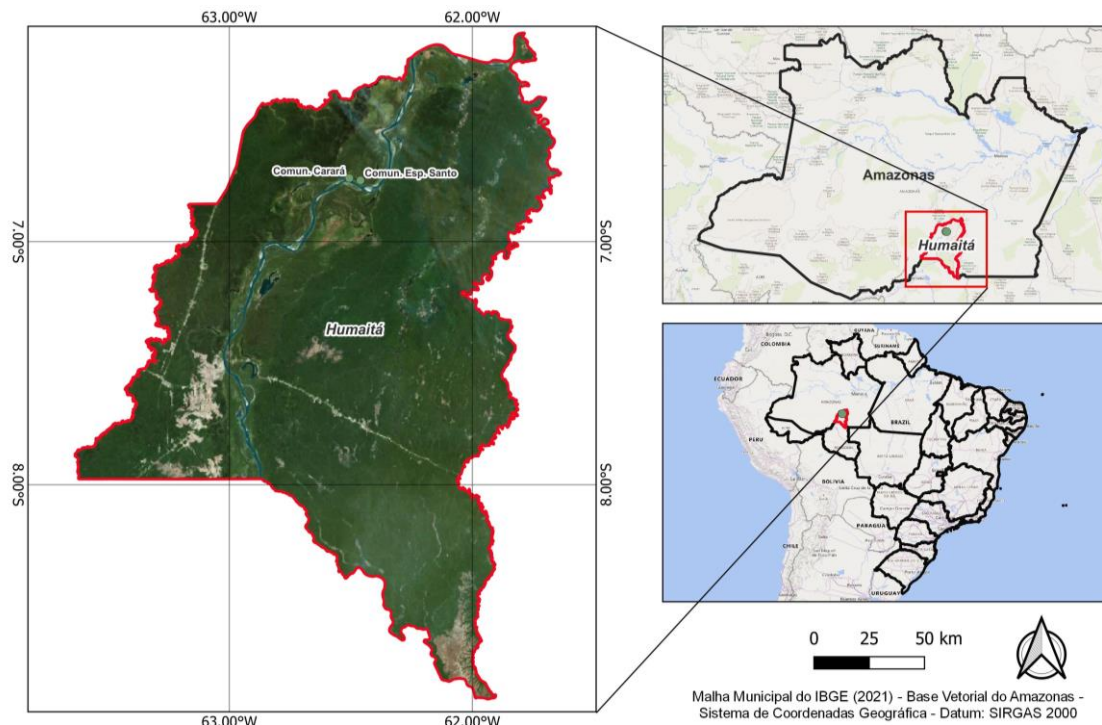
4.1. TIPO DE PESQUISA

Trata-se de um estudo transversal, realizado através da análise de amostras sorológicas para detecção de anticorpos IgG e IgM contra DENV, ZIKV e CHIKV e análises moleculares para pesquisa de RNA viral. Essas amostras foram coletadas durante ações assistenciais à saúde em 2019 e 2020, sendo na época coletadas para a realização de exames bioquímicos rotineiros, em duas comunidades ribeirinhas do estado do Amazonas. Na ocasião, os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) autorizando o armazenamento e utilização das sobras das amostras para a realização de futuros projetos de pesquisa, as amostras encontram-se armazenadas no biorrepositório do Instituto de Ciências Biomédicas da USP (Núcleo de Rondônia) e os dados clínico-epidemiológicos estão armazenados em banco de dados *Red Cap*. Além disso, foram feitas duas vigilâncias entomológicas nessas comunidades para identificação da presença de vetores dos arbovírus do estudo.

4.2. LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA E POPULAÇÃO DE INTERESSE

As comunidades ribeirinhas do estudo fazem parte do município de Humaitá-AM e encontram-se as margens do rio Madeira, sendo elas comunidade Carará (6°44'40.6"S 62°30'16.0"W) e comunidade Espírito Santo (6°46'10.6"S 62°27'30.6"W). O acesso as comunidades é somente por via fluvial. A população de estudo é composta por crianças acima de 3 anos, adultos e idosos, que tiveram seus dados e amostras coletadas durante as expedições de assistência em saúde local. Foram descartadas as amostras que não possuíam quantidade suficiente de material para realização dos testes inclusos no estudo ou que não possuíam registro completo no banco de dados *Red Cap*.

Figura 5. Mapa de localização das comunidades de estudo.



4.3. COLETA DE VETORES

Para a captura de larvas e ovos de Culicidae foram utilizadas armadilhas de oviposição, conhecida como ovitrampa, descrita pela primeira vez por Fay e Perry (1965), sendo utilizado um recipiente preto com uma palheta de madeira em seu interior, preenchendo o recipiente até a metade com água e deixando parte da palheta fora da água. Ainda nas ovitrampas foram utilizadas infusões com feno, para melhorar o desempenho da armadilha, aumentando a atração do *Ae. aegypt* (CHADEE *et al.*, 1993).

Para captura de espécimes adultos, diferentes técnicas foram utilizadas. A técnica de Shannon (SHANNON, 1939), consiste na utilização de tendas retangulares de tecido branco, fechadas nas laterais e superior, ficando somente a parte inferior aberta. Deve ser montada suspensa, em média a 30 cm do solo, para permitir a entrada dos insetos. Pode ser utilizada durante o dia ou no período noturno com o acréscimo de uma fonte de luz branca para atração dos mosquitos. Após atração os espécimes foram capturados pelos pesquisadores por aspiradores. Os mosquitos também foram atraídos pela armadilha luminosa de CDC (*Centers for Disease Control*) (SUDIA; CHAMBERLAIN, 1988). Essa técnica utiliza uma atração luminosa,

sendo ligadas ao anoitecer e vistoriadas pela manhã. Quando os insetos se aproximam da armadilha são sugados para o interior dela, graças a presença de uma ventoinha com corrente de ar gravitacional. Os insetos ficam armazenados vivos dentro da armadilha.

Figura 6. Armadilhas de ovitrampas posicionadas em região ribeirinha.

Fonte: Fonte:



SILVA e SIQUEIRA, 2022.

Figura 7. Armadilha para captura de mosquitos pela técnica de Shannon



Fonte: Fonte: SILVA e SIQUEIRA, 2022.

Também foram utilizadas capturas de espécimes adultos por aspirador de Nasci (NASCI, 1981), que consiste na aspiração por busca ativa com um cilindro de alumínio e no seu interior um motor e um ventilador, na extremidade há um tecido transparente que armazena os mosquitos sugados.

Figura 8. Captura de mosquitos por aspirador de Nasci em mata fechada.



Fonte: SILVA e SIQUEIRA, 2022.

Para identificação entomológica de Culicinae foram utilizadas chaves de identificações de gêneros e espécies (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002). As análises foram realizadas durante as expedições de capturas nas comunidades ribeirinhas e em laboratórios da FIOCRUZ/RO.

4.4. ANÁLISES SOROLÓGICAS PARA PESQUISA DE ANTICORPOS

Para a pesquisa de anticorpos IgG e IgM contra os vírus do estudo, foram utilizados testes imunocromatográficos da Bio-Manguinhos, o TR DPP® ZDC IgM/IgG, que utiliza plataforma de duplo recurso. Como princípio, esse teste utiliza uma combinação de antígenos de vírus Zika, Dengue e Chikungunya ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e conjugado de proteína 'A' com partículas de ouro coloidal. A amostra deve ser diluída e em seguida aplicada ao poço "Amostra + Tampão". O tampão propicia o fluxo lateral na direção das duas janelas,

promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos (IgM na janela superior e IgG na janela inferior). Após a migração da solução (tampão + amostra) ao longo do suporte de teste, um tampão de corrida deve ser adicionado ao poço 2. O conjugado se liga ao complexo antígeno-anticorpo nas áreas TESTE (T1, T2, T3) superior e inferior produzindo uma linha (roxa/ rosa) nesta área. Na ausência de anticorpos para vírus Dengue, Zika e/ou Chikungunya as linhas (roxa/rosa) não aparecem na área do TESTE (T1, T2, T3). Em ambos os casos, a amostra continua a migrar ao longo da membrana produzindo uma linha (roxa/rosa) na área de CONTROLE (C), para demonstrar o funcionamento adequado dos reagentes.

Para diluição da amostra foram utilizados 10µL de soro acrescidos de 150µL de solução tampão de corrida. Dessa diluição foram pipetados 100µL e transferidos para o poço 1 do teste. Após aguardar 5 minutos, foram adicionados lentamente 9 gotas do tampão de corrida ao poço 2. O teste correu por 15 a 20 minutos após a adição do tampão ao poço 2 e a leitura foi realizada, utilizando o Micro Leitor DPP® da Bio-Manguinhos. A janela IgM foi lida primeiro seguida pela janela IgG. O Microleitor DPP® realiza a leitura dos resultados de forma eletrônica, eliminando possíveis erros de interpretação pela leitura humana. O Microleitor DPP® também possibilita o registro automático dos resultados e o tratamento dos dados em computador. As amostras foram classificadas como reagentes, não reagente e indeterminadas, seguindo os valores expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de Referência para interpretação dos resultados para o teste TR DPP® ZDC IgM/IgG.

Valores de Referência						
Resultado	(T1) Dengue		(T2) Zika		(T3) Chikungunya	
	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG
Não reagente	≤ 18	≤ 18	≤ 18	≤ 18	≤ 18	≤ 18
Indeterminado	> 18 e < 22	> 18 e < 22	> 18 e < 22	> 18 e < 22	> 18 e < 22	> 18 e < 22
Reagente	≥ 22	≥ 22	≥ 22	≥ 22	≥ 22	≥ 22

Fonte: Bula Bio-Manguinhos TR DPP® ZDC IgM/IgG, 2019.

4.5. ANÁLISES MOLECULARES

Após as coletas, os soros foram armazenados em nitrogênio líquido e posteriormente em freezer -80°C até o momento das análises moleculares. As extrações do RNA viral foram realizadas no Laboratório de Virologia Clínica e

Molecular (LVCM) do ICBII USP, onde foram utilizadas alíquotas dos soros testados. Destas foram utilizados 300µL de amostra com acréscimo de 400µl de Lysis/Binding Solution buffer. Após, foram colocadas no equipamento “MagMAX™ Express” (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). O equipamento realizou quatro lavagens, sendo as duas primeiras para remoção de macromoléculas e a segunda para remoção de micromoléculas. Em sequência ocorreu a eluição do RNA das beads magnéticas. As amostras extraídas foram então armazenadas em freezer -80°C até serem utilizadas para análises.

Para análises moleculares de DENV, ZIKV e CHIKV a RT-qPCR foi realizada utilizando o reagente EM8, que é um mix de PCR que contém as enzimas de transcriptase reversa e polimerase, nucleotídeos e magnésio do kit Allplex™ SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV Assay da empresa Seegene (RV10259X). Para a reação de PCR cada primer e a probe estavam na concentração de 10 pM. Para análises moleculares de OROV e MAYV foi utilizada a técnica de PCR convencional, com o kit QuantFast SYBER Green RT-PCR Kit (204156) da marca Qiagen. Os primers utilizados estão listados na tabela 2 e 3.

A ciclagem de RT-qPCR for realizada por 20 min em 50°C, 10 min em 95°C seguidos de 45 ciclos de 95°C por 10 segundos, 58°C por 10 segundos e 72°C por 27 segundos, sendo a leitura realizada na etapa de 72°C.

Tabela 2. Primers utilizados no painel de arbovírus

VÍRUS	PRIMER FORWARD	PRIMER REVERSE	PROBE	REFERÊNCIAS
DENV	AAGGACTAGAGGT T AKAGGAGACCC	GGCCYTCTGTGCCT G GAWTGATG	AACAGCATATTGACG CTGGGARAGACC	(WAHED <i>et al.</i> , 2015)
ZIKV	CCGCTGCCCAACA CAAG	CCACTAACGTTCTTT T GCAGACAT	AGCCTACCTACCTTG ACAAGCAGTCAGAC A CTCAA	(LANCIOTTI <i>et al.</i> , 2008)
CHKV	YGAYCAYGCMGWC ACAG	AARGGYGGGTAGTC C ATGTT	CCAATGTCYTCMGC C TGGACRCCKTT	(LOPEZ-JIMENA <i>et al.</i> , 2018)

Tabela 3. Primers utilizados no painel de arbovírus de RT-PCR convencional

VÍRUS	IDENTIFICAÇÃO DO PRIMER	SEQUÊNCIA DO PRIMER	REFERÊNCIA
OROV	Pan Bunya Fwd	ATGATGTACCACAACGGAC	Desenhados*
	Pan Bunya Rev	CTAACAACACCAGCATTGAG	
MAYV	Alpha 2F	GIAAYTGYYAAYGTIACICARAT	(SÁNCHEZ-SECO <i>et al.</i> , 2001)
	Alpha 2R	GCRAAIARIGCIGCIGCYTYIGGICC	

* Desenhado in-house pelo grupo LEVE da Unicamp.

No ciclo do PCR convencional a primeira etapa é para a transcrição reversa, ficando em 50°C por 10 minutos e 95°C por 5 minutos, após o ciclo de amplificação será repetido 40 vezes, sendo que este será em 95°C por 10 segundos e 60°C (60°C para Pan Orthobunya e 55°C para Pan Alpha) por 30 segundos, por fim ocorrerá o ciclo de dissociação (Melting) como descrito a seguir: 95°C por 15 seg, 60°C por 30 seg e 95°C por 15 seg.

4.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as análises estatísticas foram utilizados os programas Jamovi versão 2.3.21 e Microsoft Excel versão 14.0 (Office 365). Os dados clínico-epidemiológicos estão armazenados em banco de dados *Red Cap*. Foram realizadas associação entre estes dados e os resultados dos testes imunocromatográficos. O teste utilizado foi o de Qui-quadrado, sendo o teste de Fischer escolhido para pequenas amostras. O nível de significância estatística foi <5% ($p=0,05$).

5. RESULTADOS

5.1. Análises sociodemográficas

Das 212 amostras disponíveis para o estudo, 7 foram excluídas por falta de dados sociodemográficos ou falta de soro para realização dos testes imunocromatográficos, sendo então desenvolvido o estudo com número amostral de 205 pacientes. Os dados sociodemográficos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Dados sociodemográficos dos indivíduos participantes do estudo.

Dados Sociodemográficos	N	%
Sexo Biológico		
Feminino	113	55,2
Masculino	92	44,8
Total	205	100
Faixa Etária		
3-11 anos	64	31,3
12-29	87	42,4
30-59	45	21,9
60 ou mais	9	4,4
Total	205	100
Local de nascimento		
Nascidos na comunidade	175	85,4
Não nascido na comunidade	30	14,6
Total	205	100
Comunidade de moradia		
Espírito Santo	34	16,6
Carará	171	83,41
Total	205	100

Segundo o Estatuto da Criança e do Adolescente, pela Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990, considera-se criança aquelas com até 12 anos incompletos. Sendo assim, esse estudo contou com a presença de 64 crianças (31,3%), 141 adultos (68,7). A maioria dos participantes do estudo nasceram e cresceram nas comunidades as quais pertencem (85,4%), sendo que os demais são migrantes de outras cidades do estado do Amazonas e de estados vizinhos como Rondônia e Acre.

5.2. Análises Imunológicas

Os dados a seguir demonstram a prevalência da presença ou não de anticorpos contra os arbovírus testados conforme os objetivos desse estudo, os dividindo em anticorpos de fase aguda (IgM) e anticorpos de cicatriz imunológica (IgG).

Tabela 5. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Dengue na população de estudo por sexo biológico.

Presença de anticorpos para DENV							
Dengue IgM							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	3	100	107	54,04	3	75	0,204
Masculino	0	0	91	45,96	1	25	
Total	3	100	198	100	4	100	
Dengue IgG							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	41	48,24	69	63,30	3	27,27	0,008
Masculino	44	51,76	40	36,70	8	72,73	
Total	85	100	109	100	11	100	

Tabela 6. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Zika na população de estudo por sexo biológico.

Presença de anticorpos para ZIKV							
Zika IgM							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	0	0	113	55,39	-	-	0,506
Masculino	1	100	91	44,61	-	-	
Total	1	100	204	100	-	-	
Zika IgG							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	3	50	110	56,12	0	0	0,148
Masculino	3	50	86	43,88	3	100	
Total	6	100	196	100	3	100	

Tabela 7. Presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus Chikungunya na população de estudo por sexo biológico.

Presença de anticorpos para CHIKV							
Chikungunya IgM							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	10	62,5	102	54,54	1	50	0,819
Masculino	6	37,5	85	45,46	1	50	
Total	16	100	187	100	2	100	
Chikungunya IgG							
Sexo biológico	Pos.	%	Neg.	%	Ind.	%	p-valor
Feminino	26	59,52	86	54,43	1	20%	0,192
Masculino	16	38,09	72	45,57	4	80%	
Total	42	100	158	100	5	100%	

Os resultados a seguir apresentados demonstram as correlações socioeconômicas com a presença de anticorpos, tanto IgM quanto IgG, para algum dos vírus deste estudo. Resultados indeterminados foram contabilizados como negativos nessas análises, uma vez que não é possível afirmar a sua positividade.

Tabela 8. Correlação de soroprevalência para as arboviroses testadas por condições socioeconômicas.

Presença de anticorpos para arboviroses por condições socioeconômicas					
Local de Moradia	Pos.	%	Neg.	%	p-valor
Carará	88	80,73	83	86,46	
Espirito Santo	21	19,27	13	13,54	0,272
Total	109	100	96	100	
Local de Nascimento	Pos.	%	Neg.	%	p-valor
Nascidos na região	94	86,23	81	84,37	
Não nascidos na região	15	13,77	15	15,63	0,706
Total	109	100	96	100	
Faixa Etária	Pos.	%	Neg.	%	p-valor
Adulto	94	86,23	47	48,95	
Criança	15	13,77	49	51,05	<0,001
Total	109	100	96	100	

Nas análises moleculares nenhuma das amostras testadas apresentaram positividade para detecção do material genético dos vírus testados.

5.3. Análises Entomológicas

Foram identificados 3.187 dípteros em duas coletas entomológicas, sendo a primeira em fevereiro de 2022 em período chuvoso e a segunda em julho de 2022 no período da seca. Foram coletados 937 espécimes na primeira coleta e 2.250 na segunda coleta, pertencentes a 26 espécies e 11 gêneros de Culicidae (Tabela 9). A grande maioria dos exemplares eram do sexo feminino (98%). Mais da metade dos exemplares (62%) não foram identificados a nível específico devido ao fato de estarem danificados, e por consequência, com perda de caracteres morfológicos, ou pertenciam a complexos de espécies crípticas do gênero *Mansonia*, atualmente em debate (25). Inclusive, este foi o gênero predominante nas amostragens realizadas por armadilha luminosa CDC-HP na base das árvores e busca ativa (64,3%, n=2.051), seguido pelos gêneros *Culex* (n=605) e *Coquillettidia* (n=338). Os espécimes de *Aedes* spp. identificados não eram *Aedes aegypti* ou *Aedes albopictus* e foram então classificados somente pelo gênero.

Dentre as técnicas de coletas entomológicas usadas no estudo, busca ativa de criadouros, armadilha Ovitampa e CDC-HP na base das árvores, a que apresentou

maior produtividade em termos de quantidade de exemplares, foi a armadilha luminosa CDC-HP na base das árvores; no entanto, alguns exemplares de gêneros tipicamente silvestres, como *Sabethes* e *Wyeomyia*, foram coletados apenas por busca ativa de criadouros e armadilha Ovitampa.

Tabela 9. Número de mosquitos coletados nas comunidades ribeirinhas Tabuleta e Carará (AM) em função da técnica amostral, espécie/táxon, e sexo, durante o período de 13 a 17 de fevereiro de 2022 e 17 a 23 de julho de 2022.

Comunidade	Técnica	Espécie	Fêmeas	Machos	Total		
Carará	Busca ativa	<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) albicosta</i> (Chagas, 1908) (in Peryassú, 1908)	1		1		
		<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) juxtamansonia</i> (Chagas, 1907)	1		1		
		<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald, 1912) (in Surcouf, 1912)	10		10		
		<i>Coquillettidia</i> spp.	33		33		
		<i>Culex</i> spp.	13		13		
		<i>Haemagogus</i> spp.	2		2		
		<i>Mansonia (Mansonia) amazonensis</i> (Theobald, 1901)	1		1		
		<i>Mansonia (Mansonia) humeralis</i> Dyar & Knab, 1916	90		90		
		<i>Mansonia</i> spp.	47	2	49		
		<i>Psorophora</i> spp.	23		23		
		<i>Wyeomyia</i> spp.	9		9		
		CDC-HP		<i>Aedeomyia (Aedeomyia) squamipennis</i> (Lynch Arribáizaga, 1878)	7		7
				<i>Aedeomyia</i> spp	1	1	2
<i>Aedes</i> spp.	1				1		
<i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus</i> (Neiva & Pinto, 1922)	1				1		
<i>Anopheles</i> sp.				1	1		
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) albicosta</i> (Chagas, 1908) (in Peryassú, 1908)	4				4		
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) chrysonotum</i> (Peryassú, 1922)	1				1		
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) hermanoi</i> (Lane & Coutinho, 1940)	1				1		
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) nigricans</i> (Coquillet, 1904)	2				2		
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald, 1912) (in Surcouf, 1912)	15			2	17		
<i>Coquillettidia</i> spp.	11				11		
<i>Culex (Culex) spp.</i>	2			1	3		
<i>Culex (Melanoconion) spissipes</i> (Theobald, 1903)	1				1		

		<i>Culex (Melanoconion) spp.</i>	34	3	37
		<i>Culex spp.</i>	70	15	85
		<i>Haemagogus spp.</i>	1		1
		<i>Mansonia (Mansonia) amazonensis</i> (Theobald, 1901)	10		10
		<i>Mansonia (Mansonia) flaveola</i> (Coquillett, 1906)	5		5
		<i>Mansonia (Mansonia) humeralis</i> Dyar & Knab, 1916	183	1	184
		<i>Mansonia spp.</i>	133	2	135
		<i>Psorophora (Janthinosoma) albipes</i> (Theobald, 1907)	1		1
		<i>Psorophora spp.</i>	9	4	13
		<i>Uranotaenia (Uranotaenia) cooki</i> Root, 1937	1		1
		<i>Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica</i> Theobald, 1901		3	3
		<i>Uranotaenia (Uranotaenia) hystera</i> Dyar & Knab, 1913		1	1
		<i>Uranotaenia (Uranotaenia) leucoptera</i> (Theobald, 1907)	1		1
		<i>Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima</i> Lynch Arribálzaga, 1891	5		5
		<i>Uranotaenia sp.</i>		1	1
	Ovitrapa	<i>Sabethes (Davisomyia) petrocchiae</i> (Shannon & del Ponte, 1928)	5		5
Espírito Santo	Busca Ativa	<i>Aedes spp.</i>	1		1
		<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald, 1912) (in Surcouf, 1912)	4		4
		<i>Mansonia (Mansonia) amazonensis</i> (Theobald, 1901)	2		2
		<i>Mansonia (Mansonia) humeralis</i> Dyar & Knab, 1916	76		76
		<i>Mansonia spp.</i>	52		52
		<i>Wyeomyia (Dodecamyia) aphobema</i> Dyar, 1918	1		1
		<i>Wyeomyia (Menolepsis) leucostigma</i> Lutz, 1904 (in Bourroul, 1904)	1		1
		<i>Wyeomyia (Wyeomyia) celaenocephala</i> Dyar & Knab, 1906	2		2
		<i>Psorophora spp.</i>	1		1
	CDC-HP	<i>Aedeomyia (Aedeomyia) squamipennis</i> (Lynch Arribálzaga, 1878)	35		35
		<i>Aedeomyia spp.</i>	6		6
		<i>Aedes spp.</i>	1		1
		<i>Anopheles (Anopheles) matogrossensis</i> Lutz & Neiva, 1911	4		4
		<i>Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi</i> (Peryassú, 1922)	3		3

<i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus</i> (Neiva & Pinto, 1922)	1		1
<i>Anopheles</i> spp.	21	1	22
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) albicosta</i> (Chagas, 1908) (in Peryassú, 1908)	34		34
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) chrysonotum</i> (Peryassú, 1922)	6		6
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) hermanoi</i> (Lane & Coutinho, 1940)	2		2
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) juxtamansonia</i> (Chagas, 1907)	1		1
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) nigricans</i> (Coquillett, 1904)	2		2
<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald, 1912) (in Surcouf, 1912)	69		69
<i>Coquillettidia</i> spp.	135		135
<i>Culex (Culex)</i> spp.	20		20
<i>Culex (Melanoconion)</i> spp.	142	1	143
<i>Culex</i> spp.	270	19	289
<i>Haemagogus</i> spp.	14		14
<i>Mansonia (Mansonia) amazonensis</i> (Theobald, 1901)	32		32
<i>Mansonia (Mansonia) flaveola</i> (Coquillett, 1906)	12		12
<i>Mansonia (Mansonia) humeralis</i> Dyar & Knab, 1916	235		235
<i>Mansonia</i> spp.	879	2	881
<i>Psorophora</i> spp.	24		24
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) geometrica</i> Theobald, 1901	2	1	3
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) nataliae</i> Lynch Arribáizaga, 1891	1		1
TOTAL	2826	61	2887

6. DISCUSSÃO

Esse estudo apresentou uma alta soroprevalência para as arboviroses testadas, mostrando que a população de estudo possui contato com essas doenças, estando assim susceptível ao desenvolvimento dos agravos que esses vírus podem desenvolver. Estudos voltados para populações rurais da Amazônia são raros, cremos que este é o primeiro estudo sobre soroprevalência de arboviroses com populações ribeirinhas da Amazônia até a presente data. Na Malásia, estudos vem comprovando que arboviroses, especialmente do vírus Dengue, não estão mais confinadas as áreas urbanas, pois veem apresentando taxas semelhantes de soroprevalência nas áreas urbanas e rurais (CHEW *et al.*, 2016; MUHAMMAD AZAMI *et al.*, 2011).

A soropositividade mais frequente em nosso estudo foi para o vírus Dengue, o que corrobora com o estudo de Júnior e colaboradores (2022) que diz que a dengue foi a doença tropical negligenciada para qual a carga mais aumentou nas últimas décadas no Brasil, estimando-se que em 2016 o dengue tenha causado no país mais de 92.000 DALYs (*Disability Adjusted Life Years* - Anos de vida perdidos ajustados por incapacidade), com uma taxa de 44,87 DALYs por 100.000 habitantes.

No Brasil, o sistema de vigilância do dengue é baseado na notificação passiva dos centros assistenciais de saúde, através do diagnóstico laboratorial. Este método de vigilância pode subestimar a incidência de dengue devido à subnotificação de casos sintomáticos e assintomáticos (COELHO *et al.*, 2020). No município de Humaitá, suporte urbano mais próximo para as populações do estudo, nos anos de 2018 a 2021 foram registrados 449 casos de Dengue, sendo que no ano de 2020 não foram realizados registros, muito provavelmente afetado pela infecção do COVID-19 (DATASUS, 2023). Ainda, segundo o DATASUS (2023), entre o período de 2018 a 2021, os casos de infecção por idade foram mais frequentes dos 15 aos 59 anos, correspondendo a 373 casos dos 449 registrados (83,07%), sendo semelhante aos dados de adultos infectados por alguma arbovirose deste estudo (86,26%).

Martins *et al* (2014) realizaram um estudo de soroprevalência de arboviroses em crianças amazônicas no Acre e identificaram que a maioria das crianças com anticorpos detectáveis contra o vírus da dengue não foi diagnosticada clinicamente por um profissional de saúde ou teve sintomas detectados por sua família e que na

verdade o número de crianças que já contraíram dengue pode ser até dez vezes maior do que está registrado no sistema digital de saúde. Esse fato se justifica pela dificuldade de diagnóstico clínico de arboviroses em crianças, pois essas apresentam várias doenças febris nessa faixa etária e por não apresentarem os sintomas específicos, muitas vezes por não saberem relatar, o que aumenta ainda mais a importância do diagnóstico sorológico laboratorial e o estudo de soroprevalência nas populações para conhecimentos reais de infecções (COELHO *et al.*, 2020).

Apesar de muitos estudos afirmarem que mulheres apresentam maiores chances de infecção por arbovírus, pois possuem maior tempo de permanência no domicílio, considerando os hábitos domésticos do vetor *Aedes aegypti* (AGUIAR, 2021; MILAGRES, 2021; WENHAM *et al.*, 2020), este estudo demonstrou uma maior prevalência de infecções progressas para o vírus Dengue nos homens ($p < 0,03$). Esse fato pode ser justificado pelas infecções não estarem ocorrendo nos domicílios rurais e sim na área urbana, com o deslocamento sendo na maioria das vezes realizados pelos homens e por questões culturais, as mulheres permanecem nas residências para cuidar do lar e das crianças. Em um estudo realizado em um assentamento na área rural do estado do Acre, na Amazônia, também demonstrou uma maior prevalência de arboviroses em homens, sendo justificada pelas atividades migratórias dos mesmos para a área urbana, o que corrobora com os resultados do nosso estudo (SILVA-NUNES *et al.*, 2008).

Quando comparadas as infecções por qualquer tipo de arbovírus pela faixa etária, foi possível observar através de análises estatísticas que os adultos possuem maior prevalência de infecção. Esse dado reforça a hipótese de que as infecções ocorrem na área urbana, e por conta dos custos de viagem, as crianças se deslocam menos para as cidades resultando em menor exposição e menor soroprevalência. É importante ressaltar que a maioria dos pacientes do estudo eram nascidos nas comunidades (85%), portanto, provavelmente adquiriram essas arboviroses no deslocamento para áreas urbanas (Humaitá-AM, referência local).

A infecção pelo vírus Chikungunya teve maior significância se comparado com as infecções pelo vírus Zika nessa população de estudo. Pesquisas tem evidenciado que a infecção pelo vírus Chikungunya tem descompensado doenças pré-existentes, como as doenças cardíacas, renais e hepáticas, diabetes, hipertensão e lúpus

eritematoso sistêmico e a necessidade de internação pela infecção pelo vírus Chikungunya tem relação com a exacerbação das doenças crônicas não transmissíveis já estabelecidas (CUNHA *et al.*, 2017). PEREIRA e colaboradores em 2022 (PEREIRA *et al.*, 2022) realizou estudo de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) na mesma população do presente trabalho, constatando uma alta prevalência de DCNT, o que cria um alerta ainda maior na exposição dessa população à esse vírus.

Nenhum dos pacientes apresentou reação positiva nas análises moleculares para os vírus DENV, CHIKV, ZIKV, OROV e MAYV. Esse fato pode se justificar pela baixa frequência de positividade para anticorpos do tipo IgM, marcador de fase aguda das doenças, e indica que não há a ocorrências dessas doenças no momento do estudo. Esse marcador pode permanecer por até três meses no organismo do indivíduo, não sendo obrigatório a presença do agente patogênico concomitante a esse tipo de anticorpo. O não encontro de *Aedes aegypt* e *Aedes albopictus* na região do estudo, apontam para a ocorrência de transmissão alóctone e/ou a existência de outro vetor local com competência vetorial.

Apesar dos vírus Oropouche e Mayaro serem altamente frequentes em infecções na região amazônica (CAICEDO *et al.*, 2021; DO NASCIMENTO *et al.*, 2020; PEREIRA-SILVA *et al.*, 2021; QUEIROZ *et al.*, 2020), este estudo não demonstrou positividade nos testes moleculares para a pesquisa do material genético desses vírus nas amostras testadas. Por limitações de testes para identificação de anticorpos para esses vírus, somente análises moleculares foram realizadas.

É importante a vigilância nessas populações ribeirinhas, pois ao adentrarem as matas fechadas para atividades laborais e culturais, podem estar se expondo a espécies virais silvestres. Outros fatores como intensificação da agricultura, pecuária, mineração e grandes hidrelétricas aumentam o desmatamento e estão associados à mobilidade e densidade humana, alterando o padrão ecológico da interação vírus-vetor-hospedeiro, proporcionando um cenário totalmente favorável à disseminação de doenças como Dengue, Zika e Chikungunya (BATISTA *et al.*, 2012; GOMES; DE JESUS; QUARESMA, 2023).

Não foram identificados espécimes de *Aedes aegypt* e *Aedes albopictus* nas coletas entomológicas realizadas neste estudo, ao contrário do estudo de Sacramento

e colaboradores (2018), onde realizaram soroprevalência de arboviroses e vigilância entomológica em uma aldeia de povos originários no Ceará e identificaram a presença do mosquito em todas as casas da aldeia em estudo. Esse fato reforça a hipótese de que as infecções de nosso estudo ocorrem fora das comunidades ribeirinhas, mais especificamente na área urbana ou que outro vetor assumiu o papel de vetorização dessas doenças. Estudos moleculares dos mosquitos capturados estão em andamento (FIOCRUZ/RO) para avaliar a possibilidade de potenciais vetores para essas arboviroses, uma vez que diversos estudos veem comprovando a capacidade vetorial de DENV, ZIKV e CHIKV por outros vetores (GUEDES *et al.*, 2017; GUO *et al.*, 2016; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA; FAILLOUX, 2017; O'DONNELL *et al.*, 2017; SERRA *et al.*, 2016).

Embora os testes utilizados neste estudo apresentem alta sensibilidade e especificidade quando comparados a outros métodos como o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), uma das limitações do presente estudo é que não foi possível realizar um ensaio para distinguir entre os sorotipos de dengue e confirmar ou descartar reatividade cruzada. Outra limitação é que amostragem foi feita por conveniência (não-randômica), porém contemplando 85% da população estimada.

No Brasil, o modelo de controle de arboviroses permanece de forma tradicional limitado a investimentos pontuais, em campanhas contra o mosquito e orientações sobre ações por meio da mídia, com pouco impacto efetivo no combate à essas doenças no geral. Falta inovação para o enfrentamento dessas endemias, há necessidade de melhoria na capacitação dos profissionais de saúde, eliminação de criadouros e ações de educação em saúde para a população. Um estudo realizado em Icarai-Caucaia (Ceará) sobre educação em saúde para prevenção e controle da dengue concluiu que a educação em saúde era realizada de forma ineficaz, sem diálogo entre os profissionais de saúde e a população (FERREIRA *et al.*, 2021). Sendo assim, se faz necessário que o conhecimento sobre essas arboviroses e as formas para o seu enfrentamento sejam levadas até essas comunidades remotas, que até então desconhecem essas arboviroses, para que diante de complicações a população saiba reconhecer sintomas e sinais e procurar assistência médica adequada.

7. CONCLUSÕES

Houve uma maior frequência de positividade para os anticorpos do tipo IgG para os arbovírus estudados, o que se justifica por esses serem anticorpos de cicatriz imunológica, permanecendo por longos períodos no organismo do indivíduo após o contato com o vírus. Houve uma maior prevalência de positividade para o vírus Dengue, uma vez que esse é o vírus mais frequente e distribuído no país.

Os homens tiveram uma maior prevalência de anticorpos IgG para o vírus Dengue se comparado as mulheres, o que pode ser justificado por esses praticarem atividades laborais de maior exposição ou, por questões culturais da região, se deslocarem mais para as áreas urbanas do que as mulheres, pois essas muitas vezes precisam ficar em casa em tarefas domésticas e no cuidado dos filhos.

Através desse estudo foi possível identificar a ocorrência de arboviroses em populações ribeirinhas, fato preocupante diante de uma população de comunidades com dificuldades no acesso ao sistema de saúde e com hábitos e condições socioeconômicas, que dão abertura à ocorrência de agravos em saúde. O sistema de saúde local não está preparado para o enfrentamento destas arboviroses e de suas consequências. Em paralelo, a fragilidade do sistema da saúde (baixa cobertura da equipe de saúde da família, grandes distâncias e áreas remotas) mitigam as ações de saúde no seguimento do pré-natal e no tratamento das complicações agudas e crônicas dessas doenças.

Com os dados apresentados é possível evidenciar a importância da educação em saúde dessa população e dos ACS para o enfrentamento dessas arboviroses e reconhecimento dos sintomas, uma vez que ao adoecerem nas comunidades podem ter agravos dessas doenças, não possuindo ali assistência médica preparada para as intervenções necessárias no curto (dengue grave), médio (pré-natal -ZKV) e longo prazo (artroses- CHKV).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-FRANCH, F. *et al.* Mayaro Virus Infection in Amazonia: A Multimodel Inference Approach to Risk Factor Assessment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 6, n. 10, p. e1846, 11 out. 2012.
- AGRELLI, A. *et al.* ZIKA virus entry mechanisms in human cells. **Infection, Genetics and Evolution**, [S. l.], v. 69, p. 22–29, 1 abr. 2019.
- AGUIAR, I. W. O. de. Fatores associados à insegurança alimentar domiciliar em uma coorte de mulheres residentes em áreas vulneráveis a arboviroses de Fortaleza-CE. [S. l.], 2021.
- ALENCAR, J. *et al.* Natural Infection and Vertical Transmission of Zika Virus in Sylvatic Mosquitoes *Aedes albopictus* and *Haemagogus leucocelaenus* from Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 99, 11 jun. 2021.
- AMOA-BOSOMPEM, M. *et al.* Determining vector competence of *Aedes aegypti* from Ghana in transmitting dengue virus serotypes 1 and 2. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 14, p. 228, 29 abr. 2021.
- ARAGÃO, C. F. *et al.* Circulation of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* in Maranhão, Northeast Brazil. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 186, p. 1–4, 1 out. 2018.
- ARAGÃO, C. F. *et al.* Natural Infection of *Aedes aegypti* by Chikungunya and Dengue type 2 Virus in a Transition Area of North-Northeast Brazil. **Viruses**, [S. l.], v. 11, n. 12, p. 1126, 5 dez. 2019.
- AYLLÓN, T. *et al.* Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 23, n. 8, p. 1411–1412, ago. 2017.
- BARR, K. L.; VAIDHYANATHAN, V. Chikungunya in Infants and Children: Is Pathogenesis Increasing? **Viruses**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 294, 23 mar. 2019.
- BARRETO-VIEIRA, D. F. *et al.* Dengue, Yellow Fever, Zika and Chikungunya epidemic arboviruses in Brazil: ultrastructural aspects. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 115, p. e200278, 3 fev. 2021.
- BATISTA, P. M. *et al.* Seroepidemiological monitoring in sentinel animals and vectors as part of arbovirus surveillance in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 168–173, 2012.
- BAUD, D. *et al.* An update on Zika virus infection. **The Lancet**, [S. l.], v. 390, n. 10107, p. 2099–2109, nov. 2017.
- BEGUM, F. *et al.* Insight into the Tropism of Dengue Virus in Humans. **Viruses**, [S. l.], v. 11, n. 12, p. 1136, 9 dez. 2019.

BOHERS, C. *et al.* The recently introduced *Aedes albopictus* in Tunisia has the potential to transmit chikungunya, dengue and Zika viruses. **PLoS neglected tropical diseases**, [S. l.], v. 14, n. 10, p. e0008475, out. 2020.

BOYLES, S. M. *et al.* Under-the-Radar Dengue Virus Infections in Natural Populations of *Aedes aegypti* Mosquitoes. **mSphere**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. e00316-20, 29 abr. 2020.

BRASIL, P. *et al.* Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. **The New England journal of medicine**, [S. l.], v. 375, n. 24, p. 2321–2334, 15 dez. 2016.

CAICEDO, E.-Y. *et al.* The epidemiology of Mayaro virus in the Americas: A systematic review and key parameter estimates for outbreak modelling. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. e0009418, 3 jun. 2021.

CASTRO, F. F. de *et al.* Idosos ribeirinhos da amazônia brasileira no enfrentamento da covid-19. *In*: SANTANA, R. F. **Enfermagem gerontologica no cuidado do idoso em tempos da COVID 19**. [S. l.]: Editora ABEn, 2020. p. 142–149. Disponível em: <https://publicacoes.abennacional.org.br/ebooks/e2-geronto2-cap20>. Acesso em: 8 maio 2022.

CEVALLOS, V. *et al.* Zika and Chikungunya virus detection in naturally infected *Aedes aegypti* in Ecuador. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 177, p. 74–80, 1 jan. 2018.

CHADEE, D. D. *et al.* Oviposition response of *Aedes aegypti* mosquitoes to different concentrations of hay infusion in Trinidad, West Indies. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 346–348, set. 1993.

CHEW, C. H. *et al.* Rural-urban comparisons of dengue seroprevalence in Malaysia. **BMC public health**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 824, 18 ago. 2016.

CHOMPOOSRI, J. *et al.* Vertical transmission of Indian Ocean Lineage of chikungunya virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 227, 23 abr. 2016.

CHONG, H. Y. *et al.* Flavivirus infection—A review of immunopathogenesis, immunological response, and immunodiagnosis. **Virus Research**, [S. l.], v. 274, p. 197770, 1 dez. 2019.

CHRISTIAN, K. M.; SONG, H.; MING, G. Pathophysiology and Mechanisms of Zika Virus Infection in the Nervous System. **Annual review of neuroscience**, [S. l.], v. 42, p. 249–269, 8 jul. 2019.

CHUANSUMRIT, A.; TANGNARARATCHAKIT, K. Pathophysiology and management of dengue hemorrhagic fever. **Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine**, [S. l.], v. 8, p. 3–11, dez. 2006.

CIOTA, A. T. The role of co-infection and swarm dynamics in arbovirus transmission. **Virus Research**, [S. l.], v. 265, p. 88–93, maio 2019.

COELHO, I. *et al.* Dengue Infection in Children in Fortaleza, Brazil: A 3-Year School-Based Prospective Cohort Study. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 103, n. 1, p. 100–111, jul. 2020.

COSTA, C. F. da *et al.* Evidence of vertical transmission of Zika virus in field-collected eggs of *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 12, n. 7, p. e0006594, 16 jul. 2018.

CUNHA, R. V. *et al.* Seroprevalence of Chikungunya Virus in a Rural Community in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. e0005319, 20 jan. 2017.

DA ROCHA TARANTO, M. F. *et al.* Dengue outbreaks in Divinópolis, south-eastern Brazil and the geographic and climatic distribution of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in 2011-2012. **Tropical Medicine & International Health**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 77–88, jan. 2015.

DATASUS. DENGUE - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Amazonas. 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/denguebam.def>. Acesso em: 9 abr. 2023.

DE FIGUEIREDO JÚNIOR, A. M. *et al.* O acesso aos serviços de saúde da população ribeirinha: um olhar sobre as dificuldades enfrentadas. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, [S. l.], v. 13, p. e4680, 8 out. 2020.

DÍAZ-GONZÁLEZ, E. E. *et al.* First Report of *Aedes aegypti* Transmission of Chikungunya Virus in the Americas. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 93, n. 6, p. 1325–1329, dez. 2015.

DO NASCIMENTO, V. A. *et al.* Oropouche virus detection in saliva and urine. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 115, p. e190338, 27 fev. 2020.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, [S. l.], v. 51, n. 0, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102017000100606&lng=en&tlng=en. Acesso em: 26 jul. 2021.

DOS REIS, I. C. *et al.* Entomo-virological surveillance strategy for dengue, Zika and chikungunya arboviruses in field-caught *Aedes* mosquitoes in an endemic urban area of the Northeast of Brazil. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 197, p. 105061, 1 set. 2019.

DZUL-MANZANILLA, F. *et al.* Arbovirus Surveillance and First Report of Chikungunya Virus in Wild Populations of *Aedes aegypti* from Guerrero, Mexico. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 275–277, set. 2015.

ELIZONDO-QUIROGA, D. *et al.* Vector competence of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* from the metropolitan area of Guadalajara, Jalisco, Mexico for Zika virus. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 9, p. 16955, 18 nov. 2019.

- ELLWANGER, J. H. *et al.* Beyond diversity loss and climate change: Impacts of Amazon deforestation on infectious diseases and public health. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 92, n. 1, p. e20191375, 2020.
- FAIZAN, M. I. *et al.* Zika Virus-Induced Microcephaly and Its Possible Molecular Mechanism. **Intervirology**, [S. l.], v. 59, n. 3, p. 152–158, 2016.
- FAY, R. W.; PERRY, A. S. Laboratory Studies of Ovipositional Preferences of *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, [S. l.], v. 25, n. 3, p. 276–81, 1965.
- FERNANDES, R. S. *et al.* *Culex quinquefasciatus* from areas with the highest incidence of microcephaly associated with Zika virus infections in the Northeast Region of Brazil are refractory to the virus. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 112, n. 8, p. 577–579, 26 jun. 2017.
- FERRARIS, P.; YSSEL, H.; MISSÉ, D. Zika virus infection: an update. **Microbes and Infection**, [S. l.], v. 21, n. 8, p. 353–360, 1 out. 2019.
- FERREIRA, D. T. de O. *et al.* Recent dengue virus infection: epidemiological survey on risk factors associated with infection in a medium-sized city in Mato Grosso. **São Paulo Medical Journal**, [S. l.], v. 140, n. 1, p. 33–41, 29 nov. 2021.
- FERREIRA-DE-BRITO, A. *et al.* First detection of natural infection of *Aedes aegypti* with Zika virus in Brazil and throughout South America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 111, n. 10, p. 655–658, out. 2016.
- FERREIRA-DE-LIMA, V. H. *et al.* Silent circulation of dengue virus in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) resulting from natural vertical transmission. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 3855, 2 mar. 2020.
- FERREIRA-DE-LIMA, V. H.; LIMA-CAMARA, T. N. Natural vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a systematic review. **Parasites & Vectors**, [S. l.], v. 11, p. 77, 1 fev. 2018.
- FIGUEIREDO, L. T. M. Human Urban Arboviruses Can Infect Wild Animals and Jump to Sylvatic Maintenance Cycles in South America. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 9, p. 259, 17 jul. 2019.
- GAMA, A. S. M. *et al.* Inquérito de saúde em comunidades ribeirinhas do Amazonas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, [S. l.], v. 34, n. 2, 19 fev. 2018. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2018000205007&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 26 jul. 2021.
- GAMA, A. S. M.; SECOLI, S. R. Self-medication practices in riverside communities in the Brazilian Amazon Rainforest. **Revista Brasileira de Enfermagem**, [S. l.], v. 73, n. 5, p. e20190432, 2020.
- GANESAN, V.; DUAN, B.; REID, S. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. **Viruses**, [S. l.], v. 9, n. 12, p. 368, 1 dez. 2017.

GARNELO, L. *et al.* Barriers to access and organization of primary health care services for rural riverside populations in the Amazon. **International Journal for Equity in Health**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 54, dez. 2020.

GIRARD, M. *et al.* Arboviruses: A global public health threat. **Vaccine**, [S. l.], v. 38, n. 24, p. 3989–3994, 19 maio 2020.

GOMES, H.; DE JESUS, A. G.; QUARESMA, J. A. S. Identification of risk areas for arboviruses transmitted by *Aedes aegypti* in northern Brazil: A One Health analysis. **One Health**, [S. l.], v. 16, p. 100499, 6 fev. 2023.

GUEDES, D. R. *et al.* Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 6, n. 8, p. e69, ago. 2017.

GUERBOIS, M. *et al.* Outbreak of Zika Virus Infection, Chiapas State, Mexico, 2015, and First Confirmed Transmission by *Aedes aegypti* Mosquitoes in the Americas. **The Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 214, n. 9, p. 1349–1356, 1 nov. 2016.

GUIMARÃES, A. F. *et al.* Acesso a serviços de saúde por ribeirinhos de um município no interior do estado do Amazonas, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, [S. l.], v. 11, n. 0, maio 2020. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232020000100012&lng=pt&nrm=iso&tling=pt. Acesso em: 26 jul. 2021.

GUO, X. *et al.* *Culex pipiens quinquefasciatus*: a potential vector to transmit Zika virus. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. e102, set. 2016.

GUZMAN, M. G. *et al.* Dengue infection. **Nature Reviews Disease Primers**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 1–25, 18 ago. 2016.

HALSTEAD, S. Recent advances in understanding dengue. **F1000Research**, [S. l.], v. 8, p. F1000 Faculty Rev-1279, 31 jul. 2019.

HUANG, Y.-J. S.; HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D. L. Emergence and re-emergence of mosquito-borne arboviruses. **Current Opinion in Virology**, [S. l.], v. 34, p. 104–109, 1 fev. 2019.

JONES, R. *et al.* Arbovirus vectors of epidemiological concern in the Americas: A scoping review of entomological studies on Zika, dengue and chikungunya virus vectors. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. e0220753, 6 fev. 2020.

JUNIOR, J. B. S. *et al.* Epidemiology and costs of dengue in Brazil: a systematic literature review. **International Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 122, p. 521–528, 1 set. 2022.

KAMAL, M. *et al.* Mapping the global potential distributions of two arboviral vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* under changing climate. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 12, p. e0210122, 31 dez. 2018.

KHETARPAL, N.; KHANNA, I. Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. **Journal of Immunology Research**, [S. l.], v. 2016, p. 6803098, 2016.

KRAEMER, M. U. *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **eLife**, [S. l.], v. 4, p. e08347, 30 jun. 2015.

KRAEMER, M. U. G. *et al.* Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature Microbiology**, [S. l.], v. 4, n. 5, p. 854–863, maio 2019.

LANCIOTTI, R. S. *et al.* Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 1232–1239, ago. 2008.

LAURETI, M. *et al.* Flavivirus Receptors: Diversity, Identity, and Cell Entry. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 9, p. 2180, 26 set. 2018.

LEE, C. Y.-P.; NG, L. F. P. Zika virus: from an obscurity to a priority. **Microbes and Infection**, [S. l.], v. 20, n. 11, p. 635–645, 1 dez. 2018.

LETA, S. *et al.* Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 67, p. 25–35, fev. 2018.

LIMA-CAMARA, T. N. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, [S. l.], v. 50, n. 0, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102016000100602&lng=en&tling=en. Acesso em: 26 jul. 2021.

LIN, H.-H. *et al.* Zika virus structural biology and progress in vaccine development. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 36, n. 1, p. 47–53, 1 jan. 2018.

LOPEZ-JIMENA, B. *et al.* Development of a single-tube one-step RT-LAMP assay to detect the Chikungunya virus genome. **PLoS neglected tropical diseases**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. e0006448, maio 2018.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FAILLOUX, A.-B. High risk for chikungunya virus to initiate an enzootic sylvatic cycle in the tropical Americas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. e0005698, 29 jun. 2017.

MACLEOD, H. J.; DIMOPOULOS, G. Detailed Analyses of Zika Virus Tropism in *Culex quinquefasciatus* Reveal Systemic Refractoriness. **mBio**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. e01765-20, 18 ago. 2020.

MAIN, B. J. *et al.* Vector competence of *Aedes aegypti*, *Culex tarsalis*, and *Culex quinquefasciatus* from California for Zika virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 12, n. 6, p. e0006524, 21 jun. 2018.

MARTINA, B. E. E.; KORAKA, P.; OSTERHAUS, A. D. M. E. Dengue Virus Pathogenesis: an Integrated View. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 564–581, out. 2009.

MARTINS, A. C. *et al.* Seroprevalence and Seroconversion of Dengue and Implications for Clinical Diagnosis in Amazonian Children. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, [S. l.], v. 2014, p. 703875, 2014.

- MARTINS, V. E. P. *et al.* Occurrence of Natural Vertical Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 7, n. 7, p. e41386, 25 jul. 2012.
- MCKENZIE, B. A.; WILSON, A. E.; ZOHDY, S. *Aedes albopictus* is a competent vector of Zika virus: A meta-analysis. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 14, n. 5, p. e0216794, 21 maio 2019.
- MEDEIROS, A. S. *et al.* Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Importance of virological and entomological surveillance. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. e0194108, 13 mar. 2018.
- MILAGRES, F. A. de P. **Características sociodemográficas, virológicas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika e fatores associados à infecção por esse arbovírus no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016**. 2021. PhD Thesis – Universidade de São Paulo, 2021.
- MUHAMMAD AZAMI, N. A. *et al.* Dengue epidemic in Malaysia: Not a predominantly urban disease anymore. **BMC research notes**, [S. l.], v. 4, p. 216, 29 jun. 2011.
- MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika Virus. **Clinical Microbiology Reviews**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 487–524, jul. 2016.
- MUSTAFA, M. S. *et al.* Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, [S. l.], v. 71, n. 1, p. 67–70, jan. 2015.
- NASCI, R. S. A lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. **Mosquito News**, [S. l.], 1981.
- NUCKOLS, J. T. *et al.* Evaluation of Simultaneous Transmission of Chikungunya Virus and Dengue Virus Type 2 in Infected *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 447–451, maio 2015.
- O'DONNELL, K. L. *et al.* Potential of a Northern Population of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) to Transmit Zika Virus. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 54, n. 5, p. 1354–1359, set. 2017.
- OGUNLADE, S. T. *et al.* A Review: Aedes-Borne Arboviral Infections, Controls and Wolbachia-Based Strategies. **Vaccines**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 32, 8 jan. 2021.
- PEREIRA, A. R. *et al.* Prevalence of chronic noncommunicable diseases and their associated factors in adults over 39 years in riverside population in the Western Brazilian Amazon region. **Journal of Human Growth and Development**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 55–63, 31 jan. 2022.
- PEREIRA-SILVA, J. W. *et al.* Distribution and diversity of mosquitoes and Oropouche-like virus infection rates in an Amazonian rural settlement. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. e0246932, 16 fev. 2021.

PETERSEN, L. R.; BUSCH, M. P. Transfusion-transmitted arboviruses. **Vox Sanguinis**, [S. l.], v. 98, n. 4, p. 495–503, 2010.

PIELNAA, P. *et al.* Zika virus-spread, epidemiology, genome, transmission cycle, clinical manifestation, associated challenges, vaccine and antiviral drug development. **Virology**, [S. l.], v. 543, p. 34–42, abr. 2020.

POLONIO, C. M. *et al.* Zika virus congenital syndrome: experimental models and clinical aspects. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, [S. l.], v. 23, p. 41, 15 set. 2017.

POLONIO, C. M.; PERON, J. P. S. ZIKV Infection and miRNA Network in Pathogenesis and Immune Response. **Viruses**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 1992, 4 out. 2021.

PRABHAT, N. *et al.* Atypical neurological manifestations of dengue fever: a case series and mini review. **Postgraduate Medical Journal**, [S. l.], v. 96, n. 1142, seq. Review, p. 759–765, 1 dez. 2020.

PUERTA-GUARDO, H. *et al.* Flavivirus NS1 Triggers Tissue-Specific Vascular Endothelial Dysfunction Reflecting Disease Tropism. **Cell reports**, [S. l.], v. 26, n. 6, p. 1598-1613.e8, 5 fev. 2019.

QUEIROZ, J. A. da S. *et al.* Phylogenetic Characterization of Arboviruses in Patients Suffering from Acute Fever in Rondônia, Brazil. **Viruses**, [S. l.], v. 12, n. 8, p. 889, 14 ago. 2020.

ROUNDY, C. M. *et al.* Lack of evidence for Zika virus transmission by Culex mosquitoes. **Emerging Microbes & Infections**, [S. l.], v. 6, n. 10, p. e90, out. 2017.

SACRAMENTO, R. H. M. *et al.* Dengue Fever and Aedes aegypti in indigenous Brazilians: seroprevalence, risk factors, knowledge and practices. **Tropical Medicine & International Health**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 596–604, 2018.

SÁNCHEZ-SECO, M. P. *et al.* A generic nested-RT-PCR followed by sequencing for detection and identification of members of the alphavirus genus. **Journal of Virological Methods**, [S. l.], v. 95, n. 1–2, p. 153–161, jun. 2001.

SANTOS SOUZA, H. F.; DA SILVA ALMEIDA, B.; BOSCARDIN, S. B. Early dengue virus interactions: the role of dendritic cells during infection. **Virus Research**, [S. l.], v. 223, p. 88–98, set. 2016.

SERRA, O. P. *et al.* Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 111, n. 1, p. 20–29, jan. 2016.

SHANNON, R. C. Methods for Collecting and Feeding Mosquitoes in Jungle Yellow Fever Studies 1. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], 1 mar. 1939. Disponível em: <https://www.scienceopen.com/document?vid=ffe85267-b007-4387-af35-e46068586484>. Acesso em: 7 maio 2022.

SHARMA, V. *et al.* Zika virus: an emerging challenge to public health worldwide. **Canadian Journal of Microbiology**, [S. l.], v. 66, n. 2, p. 87–98, fev. 2020.

SHI, Y.; GAO, G. F. Structural Biology of the Zika Virus. **Trends in Biochemical Sciences**, [S. l.], v. 42, n. 6, p. 443–456, 1 jun. 2017.

SILVA, J. V. J. *et al.* A scoping review of Chikungunya virus infection: epidemiology, clinical characteristics, viral co-circulation complications, and control. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 188, p. 213–224, dez. 2018.

SILVA-NUNES, M. da *et al.* Risk Factors for Dengue Virus Infection in Rural Amazonia: Population-based Cross-sectional Surveys. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 79, n. 4, seç. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, p. 485–494, 1 out. 2008.

SIPS, G. J.; WILSCHUT, J.; SMIT, J. M. Neuroinvasive flavivirus infections. **Reviews in Medical Virology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 69–87, 2012.

SMARTT, C. T. *et al.* Evidence of Zika Virus RNA Fragments in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Field-Collected Eggs From Camaçari, Bahia, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 1085–1087, 1 jul. 2017.

SUDIA, W. D.; CHAMBERLAIN, R. W. Battery-operated light trap, an improved model. By W. D. Sudia and R. W. Chamberlain, 1962. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 536–538, dez. 1988.

SUHRBIER, A. Rheumatic manifestations of chikungunya: emerging concepts and interventions. **Nature Reviews Rheumatology**, [S. l.], v. 15, n. 10, p. 597–611, out. 2019.

VAN LEUR, S. W. *et al.* Pathogenesis and virulence of flavivirus infections. **Virulence**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 2814–2838, 31 dez. 2021.

VENTURA, C. V. *et al.* Zika: neurological and ocular findings in infant without microcephaly. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 387, n. 10037, p. 2502, 18 jun. 2016.

VERHAGEN, L. M.; GROOT, R. de. Dengue in children. **Journal of Infection**, [S. l.], v. 69, p. S77–S86, 1 nov. 2014.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 5ª edição. [S. l.]: Editora Atheneu, 2015.

VU, D. M.; JUNGKIND, D.; ANGELLE DESIREE LABEAUD. Chikungunya Virus. **Clinics in Laboratory Medicine**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 371–382, jun. 2017.

WAHED, A. A. E. *et al.* Recombinase Polymerase Amplification Assay for Rapid Diagnostics of Dengue Infection. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. e0129682, 15 jun. 2015.

WEAVER, S. C. *et al.* Zika Virus: History, Emergence, Biology, and Prospects for Control. **Antiviral research**, [S. l.], v. 130, p. 69–80, jun. 2016.

WEGER-LUCARELLI, J. *et al.* Vector Competence of American Mosquitoes for Three Strains of Zika Virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 10, n. 10, p. e0005101, 26 out. 2016.

WEI, Y. *et al.* Vector Competence for DENV-2 Among *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Populations in China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 11, p. 649975, 23 mar. 2021.

WENHAM, C. *et al.* Gender mainstreaming as a pathway for sustainable arbovirus control in Latin America. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. e0007954, 27 fev. 2020.

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

YOUNG, P. R. Arboviruses: A Family on the Move. *In*: HILGENFELD, R.; VASUDEVAN, S. G. (org.). **Dengue and Zika: Control and Antiviral Treatment Strategies**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Singapore: Springer Singapore, 2018. v. 1062, p. 1–10. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-981-10-8727-1_1. Acesso em: 26 jul. 2021.

ZAID, A. *et al.* Review: Chikungunya Arthritis: Implications of Acute and Chronic Inflammation Mechanisms on Disease Management. **Arthritis & Rheumatology**, [S. l.], v. 70, n. 4, p. 484–495, 2018.

ZAPATA, J. C.; COX, D.; SALVATO, M. S. The Role of Platelets in the Pathogenesis of Viral Hemorrhagic Fevers. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. e2858, 12 jun. 2014.