



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
INSTITUTO DE ESTUDOS EM SAÚDE COLETIVA

**MÁRIO SÉRGIO RIBEIRO**

MONITORAMENTO ENTOMOVIROLÓGICO DO DENGUE E OUTROS ARBOVÍRUS, A  
PARTIR DE DADOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS, NO ESTADO DO RIO DE  
JANEIRO, NO PERÍODO DE 2010 A 2016

Rio de Janeiro  
2019

MÁRIO SÉRGIO RIBEIRO

MONITORAMENTO ENTOMOVIROLÓGICO DO DENGUE E OUTROS ARBOVÍRUS, A  
PARTIR DE DADOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS, NO ESTADO DO RIO DE  
JANEIRO, NO PERÍODO DE 2010 A 2016

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Roberto de Andrade Medronho

Coorientador: Prof. Dr. Davis Fernandes Ferreira

Rio de Janeiro

2019

R484

Ribeiro, Mário Sérgio.

Monitoramento entomoviológico do dengue e outros arbovírus, a partir de dados primários e secundários, no Estado do Rio de Janeiro, no período de 2010 a 2016 / Mário Sérgio Ribeiro. – Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, 2019.

95 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Roberto de Andrade Medronho.

Coorientador: Davis Fernandes Ferreira.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, 2019.

Referências: f. 88-95.

1. Arboviroses. 2. Artrópodes. 3. Vigilância entomoviológica. 4. Índice de infestação. I. Medronho, Roberto de Andrade. II. Ferreira, Davis Fernandes. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva. IV. Título.

CDD 579.2562

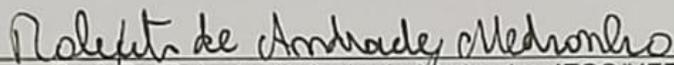
FOLHA DE APROVAÇÃO

Mario Sergio Ribeiro

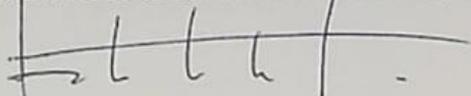
MONITORAMENTO DA CIRCULAÇÃO DOS SOROTIPOS VIRAIS DO DENGUE  
E DE INDICADORES ENTOMOLÓGICOS DO *Aedes Aegypti*, A PARTIR DE  
DADOS SECUNDÁRIOS, NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Saúde  
Coletiva, do Instituto de Estudos em  
Saúde Coletiva da Universidade  
Federal do Rio de Janeiro, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Doutor em Saúde Coletiva.

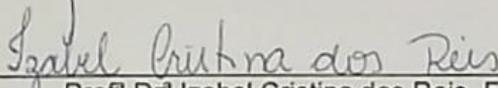
Aprovada em 05/07/2019.



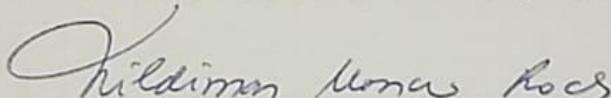
Prof. Dr. Roberto de Andrade Medronho, IESC/UFRJ



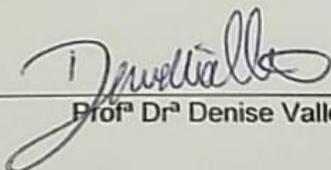
Prof. Dr. Antonio José Leal Costa, IESC/UFRJ



Profª Drª Izabel Cristina dos Reis, Fiocruz



Profª Drª Nildimar Honório Rocha, Fiocruz



Profª Drª Denise Valle, Fiocruz

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela oportunidade de ter uma família que me apoia e me sustenta com amor, carinho e compreensão.

À minha saudosa mãe (in memoriam) e ao meu querido pai, que souberam me conduzir por caminhos retos e justos, e me ensinaram a perseguir meus objetivos na vida.

À minha querida e amada esposa Céia Ribeiro, pelo seu incondicional apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida, não me negando carinho, compreensão e paciência, em mais essa empreitada que foi o doutorado, durante quatro longos anos de curso.

Ao Prof. Dr. Roberto Medronho, meu orientador, que apesar de sua laboriosa função na UFRJ, dedicou tempo, atenção, e criteriosa análise sobre os resultados deste trabalho, paciente nas minhas dificuldades e sempre proferindo palavras de incentivo e compreensão.

Ao Prof. Dr. Davis Fernandes, meu segundo orientador, pelo apoio fundamental ao desenho inicial do projeto, culminando na minha conquista após esses quatro anos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Renata Campos, também por ter apoiado meu ingresso no projeto e seu desenho inicial, além de ter sido fundamental nas análises das amostras enviadas ao laboratório, bem como na elaboração do desenho e publicação do 1º artigo.

Aos meus superiores hierárquicos da Subsecretaria de Vigilância em Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Dr<sup>a</sup> Hellen Miyamoto em 2015, Dr. Alexandre Chieppe entre 2016 e 2018, e Dr<sup>a</sup> Cláudia Mello em 2018 e 2019, pela autorização e compreensão nos momentos de ausência no trabalho, para dedicar-me aos estudos.

Aos meus incondicionais amigos da Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, pelo apoio, paciência, incentivo e carinho com que muitos me tratam, e pela dedicação daqueles que durante as atividades de campo, geraram dados e informações, fundamentais para subsidiar a elaboração deste trabalho.

À minha querida amiga Cristina Giordano, responsável direta pela minha indicação para entrar no projeto, me oportunizando o ingresso no doutorado, e pela amizade e incentivo permanentes.

Aos colegas de turma, que compartilharam comigo alguns momentos em sala de aula e, sobretudo, pela oportunidade de tê-los conhecido nessa caminhada. Espero que todos tenham alcançado seus objetivos.

Aos profissionais do laboratório do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, do Departamento de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IMPG/DV/UFRJ) e ao Dr. Jonas, pelo apoio do Laboratório de Instituto de Medicina Tropical em Hamburgo, Alemanha, que atuou como colaborador para realização da técnica de sequenciamento genômico, pela participação nas análises do material coletado e auxílio na tabulação dos resultados.

A todos os professores, que ao longo do curso, dispensaram, com dedicação e empenho, seus conhecimentos em benefício de todos os alunos, para facilitar-lhes o aprendizado e consequente aplicação em serviço.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Geresa Gibson, pela participação na elaboração da análise estatística dos dados e por participar da redação do trabalho final.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Valle, que além da participação na banca foi a revisora do texto antes e depois da Defesa, examinando com rigor científico, mas com muito carinho, dando preciosas contribuições ao texto final.

Aos demais membros da banca examinadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Nildimar Honório, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Izabel e Prof. Dr. Antônio José Leal, pela análise criteriosa, robusta e profunda do texto, resultando em contribuições importantes para a sua redação final.

À coordenação do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva (IESC/UFRJ) por ter permitido meu ingresso e me dado todo o apoio com sua equipe de administração, para cumprimento dos deveres acadêmicos.

## RESUMO

RIBEIRO, Mário Sérgio. **Monitoramento entomoviológico do dengue e outros arbovírus, a partir de dados primários e secundários, no estado do Rio de Janeiro, no período de 2010 a 2016.** Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) – Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Arboviroses são doenças transmitidas por artrópodes, e surgem periodicamente em áreas urbanas, sob forma epidêmica, tais como, dengue e, mais recentemente, chikungunya e Zika. Porém, a dengue é considerada a mais importante arbovirose transmitida por mosquitos ao homem. *Aedes aegypti* é o vetor primário do dengue, e está associado a ambientes urbanos e suburbanos, onde a densidade populacional humana é elevada e a oferta de criadouros é abundante, principalmente nas residências. Dentre as medidas adotadas para enfrentamento ao problema do dengue, as vigilâncias epidemiológica, virológica e entomológica são ferramentas utilizadas pelos programas municipais, para nortear as ações de controle do vetor, visando a redução do seu impacto sobre a população. O objetivo deste trabalho foi realizar um monitoramento entomoviológico em mosquitos coletados em unidades de saúde, nos anos de 2014 e 2015. Adicionalmente, foi realizado um estudo ecológico, visando estabelecer possíveis correlações entre variáveis entomológicas, epidemiológicas e socioambientais de interesse do estudo no período de 2010 a 2016. Foram realizadas coletas de mosquitos em unidades de Pronto Atendimento selecionadas para o estudo. Foi feita análise considerando três recortes do porte populacional dos municípios do estado (pequeno, médio e grande porte), para observar se o comportamento dos índices de infestação predial (IIP) e as taxas de incidência (TI) eram concordantes entre si. Para verificar a consistência entre IIP e Índice de Breteau (IB), calculou-se a correlação de Spearman entre ambos, para verificar a qualidade no processo de coleta de amostras nos imóveis, feitas durante o Levantamento de Índice Rápido para o *Aedes aegypti* (LIRAA). Foram obtidas as curvas *Receiver Operating Characteristic* (ROC) para caracterizar a sensibilidade e especificidade entre IIP e TI, com o objetivo de medir a acurácia global do método de pesquisa entomológica (LIRAA). Este estudo descreve pela primeira vez no Brasil a detecção e caracterização de um bunyavírus recentemente descoberto, o Wutai mosquito fasivírus, e confirma a presença deste vírus nos principais vetores urbanos para os arbovírus, *Culex spp.* e *Aedes spp.* Concluiu-se que só houve correlação direta entre IIP aferidos pelo LIRAA no mês de outubro e TI dos anos subsequentes no período de 2011/2012, quando a correlação, embora com significância estatística, foi moderada ( $r = 0,479$ ;  $p < 0,05$ ). Municípios considerados neste estudo como de porte populacional pequeno, abaixo de 50.000 habitantes, concentraram 78,37% dos IIP abaixo de 1%, enquanto nos municípios considerados de grande porte (> 200.000 hab.) esse valor foi de 36,92%. Os IIP e IB apresentaram valores praticamente iguais nos cinco anos analisados, sugerindo que há falta de compreensão por parte dos profissionais que executam a metodologia LIRAA, quanto a importância do IB na identificação dos criadouros positivos predominantes nos imóveis. O IIP na faixa de 0,65% apresentou maior sensibilidade para identificar o provável ponto de corte, para transmissão com TI acima de 300 casos por 100 mil habitantes. Este estudo reforça a necessidade de investimentos permanentes e robustos na definição de mecanismos alternativos, capazes de melhorar o desenho de possíveis cenários de epidemias de dengue e outras arboviroses.

Palavras chaves: Arboviroses. Artrópodes. Vigilância entomoviológica. Índice de infestação.

## ABSTRACT

RIBEIRO, Mário Sérgio. **Entomovirological monitoring of dengue and other arboviruses from primary and secondary data in the state of Rio de Janeiro, from 2010 to 2016.** Thesis (Doctorate in Collective Health) - Institute of Studies in Collective Health, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Arbovirus diseases are transmitted by arthropods, and periodically appear in urban areas in epidemic form, such as dengue and, more recently, chikungunya and Zika. However, dengue is considered the most important arbovirus disease transmitted by mosquitoes to man. *Aedes aegypti* is the primary vector of dengue, and is associated with urban and suburban environments, where human population density is high and breeding areas are abundant, especially in homes. Among the measures adopted to address the dengue problem, epidemiological, virological and entomological surveillance are tools used by municipal programs to guide vector control actions aimed at reducing its impact on the population. The objective of this study was to perform an entomologicalvirological monitoring of mosquitoes collected in health facilities in 2014 and 2015. Additionally, an ecological study was conducted to establish possible correlations between entomological, epidemiological and socio-environmental variables of interest in the study period from 2010 to 2016. Mosquitoes were collected in emergency units selected for the study. An analysis was performed considering three population size cut-offs of the municipalities of the state (small, medium and large), to see if the behavior of building infestation rates (BIR) and incidence rates (IR) were in agreement with each other. To verify the consistency between BIR and Breteau Index (BI), we calculated the Spearman correlation between them to verify the quality of the facilities sample collection process performed during the *Aedes aegypti* Rapid Index Survey (LIRAA). Receiver Operating Characteristic (ROC) curves were obtained to characterize the sensitivity and specificity between BIR and IR, in order to measure the overall accuracy of the entomological research method (LIRAA). This study describes for the first time in Brazil the detection and characterization of a newly discovered bunyavirus, the Wutai mosquito flavivirus, and confirms the presence of this virus in the main urban arbovirus vectors, *Culex spp.* and *Aedes spp.* It was concluded that there was only a direct correlation between BIR measured by LIRAA in October and IR of subsequent years in 2011/2012, when the correlation, although statistically significant, was moderate ( $r = 0.479$ ;  $p < 0.05$ ). Municipalities considered in this study as small population, below 50,000 inhabitants, concentrated 78.37% of the BIR below 1%, while in the municipalities considered large (> 200,000 inhabitants) this value was 36.92%. The BIR and BI presented practically the same values in the five years analyzed, suggesting that there is a lack of understanding from the professionals that perform the LIRAA methodology, as to the importance of the BI in identifying the predominant positive breeding sites in the properties. BIR in the 0.65% range showed higher sensitivity to identify the probable cutoff point for transmission with IR above 300 cases per 100,000 inhabitants. This study reinforces the need for permanent and robust investments in the definition of alternative mechanisms capable of improving the design of possible dengue and other arbovirus epidemic scenarios.

Keywords: Arboviruses. Arthropods. Entomovirological surveillance. Infestation index.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Série histórica do número de casos notificados e óbitos por dengue e sorotipos predominantes no estado do Rio de Janeiro, nos anos epidêmicos, de 1986 a 2018.....	17
Figura 3 - Foto ilustrativa do material utilizado na captura de mosquitos adultos: (A) aspirador movido a bateria; (B) saco coletor; bateria; (C) gaiola de plástico usada para transporte dos mosquitos capturados; (D) bolsa de couro para transporte da bateria; (E) bateria; (F) <i>BG-Sentinel</i> <sup>®</sup> .....	34
Figura 5 - Diagrama de Controle do Estado RJ - série histórica 2001 a 2017, exceto anos de epidemia no estado: 2002, 2008, 2011, 2012, 2013, 2015 e 2016 .....	37
Figura 6 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência e variáveis climáticas: A (2011); B (2012); C (2013); D (2015); E (2016) .....	80

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Relação, na cidade do Rio de Janeiro, das Unidades de Pronto Atendimento (UPA) estaduais e dos equipamentos das diferentes modalidades de competições nos Jogos Olímpicos e Paraolímpicos de 2016, selecionados para o estudo .....	32
Quadro 2 - Rotas para pesquisa entomológica e cronograma de atividades durante a semana nos anos de 2014 e 2015 .....	34
Quadro 3 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e Índice de Infestação Predial do LIRAA de outubro do ano anterior, considerando os 92 municípios. ....	77
Quadro 4 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e cobertura de Atenção Básica do mesmo ano .....	78
Quadro 5 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e variáveis socioeconômicas do Censo IBGE/2010 .....	79

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição das espécies coletadas por local de coleta, método de coleta e ano da coleta.....	43
Tabela 2 - Modelo com preditores que apresentaram significância na regressão linear, associando TI de dengue do ano de 2012, IIP de 2011 e variáveis socioambientais .....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UPA – Unidade de Pronto Atendimento

LIRAA – Levantamento de Índice de Infestação Predial para o *Aedes aegypti*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

TI – Taxa de Incidência

IIP – Índice de Infestação Predial

RNA – Ácido Ribonucleico

WHO – World Health Organization

ORO – Vírus Oropouche

MAYV – Vírus Mayaro

CHIKV – Vírus Chikungunya

ZIKV – Vírus Zika

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control

DENV – Vírus Dengue

DENV1 – Vírus Dengue do sorotipo 1

DENV2 – Vírus Dengue do sorotipo 2

DENV3 – Vírus Dengue do sorotipo 3

DENV4 – Vírus Dengue do sorotipo 4

SES-RJ – Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro

DCV – Divisão de Controle de Vetores

VIEs – Vírus Inseto-específico

RNApol – Ácido Ribonucleico Polimerase

RNAdep – Ácido Ribonucleico Dependente

FUNASA – Fundação Nacional de Saúde

SUCAM – Superintendência de Campanhas de Saúde Pública

ASP – Agente de Saúde Pública

GE – Guarda de Endemias

MS – Ministério da Saúde

ACE – Agente de Controle de Endemias

ACS – Agente Comunitário de Saúde

APS – Atenção Primária à Saúde

AB – Atenção Básica

CIV – Controle de Insetos Vetores

CGArb – Coordenação Geral de Vigilância das Arboviroses

PCR – Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)

GPS – Global Positioning System (Sistema de Posicionamento Global)

BGS – BG-Sentinel Professional Traps (Armadilha BG-Sentinel)

IMPG/DV/UFRJ – Instituto de Microbiologia Paulo de Góes – Departamento de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro

DATASUS – Departamento de Informática do SUS

SUS – Sistema Único de Saúde

IB – Índice de Breteau

ITR – Índice por Tipo de Recipientes

BDMEP – Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia

BGS – BG-Sentinel Professional Traps (Armadilha BG-Sentinel)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
1.1 ARBOVÍRUS .....	14
1.2 DENGUE.....	16
1.3 <i>Aedes Aegypti</i> – VETOR PRIMÁRIO DE DENGUE .....	18
1.4 <i>Aedes albopictus</i> – VETOR POTENCIAL DE DENGUE .....	19
1.5 VÍRUS INSETO-ESPECÍFICO .....	21
1.6 OS DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DA DENGUE.....	22
1.7 MEDIDAS DE CONTROLE VIGENTES .....	23
<b>2 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>26</b>
<b>3 HIPÓTESES .....</b>	<b>28</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
4.1 OBJETIVO GERAL.....	29
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>5 METODOLOGIA.....</b>	<b>30</b>
5.1 DELINEAMENTO DO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1 .....	30
<b>5.1.1 Áreas de estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1.2 Técnicas para a captura e coleta de espécimes .....</b>	<b>32</b>
<b>5.1.3 Pesquisa de Campo.....</b>	<b>34</b>
5.2 DELINEAMENTO DO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2 .....	35
<b>5.2.1 Área de estudo.....</b>	<b>35</b>
<b>5.2.2 Variáveis utilizadas no estudo .....</b>	<b>35</b>
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
6.1 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1., SOBRE AS COLETAS REALIZADAS NAS UPAS .....	41
6.2 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1 – ARTIGO 1 .....	44
6.3 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2, COM PRODUÇÃO DE MANUSCRITO .....	55
6.4 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA INTERAÇÃO ENTRE TAXA DE INCIDÊNCIA, ÍNDICE DE INFESTAÇÃO PREDIAL E VARIÁVEIS SOCIOECONÔMICAS .....	76
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>81</b>
7.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS DAS ANÁLISES DOS IIP E TI.....	81
7.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS E SOCIOECONÔMICAS .....	84

<b>8 CONCLUSÕES.....</b>	<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>88</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ARBOVÍRUS

O termo “arbovírus” origina-se das duas primeiras letras das palavras que compõem a expressão inglesa *arthropod-borne*, acrescida da palavra vírus. Eles constituem o maior grupo conhecido de vírus, com 537 membros registrados no Catálogo Internacional dos Arbovírus e outros vírus de vertebrados do mundo, distribuídos em 63 grupos antigênicos. Possuem genoma constituído por ácido ribonucléico (RNA), que pode ser segmentado ou não, e apresentar-se com uma ou duas fitas (MONATH, 1988).

A maior parte dos arbovírus pertence aos gêneros *Alphavirus* (família *Togaviridae*) e *Flavivirus* (família *Flaviviridae*); outros membros de importância para a saúde humana são das famílias *Reoviridae*, *Rhabdoviridae* e a ordem *Bunyavirales*. Os vírus mais importantes para a saúde humana são os transmitidos por culicídeos, principalmente dos gêneros *Culex* e *Aedes*, embora existam arbovírus transmitidos por outros artrópodes, como flebotomíneos e também em carrapatos (WEAVER; REISEN, 2010 *apud* DONALISIO, 2017).

Os estudos de metagenômica no mundo estão demonstrando uma ampla variedade de vírus circulando em artrópodes, não só arbovírus, mas também vírus inseto-específico, os quais podem apresentar potencial para serem patógenos em mamíferos (ZHANG *et al.*, 2018; ANDREW *et al.*, 2019). O isolamento e a caracterização desses vírus aumentam o conhecimento sobre a evolução viral e o entendimento sobre a emergência dos arbovírus (AUGUSTE *et al.*, 2014).

Os arbovírus são vírus mantidos na natureza mediante transmissão biológica (I) entre hospedeiros vertebrados suscetíveis e artrópodes hematófagos, ou (II) de hospedeiro artrópode a hospedeiro artrópode, por via transovariana e, possivelmente, por via venérea. Multiplicam-se e produzem viremia nos vertebrados, assim como nos tecidos dos artrópodes, e são repassados a novos vertebrados suscetíveis através da picada do inseto, após um período de incubação extrínseca (WHO, 1985).

As arboviroses, originalmente, são zoonoses mantidas em ambiente silvestre. Consequentemente, as pessoas que mantêm contato com os focos enzoóticos dos arbovírus são as que correm maiores riscos de adquirir a infecção. No entanto, certas arboviroses surgem periodicamente em áreas urbanas, sob forma epidêmica, tais como, dengue,

oropouche, mayaro e rocio (TRAVASSOS DA ROSA *et al.*, 1997), e mais recentemente, chikungunya e Zika.

Alguns arbovírus constituem sério problema, global ou regional, de saúde pública devido à expressiva morbidade e/ou mortalidade que ocasionam. Dentre eles, ocorrem nas Américas o vírus da febre amarela, o vírus dengue, o vírus Oropouche, o vírus Mayaro e diversos agentes responsáveis por encefalites (CRUZ; VASCONCELOS, 2008). Vasconcelos *et al.*, (1989) destacaram que a febre do Oropouche (ORO) constitui, em termos de Saúde Pública, uma das arboviroses mais importantes na Amazônia brasileira. Esse vírus antigenicamente está incluído no sorogrupo Simbú, da classificação de CASALS 1 e, taxonomicamente, integra o gênero *Orthobunyavirus*, da família *Peribunyaviridae*, na ordem *Bunyavirales*.

Mourão *et al.*, (2012) registraram a ocorrência de casos de febre Mayaro em 2007-2008, em Manaus-AM, em pesquisa de anticorpos IgM contra o vírus Mayaro (MAYV) utilizando culturas de células infectadas como antígeno no soro de 33 pacientes. Esses pacientes apresentavam principalmente cefaleia, artralgia, mialgia, dor ocular e erupção cutânea. Segundo os autores, “esses casos de febre Mayaro provavelmente representam a ponta de um iceberg, e provavelmente um número muito maior de casos ocorreu em Manaus no período do estudo”.

Em 2014, emerge no Brasil a preocupação com o vírus chikungunya (CHIKV), pelo seu alto potencial de transmissão em países da Ásia e África, podendo ser transmitido pelo *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (PIALOUX *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2013). Ambos são vetores bem adaptados e disseminados no Brasil (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; NOGUEIRA *et al.*, 2001; TEIXEIRA *et al.*, 2002), especialmente em áreas urbanas e suburbanas (CHRISTOPHERS, 1960; HAWLEY, 1988; TAUILL, 2001; BRAKS *et al.*, 2003; LIMA-CAMARA *et al.*, 2006; HONÓRIO *et al.*, 2009), o que torna um desafio a vigilância e o monitoramento oportuno de chikungunya (DONALISIO; FREITAS, 2015).

Entre 2013 e 2014 a Polinésia Francesa registra um surto de casos suspeitos de infecção com o vírus Zika (ZIKV), contabilizando mais de oito mil casos. Seus aspectos clínicos foram consistentes com a literatura, que a tratava como uma arbovirose com sintomas leves, que não requeria hospitalização por formas hemorrágicas; também não houve mortes naquela ilha (ECDC, 2014). No entanto, foi documentada no período uma epidemia concomitante de 73 casos de síndrome de Guillain-Barré e outras condições neurológicas em

uma população de aproximadamente 270.000, o que poderia ter representado um quadro de complicações por Zika (FAUCI; MORENS, 2016).

Em 2015, foi relatada pela primeira vez a identificação do ZIKV como agente causador de um surto no Rio Grande do Norte, no Nordeste brasileiro (ZANLUCA *et al.*, 2015). Este vírus também foi identificado no estado da Bahia (CAMPOS *et al.*, 2015), sendo mais tarde registrada sua associação com casos de microcefalia (ARAÚJO *et al.*, 2016). Esta situação levou o Ministério da Saúde a declarar que a ocorrência de Zika era uma Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (MS, 2015), fato que desencadeou uma grande comoção em diferentes setores da sociedade, levando o país a um movimento social para enfrentamento ao ZIKV.

## 1.2 DENGUE

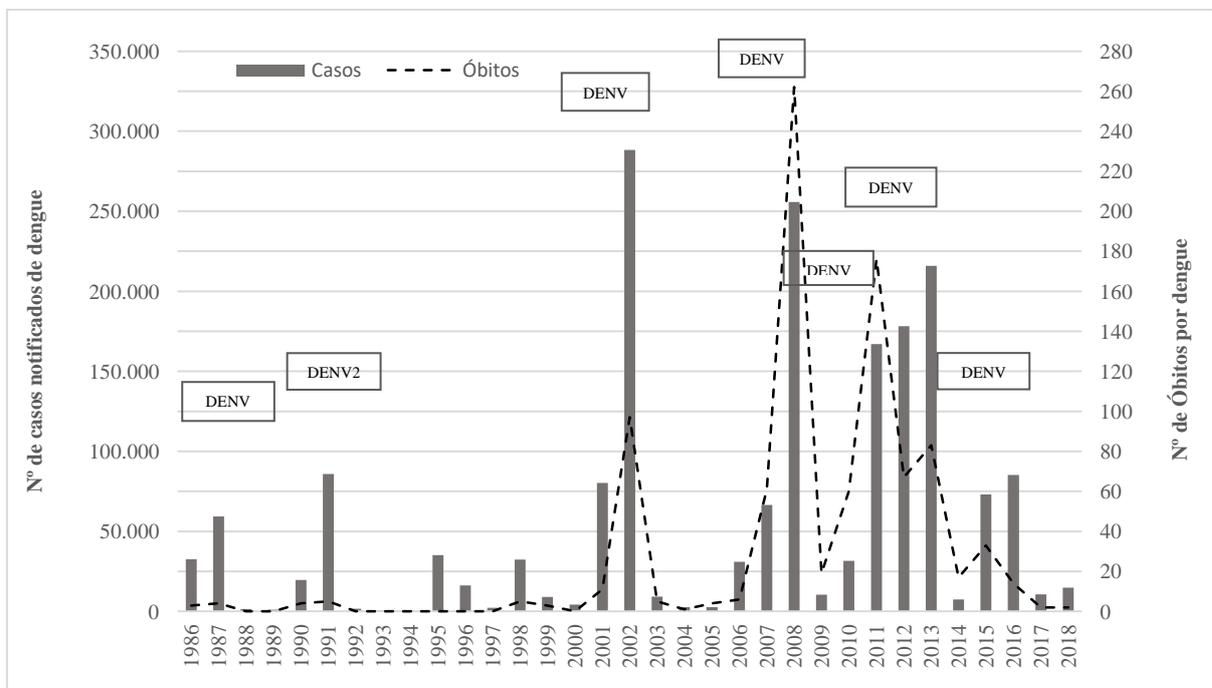
A dengue é atualmente considerada a mais importante arbovirose transmitida por mosquitos ao homem (GUBLER; KUNO, 1997). As estimativas sugerem que podem ocorrer de 50 a 100 milhões de casos anuais de dengue, ocasionando aproximadamente 250.000 a 500.000 casos de febre hemorrágica e 24.000 mortes/ ano em todo o mundo (WHO, 1997, 2011; HALSTEAD, 2008). Pesquisa recente sugere que o número de casos pode ser três vezes maior que o projetado pela OMS, estimando-se em 390 milhões de infecções por ano, das quais 96 milhões se manifestam clinicamente (BHATT *et al.*, 2013). É caracterizada como uma doença infecciosa aguda causada por vírus (DENV), de genoma RNA, pertencente à família Flaviviridae e ao gênero Flavivírus, sendo conhecidos quatro sorotipos antigenicamente distintos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (GUBLER, 1997; HALSTEAD, 2008). São transmitidos aos seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*. Nesse processo, há o período de incubação extrínseco, que ocorre no mosquito, quando o vírus se multiplica, por período de 8 a 12 dias e, a seguir, migra para as glândulas salivares, propiciando a transmissão para o hospedeiro durante a alimentação. Por outro lado, a incubação intrínseca, que ocorre no organismo humano durante a viremia, se estende desde um dia antes do aparecimento dos sintomas até o quinto dia da doença (MS, 1996). A principal espécie vetora é o *Aedes aegypti* (CHRISTOPHERS, 1960; CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

No Brasil há vários registros da circulação do vírus dengue, destacando-se inicialmente o isolamento do DENV-1 e DENV-4, durante uma epidemia na cidade de Boa

Vista, em Roraima, no início da década de 1980 (OSANAI *et al.*, 1983). Apesar da implementação de medidas de controle, em 1986 foi registrada a primeira epidemia de dengue no Rio de Janeiro causada pelo vírus DENV-1 (SCHATZMAYR *et al.*, 1986), episódio que marcou a disseminação do dengue para outras regiões do país, tornando-se um grande problema de saúde pública em âmbito nacional (NOGUEIRA *et al.*, 1999).

O estado do Rio de Janeiro, desde o episódio da entrada do DENV-1 em 1986, registrou sucessivas epidemias provocadas tanto pela introdução de novos sorotipos, que ocorreram em 1990 (DENV-2), 2000 (DENV-3) e 2010 (DENV-4), quanto pela reintrodução de sorotipos que há muito tempo não ocorriam no estado, como em 2008 (DENV-2) e em 2011 (DENV-1). Essa realidade, onde há circulação dos diferentes sorotipos virais, reforça a hipótese de que o estado do Rio de Janeiro é o mais receptivo para introdução e disseminação de novos sorotipos de dengue no Brasil (HONÓRIO *et al.*, 2009a). A Figura 1 apresenta a série temporal do número de casos notificados e óbitos por dengue no estado do Rio de Janeiro desde 1986 até 2018, e identifica os sorotipos predominantes que circularam no período (SES-RJ, 2018).

**Figura 1 - Série histórica do número de casos notificados e óbitos por dengue e sorotipos predominantes no estado do Rio de Janeiro, nos anos epidêmicos, de 1986 a 2018**



Fonte: SES-RJ.

### 1.3 *Aedes aegypti* – VETOR PRIMÁRIO DE DENGUE

O *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) é oriundo do continente Africano, sendo originalmente descrito no Egito. Mas, devido à frequente migração do homem pelo mundo, associada a constantes alterações antrópicas e a adaptação do vetor ao convívio com o homem, sua dispersão o transformou em um mosquito cosmopolita, ocupando, principalmente, as regiões tropicais do planeta, sendo levado por diferentes meios de transporte e se estabelecendo onde as condições favoreceram sua multiplicação (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

*Aedes aegypti* foi introduzido no Brasil durante o período colonial, provavelmente através do tráfico de escravos. Por ser também vetor da febre amarela, foi intensamente combatido e erradicado em nosso território em 1955. Uma reinvasão do *Aedes aegypti* em território brasileiro ocorreu no final da década de 1960, quando, após campanhas de controle, foi novamente considerado erradicado. Porém, a partir de 1976, o *Ae. aegypti* reiniciou sua expansão no Brasil, provavelmente a partir do litoral. Hoje em dia, essa espécie é encontrada em todos os estados do Brasil, sendo considerado o principal vetor dos quatro sorotipos do vírus dengue circulantes em território brasileiro (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; NOGUEIRA *et al.*, 2001; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA *et al.*, 2002; TEIXEIRA *et al.*, 2002).

*Aedes aegypti* está associado a ambientes urbanos e suburbanos, onde há elevada densidade populacional humana e alta concentração de residências (BRAKS *et al.*, 2003, LIMA-CAMARA *et al.*, 2006). Com efeito, sua distribuição pelo mundo se deu de forma passiva, sendo o homem o principal responsável por sua disseminação. Esta espécie está presente no domicílio e peridomicílio, tendo encontrado nos espaços urbanos as condições favoráveis para a sua permanência e proliferação, provavelmente devido à oferta abundante de criadouros produzidos pelo homem, aos quais se adaptou muito bem. As fêmeas de *Ae. aegypti* colocam seus ovos preferencialmente em criadouros artificiais, como pneus usados, garrafas, latas, potes, vasos de plantas e reservatórios de água destampados, como caixas d'água, cisternas e tonéis contendo água parada (CHRISTOPHERS, 1960; CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994), podendo, também, eventualmente colocá-los em criadouros naturais, como o *Ae. albopictus*.

Estudos recentes demonstram a elevada capacidade de adaptação do *Ae. aegypti* para se reproduzir em criadouros onde antes se pressupunha não apresentarem as condições

apropriadas para sobrevivência de suas formas imaturas. Arduino e Ávila (2015) desenvolveram estudo em um município do estado de São Paulo, com o objetivo de avaliar os tipos de criadouros e a água neles contida, para melhor conhecimento da dinâmica dessa espécie. Foram analisados aspectos como o volume, o oxigênio dissolvido, o pH, a condutividade elétrica e a temperatura da água dos recipientes. Ao final, os autores observaram elevada taxa de variação de todos os parâmetros mensurados no estudo, e encontraram imaturos em água com resíduos de óleo, ferrugem, tinta, sal e grande concentração de matéria orgânica. Tais resultados evidenciaram que o criadouro de *Ae. aegypti* não é mais o clássico “recipiente com água limpa”, segundo o estudo.

Outro estudo, realizado em Porto Rico, detectou que *Ae. aegypti* que emergiam de tanques sépticos eram significativamente maiores (3 a 9 vezes) do que aqueles oriundos da água superficial. Estes resultados sugerem que o desenvolvimento larval em ambientes ricos em nutrientes de tanques sépticos pode fornecer uma vantagem de aptidão para adultos de *Ae. aegypti*, sugerindo que o mosquito vetor adaptou-se bem a uma multiplicidade de habitats e ambientes urbanos, e que podem existir outros locais de reprodução / postura previamente desconhecidos (BURKE *et al.*, 2010).

Adicionalmente, *Ae. aegypti* apresenta alta antropofilia, alimentando-se com elevada frequência de sangue humano, o que revela sua importância na transmissão do vírus dengue ao homem (SCOTT *et al.*, 1993; HOECK *et al.*, 2003). Um dado importante sobre o comportamento dos insetos vetores de doenças é a questão da concordância gonotrófica, que caracteriza-se quando cada ovoposição é precedida por um repasto sanguíneo (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Já a discordância gonotrófica é uma condição relevante no processo de transmissão de doenças, uma vez que a fêmea, nesse caso, pode realizar vários repastos sanguíneos após uma única ovoposição. Esta é uma característica mais frequente em *Ae. aegypti* e de vital importância epidemiológica, quando comparado com fêmeas de *Ae. albopictus*, já que a primeira tende a realizar múltiplas ingestões de sangue, em diferentes pessoas, ou não, que potencializam as chances de transmissão do vírus dengue (VALLE *et al.*, 2015, p. 85-86).

#### 1.4 AEADES ALBOPICTUS – VETOR POTENCIAL DE DENGUE

O *Aedes albopictus* é uma espécie oriunda da Ásia, onde atua como vetor primário do vírus dengue em diversos países (HAWLEY, 1988; GRATZ, 2004; PONLAWAT; HARRINGTON, 2005).

A espécie ainda mantém preferência por ambientes silvestres e eventualmente invade a periferia de áreas urbanas, alimentando-se de humanos e animais. Segundo a WHO (2011), *Ae. albopictus* é um alimentador agressivo e uma espécie concordante, ou seja, pode completar sua ingestão de sangue de uma só vez, não requerendo uma segunda ingestão para a conclusão do ciclo gonotrófico. Por isso, a espécie apresenta baixa capacidade vetorial em um ciclo epidêmico urbano, quando comparado com *Ae. aegypti*. Porém, estudo realizado em duas cidades do estado de São Paulo demonstrou que, embora menos frequente, *Ae. albopictus* também pode apresentar discordância gonotrófica (FERNÁNDEZ; FORATTINI, 2003).

Na década de 1980, foi introduzido no Brasil a partir do estado do Rio de Janeiro e, aos poucos, foi invadindo estados vizinhos, como Espírito Santo e São Paulo (GOMES; MARQUES, 1988; CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; CARVALHO *et al.*, 2014).

Embora sua distribuição esteja também associada à presença humana, diferentemente de *Ae. aegypti*, é mais frequente nos locais de menor densidade populacional e de maior cobertura vegetal (HAWLEY, 1988; BRAKS *et al.*, 2003; HONÓRIO *et al.*, 2009b).

No Brasil, *Ae. albopictus* é considerado vetor potencial do dengue (SCHATZMAYR, 2000) e trata-se de um mosquito que, frequentemente, é capturado no lado de fora das casas, preferindo o peridomicílio ao intradomicílio (LIMA-CAMARA *et al.*, 2006). Utiliza criadouros artificiais, como o *Ae. aegypti*, mas também recorre a criadouros naturais, como bromélias, internódios de bambu, formados por depressões em plantas, encontrados no peridomicílio e em vegetações distantes do ambiente domiciliar (HAWLEY, 1988; CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; MARQUES, *et al.*, 2001).

Estudo em 2014 demonstrou pela primeira vez que populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em todo o continente americano são altamente competentes para transmitir o CHIKV, independentemente dos genótipos virais testados. O risco de propagação de CHIKV nas regiões tropicais, subtropicais e até mesmo temperadas das Américas é mais do que nunca uma realidade (VEGA-RÚA *et al.*, 2014).

Sobre a importância da dinâmica da circulação das arboviroses, dois elementos devem ser considerados: Competência Vetorial e Capacidade Vetorial. O primeiro refere-se à facilidade com que uma espécie de mosquito se infecta pelo vírus, multiplica-o e o transmite (RODHAIN; ROSEN, 1997). Já a capacidade vetorial implica, além da competência vetorial, o efeito modificador que os fatores ambientais exercem sobre a competência do vetor, tais

como a frequência de contatos homem mosquito em função da abundância de mosquitos e seu tropismo. Em outra definição, capacidade vetorial é a propriedade de transmitir o patógeno ao homem em condições naturais e depende da combinação de parâmetros relativos à competência vetorial, a densidade, antropofilia, taxa de picada, taxa de sobrevivência diária e o período de incubação extrínseco (PIE) do vírus no vetor (FORATTINI, 1992). Porém, existem condições fisiológicas do *Ae. aegypti* que podem funcionar como barreiras, impedindo a disseminação da infecção em seu organismo, comprometendo sua competência para transmitir o vírus DENV (BENNETT *et al.*, 2002 *apud* GONÇALVES, 2014).

### 1.5 VÍRUS INSETO-ESPECÍFICO

Recentemente, os avanços na área de biologia molecular propiciaram a descoberta de diferentes vírus em vetores hematófagos com capacidade de infecção restrita as células de invertebrados, sendo então classificados como vírus inseto-específicos (VIEs) (BOLLING *et al.*, 2015). Os VIEs estão distribuídos pelas principais famílias que agrupam os arbovírus (*Flaviviridae*, *Togaviridae*) e a ordem, *Bunyavirales* (JUGLEN; DROSTEN, 2013). Existe pouca informação acerca da influência desses vírus na ecologia dos vetores, bem como sua interferência na susceptibilidade dos mosquitos às infecções e a capacidade de transmissão das arboviroses.

Phasivirus foram recentemente identificados em mosquitos do Gênero *Culex* e estão classificados na ordem *Bunyavirales*, que agrupa 9 famílias e 13 gêneros. São vírus que apresentam partículas esféricas com o genoma RNA organizado em 3 segmentos (S, M e L). O Segmento S codifica a proteína do nucleocapsídeo (N), o segmento M codifica duas glicoproteínas (Gn e Gc) e o seguimento L codifica a enzima RNA polimerase RNA dependente (RNAPolRNAdep). Esse vírus foi detectado primeiramente na China em 2012 (AGUIAR *et al.*, 2012). Desde então poucos relatos de detecção e descrição do genoma estão disponíveis. A detecção e caracterização desses vírus pode contribuir com os estudos de evolução viral e com a ecologia dos vetores.

Tanto o Phasivirus, quanto outros prováveis microrganismos, estão presentes em artrópodes encontrados no ambiente humano, ainda desconhecidos quanto aos seus aspectos ecológicos, fisiológicos e comportamentais, elevando a importância de se buscar esclarecer como podem interagir com os vetores das doenças, especialmente os adaptados ao ambiente urbano, como os mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex*.

## 1.6 OS DETERMINANTES SOCIOAMBIENTAIS DA DENGUE

O processo de urbanização desordenada, principalmente nos países em desenvolvimento, após o fim da II Grande Guerra, constitui-se ao mesmo tempo em um fator importante para a reemergência do dengue, em função da disseminação da infestação pelo principal vetor da doença, e um fator que dificulta o seu controle (GUBLER, 1997). Os aglomerados urbanos modernos apresentam, nos países pobres, deficiências de saneamento básico, habitação e de segurança pública, entre outros. Intensos fluxos migratórios rurais-urbanos resultaram num “inchaço” das cidades, que não conseguiram dotar-se oportunamente de equipamentos e facilidades que atendessem às necessidades dos migrantes, levando parte desta população a viver em favelas, invasões e cortiços (TAUIL, 2001).

A forma de organização da vida nas metrópoles tem sido responsável pela manutenção da dengue nas grandes cidades, devido a uma rede de fatores, como saneamento básico precário, em especial o abastecimento de água e a coleta de resíduos sólidos, ambos propiciando o acúmulo de criadouros potenciais do *Ae. aegypti*. Associado a esta situação, há o sistema produtivo industrial moderno, que gera uma grande quantidade de recipientes descartáveis, entre plásticos, latas e outros materiais, cujo destino inadequado, abandonados em quintais, ao longo das vias públicas, nas praias e em terrenos baldios, também contribui para a proliferação do inseto transmissor do vírus dengue (TEIXEIRA; MEDRONHO, 2008).

Estudos realizados por vários autores em cidades brasileiras estabeleceram associação positiva entre maiores riscos de transmissão de dengue e piores níveis socioeconômicos da população (MEDRONHO, 1995; COSTA; NATAL, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 2004; CAIAFFA *et al.*, 2005). No entanto, associação entre essas variáveis não é sempre detectada, como mostrou outro estudo realizado em São Paulo (TEIXEIRA; MEDRONHO, 2008).

BHATT *et al.*, (2013), usando uma estrutura formal de modelagem para mapear a distribuição global do risco de dengue, com dados dos sistemas disponíveis do ano de 2010, destacaram que “o conhecimento da distribuição geográfica e da carga do dengue é essencial para entender sua contribuição para os encargos globais de morbidade e mortalidade, para determinar como alocar otimamente os recursos limitados disponíveis para o controle do dengue e avaliar o impacto dessas atividades internacionalmente”. Uma das conclusões é que “a proximidade de centros urbanos e periurbanos de baixa renda estava ligada ao maior risco de dengue, particularmente em áreas altamente conectadas, sugerindo que o movimento humano entre os centros populacionais é um importante facilitador da disseminação doença”.

Estudo recente no Paquistão relata que fatores socioeconômicos desempenham um papel fundamental na disseminação da infecção por dengue na comunidade, aspecto que revela a necessidade, portanto, de uma abordagem integrada para controlar a ameaça, por meio de estratégias de controle de vetores e de melhoria das condições socioeconômicas das populações (RAZA *et al.*, 2018).

A eliminação eventual de criadouros temporários do *Ae. aegypti* não tem se mostrado suficiente, tampouco sustentável. A aplicação de larvicidas e inseticidas também não é sustentável e tem potenciais implicações para a saúde humana e para o meio ambiente. Em suma, o controle vetorial somente poderá ser alcançado se as iniciativas do setor saúde forem acompanhadas por ações efetivas nas áreas de educação, moradia, saneamento básico, resíduos sólidos e urbanismo (HENRIQUES *et al.*, 2016).

Esta é uma constatação real no estado do Rio de Janeiro, pois a implementação de medidas de caráter intersetorial tem sido um fator limitador em potencial, para que medidas de controle efetivas sejam realizadas a contento. O discurso retórico de que “cada um tem que fazer a sua parte” não se torna em práticas no cotidiano. Soma-se a isso a dura realidade da sua conformidade no eixo metropolitano, constituído por áreas denominadas “comunidades”, onde predominam fatores socioambientais cruciais para a manutenção de criadouros nos imóveis, bem como a grave situação da criminalidade, que impede a atuação das equipes de ACE e ACS no exercício da função de articulador local, tanto para a sensibilização da população, quanto para a ação de controle químico quando a situação requer.

## 1.7 MEDIDAS DE CONTROLE VIGENTES

No Brasil, as medidas de controle dos vetores de arboviroses urbanas são estabelecidas pelo Ministério da Saúde, por meio de programas específicos e publicações de manuais e diretrizes. Estas ações remetem às históricas instituições ligadas ao nível federal, dentre as quais citamos as mais recentes: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública – SUCAM e Fundação Nacional de Saúde – FUNASA, responsáveis pela execução das ações de controle dos vetores. As atividades de controle eram realizadas por um contingente de trabalhadores, cuja denominação funcional variava entre Agentes de Saúde Pública (ASP) e Guardas de Endemias (GE), contratados pelo MS para atuarem em todos os estados da federação. As atribuições desses profissionais abrangiam não só o combate à dengue, mas também a febre amarela, malária, leishmanioses, entre outras doenças.

Atualmente, após um processo de descentralização das ações de vigilância entomológica e epidemiológica para os municípios, que ocorreu a partir de 1999, as ações desenvolvidas por esses profissionais passam a ser executadas pelos Agentes de Controle de Endemias (ACE), denominação atribuída pela Portaria 1.007, de 04 de maio de 2010 (MS, 2010), cujo teor assim descreve: “...define critérios para regulamentação da incorporação do ACE, ou dos agentes que desempenham essas atividades, mas com outras denominações (ASP e GE), na atenção primária à saúde para fortalecer as ações de vigilância em saúde junto às equipes de Saúde da Família”. Dessa forma, fortalece-se a atuação de vigilância e controle de vetores atrelada às ações dos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) no campo da Atenção Primária à Saúde (APS), tendo como premissa a unificação do território de atuação desses profissionais, com vistas a potencializar e otimizar a ação pública no enfrentamento às doenças de transmissão vetorial.

Braga e Valle (2007) descrevem com primoroso rigor acadêmico a história da dengue e respectivos programas de controle do *Aedes aegypti* no Brasil, chamando a atenção para seus sucessos e insucessos ao longo do período. Em conclusão, apontam para “a necessidade de maiores investimentos em metodologias adequadas, para sensibilizar a população sobre a necessidade de mudanças de comportamento que objetivem o controle do vetor, e no manejo ambiental, incluindo a ampliação do foco das ações de controle racional de vetores, para minimizar a utilização de inseticidas e, dessa forma, garantir maior sustentabilidade às ações”.

Hoje, está em vigência o documento “*Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue*” (MS, 2009), onde se estabelece um conjunto de ações que abrange não só o controle do vetor da dengue, mas, também, a epidemiologia da doença, seus aspectos clínicos e complicações para os pacientes infectados, bem como orientações sobre seus macrodeterminantes, e a necessidade de agregação de potencialidades no nível da gestão municipal, haja vista que o problema extrapola a capacidade de atuação do setor saúde. Assim, o documento reforça a necessidade da intersetorialidade como estratégia de organização das ações de controle vetorial.

Em resumo, dado o propósito deste estudo, o referido documento apresenta medidas de controle tradicionais, como o controle mecânico, legal, biológico e químico, apontando para a importância de priorização da primeira medida, baseado nas informações entomológicas de que os principais criadouros requerem atitudes simples e periódicas por parte da população, como forma de eliminar os criadouros do mosquito, que, em sua maioria, são encontrados dentro dos domicílios, requerendo uma ação colaborativa entre poder público e sociedade no

enfrentamento do dengue. Coelho (2012) destaca que a tecnologia para o controle de vetores deve ser baseada principalmente no uso de medidas de gestão ambiental, para a supressão da proliferação de mosquitos, e que inseticidas devem ser usados de forma complementar.

Dadas as dificuldades enfrentadas na execução das medidas de controle de insetos vetores (CIV) mundialmente conhecidas e testadas, tanto de forma rotineira, quanto de forma complementar e pontual, estudo de revisão realizado em 2013, com base nas inúmeras diferenças, divergências e contradições relatadas entre as classificações dos diversos métodos, conclui que “inexiste uma base teórica coerente e estável das classificações dos métodos de controle de vetores que possibilite orientar a utilização harmônica e sinérgica de todos os métodos e técnicas atualmente conhecidas nos projetos do CIV” (WERMELINGER; FERREIRA, 2013).

Adicionalmente, há grande avanço de estudos acadêmicos e de investimentos na pesquisa em busca de novas metodologias de controle de vetores, e aumenta a preocupação com o desenvolvimento da resistência dos vetores aos produtos empregados no controle químico (MS, 2009). Com isso, o próprio MS vem estabelecendo recomendações pontuais sobre medidas que possam ser agregadas aos métodos vigentes, ampliando a visão anteriormente centrada no uso de inseticidas, adicionando outros princípios ativos. Um exemplo é a utilização do *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), um método de controle biológico, de menor impacto sobre o ambiente e sobre os profissionais que o manuseiam. Recente artigo de revisão destaca os principais métodos atualmente disponíveis, entre os quais os que estão sendo propostos para execução pelos ACE e ACS, “responsáveis por promover o controle mecânico e químico do vetor, cujas ações são centradas em detectar, destruir ou destinar adequadamente reservatórios naturais ou artificiais de água que possam servir de depósito para os ovos do *Aedes*” (ZARA *et al.*, 2016). As medidas relatadas neste trabalho são complementares àquelas já existentes, e poderão ser incorporadas paulatinamente na rotina das equipes municipais.

## 2 JUSTIFICATIVA

As ações de vigilância em dengue têm um custo alto para o Brasil, com cerca de um bilhão de dólares por ano em investimentos (PEPIN *et al.*, 2013). A execução das ações de vigilância em dengue requer uma série de ações e estratégias integradas, com vistas a minimizar o impacto dessa arbovirose em áreas urbanas e endêmicas do país.

Os programas de controle da dengue em vigência no país obedecem às diretrizes da Coordenação Geral de Vigilância de Arboviroses (CGArb - 2009), que estabelece ações voltadas para o controle do *Ae. aegypti*. Para tanto, metodologias de aferição dos níveis de infestação nos municípios (como o Levantamento de Índice Rápido para o *Aedes aegypti* – LIRAA e o Levantamento de Índice Amostral – LIA) fornecem subsídio para a definição das áreas prioritárias, onde devem ser implantadas ou implementadas as medidas de contenção, com a perspectiva de redução da infestação nos imóveis. São estabelecidos parâmetros de infestação que classificam os municípios de acordo com os valores do indicador estabelecido como padrão, o Índice de Infestação Predial – IIP, a saber:  $IIP < 1\%$  = satisfatório;  $IIP > 1\%$  e  $< 4\%$  = alerta;  $\geq 4\%$  = alto risco (MS, 2009).

Destacamos o trecho registrado nas ‘Diretrizes’ (2009), afirmando categoricamente a necessidade de realização do LIRAA como estratégia norteadora das ações, que diz: “O LIRAA funciona como **uma carta de navegação**. Sem essa informação atualizada, a efetividade das medidas de controle serão prejudicadas, pois haverá dificuldades em identificar as áreas com os maiores índices de infestação pelo *Aedes aegypti*.”

Adicionalmente, a vigilância entomo-viológica do vírus dengue em mosquitos *Aedes aegypti* pode ser uma ferramenta a ser agregada às análises de rotina dos programas de controle preconizados pela CGArb (MS, 2009), visto que esta prática permitiria a detecção dos sorotipos circulantes antes de sua dispersão aos humanos. Com isso, as medidas de redução e eliminação dos criadouros do *Ae. aegypti* poderiam ser otimizadas, considerando a oportunidade das intervenções mecânicas ou químicas, voltadas para o controle do vetor nas áreas identificadas com circulação do vírus. Admite-se assim, que as ações de intervenção terão um aspecto mais preventivo, podendo ser implementadas de forma a impedir ou minimizar a transmissão do vírus aos humanos, não só interrompendo a cadeia de transmissão, como tem sido praxe, mas interferindo com antecipação na sua disseminação no ambiente.

Assim, este estudo objetivou detectar precocemente a presença do vírus dengue no vetor, utilizando a técnica de PCR (sigla em inglês para *Polimerase Chain Reaction*, ou reação em cadeia da polimerase) convencional nas amostras de mosquitos *Ae. aegypti* coletados na fase adulta.

Pretendeu-se, ainda, avançar na compreensão dos fatores socioambientais envolvidos na transmissão do dengue, a partir de sua observação nas áreas estudadas e no estado do Rio de Janeiro. Para isto, dados epidemiológicos dos anos de 2011 a 2016, e a série de levantamentos entomológicos realizada na rotina dos programas municipais entre os anos de 2010 e 2015, foram analisados e buscou-se identificar, por meio de análises estatísticas, potenciais associações entre esses dados, e desses dados com variáveis sociodemográficas.

Como arcabouço teórico, Antunes e Cardoso (2015) afirmaram que “na epidemiologia, a necessidade de prever o futuro e, com base nisso, intervir nos processos do presente é mais que mera curiosidade ou interesse mesquinho. É, de fato, assunto de vida ou morte, pois a redução da carga de doenças na população depende da efetividade desse esforço”. Daí o esforço de debruçar sobre a proposta deste estudo, na expectativa de agregar novos achados e estratégias às ações desenvolvidas pelos municípios.

### 3 HIPÓTESES

- ✓ O Índice de Infestação Predial aferido pelo LIRAA não é um indicador entomológico robusto o suficiente para projetar cenários de epidemias de dengue.
- ✓ O monitoramento da circulação de vírus em mosquitos é uma estratégia que pode facilitar a identificação do dengue de forma preventiva, indicando áreas com circulação viral, antes de sua disseminação entre as pessoas.
- ✓ Ao monitorar a circulação de arbovírus em mosquitos, será possível identificar a presença de outros vírus inseto-específicos (VIEs), e a produção de informações acerca da influência desses vírus na ecologia dos vetores, bem como sua interferência na susceptibilidade dos mosquitos às infecções e a capacidade de transmissão das arboviroses.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Monitorar a circulação dos sorotipos virais do dengue e outros arbovírus inseto-específicos, e de indicadores entomológicos do *Aedes aegypti*, a partir de dados primários e secundários, e identificar os possíveis determinantes socioambientais da sua presença, nas áreas de estudo e no estado do Rio de Janeiro.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

**4.2.1** Identificar a circulação dos sorotipos virais de dengue e outros vírus inseto-específicos, em mosquitos coletados nas Unidades de Pronto Atendimento (UPA) e equipamentos das competições esportivas dos Jogos Olímpicos e Paraolímpicos de 2016, no município do Rio de Janeiro, no período de 2015 a 2016;

**4.2.2** Identificar a relação entre indicadores entomológicos aferidos pelo LIRAa e variáveis socioambientais e a ocorrência de casos de dengue em anos epidêmicos, no estado do Rio de Janeiro, no período de 2010 a 2016.

## 5 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo seccional para responder o objetivo específico 4.2.1, que resultou na produção do 1º artigo, e um estudo epidemiológico observacional analítico, do tipo ecológico, para responder o objetivo específico 4.2.2, que resultou na produção de um manuscrito, que deverá ser o 2º artigo, cujos métodos são descritos a seguir. Como não houve participação de seres humanos em experimentos durante o estudo, não foi necessária sua submissão para aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

### 5.1 DELINEAMENTO DO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1

Planejou-se, em uma primeira etapa, a captura de mosquitos adultos, nos anos de 2014 e 2015, totalizando 19 capturas mensais: em 2014 as coletas ocorreram nos meses de janeiro a novembro, porém sem coleta no mês de fevereiro, por questões relacionadas a férias de membros da equipe em função do feriado de carnaval, que interromperia as atividades em duas semanas consecutivas. Já em 2015, as coletas ocorreram de janeiro a outubro, sem coleta registrada em junho, mês em que houve problemas operacionais relacionados a falta de viatura e coincidência com o período de férias de alguns membros da equipe de campo.

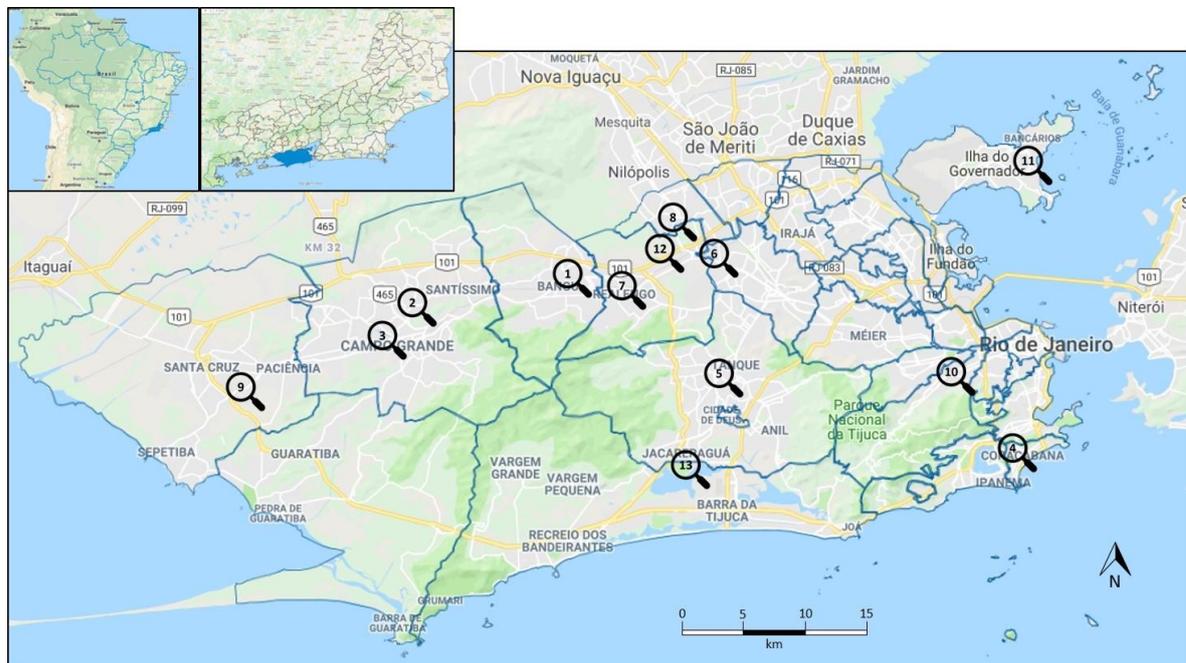
Para as coletas foram utilizadas ferramentas disponíveis para captura de adultos, a saber: aspiradores movidos a bateria e armadilhas *BG-Sentinel*<sup>®</sup> (BGS) empregadas nas Unidades de Pronto Atendimento (UPA) e nos equipamentos das competições esportivas dos Jogos Olímpicos e Paraolímpicos, das áreas pré-estabelecidas para a pesquisa. Os insetos coletados foram identificados por gênero e espécie e os exemplares de *Ae. aegypti* foram separados para análise de presença viral. Todas os locais de coletas foram georreferenciadas com o auxílio do sistema de posicionamento global (GPS).

Em uma segunda etapa, o material coletado foi analisado em laboratório para identificação da presença de vírus da dengue, pela técnica de PCR convencional, que utiliza iniciadores desenhados para famílias (CHAO *et al.*, 2007). Essa etapa foi realizada pelo laboratório do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, do Departamento de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IMPG/DV/UFRJ), com apoio do Laboratório do Instituto de Medicina Tropical em Hamburgo, Alemanha, que atuou como colaborador para realização da técnica de sequenciamento genômico.

### 5.1.1 Áreas de estudo

Foram realizadas coletas nos anos de 2014 e 2015, nas unidades de saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro (SES-RJ), distribuídas na cidade do Rio de Janeiro (Figura 2), que consistem em Unidades de Pronto Atendimento (UPA), localizadas nas proximidades dos equipamentos das diferentes modalidades de competições nos Jogos Olímpicos e Paraolímpicos de 2016, nos seguintes bairros: Bangu, Campo Grande, Copacabana, Ilha do Governador, Jacarepaguá, Marechal Hermes, Realengo, Ricardo de Albuquerque, Santa Cruz e Tijuca. Também foram incluídos alguns desses equipamentos de competição, localizados nos bairros da Barra da Tijuca e Deodoro (Quadro 1). As áreas foram definidas por serem consideradas próximas aos locais de competição e terem fluxo intenso de pessoas em busca dos serviços de saúde ali existentes, podendo essas estarem infectadas por arbovírus, o que permitiria identificar com a pesquisa a possível presença desses arbovírus circulando nos vetores capturados.

**Figura 2 - Distribuição espacial, na cidade do Rio de Janeiro, dos locais selecionados para o estudo, onde foram realizadas as coletas de mosquitos adultos**



**Quadro 1 - Relação, na cidade do Rio de Janeiro, das Unidades de Pronto Atendimento (UPA) estaduais e dos equipamentos das diferentes modalidades de competições nos Jogos Olímpicos e Paraolímpicos de 2016, selecionados para o estudo**

	Bairro	Unidade de Saúde	Endereço
1	Bangu	UPA 24h Bangu	Rua Figueiredo de Camargo, S/N - esquina com a Rua Dunquerque, Bangu. CEP 21.875-020
2	Campo Grande	UPA 24h CAMPO GRANDE I	Estrada do Mendanha (em frente ao número 848, esquina da Rua Tupanatinga com a rua Solânea) - Campo Grande. CEP 23.087-285
3	Campo Grande	UPA 24h CAMPO GRANDE II	Avenida Cesário de Melo, s/nº - no regimento da polícia montada da PM - São Jorge - Campo Grande. CEP 23.055-002
4	Copacabana	UPA 24h COPACABANA	Rua Siqueira Campos, nº 129. CEP 22.031-071
5	Jacarepaguá	UPA 24h JACAREPAGUÁ	Rua André Rocha, nº 20 - confluência com a Rua Marquês de Jacarepaguá - Taquara - Jacarepaguá. CEP 22.730-521
6	Marechal Hermes	UPA 24h MARECHAL HERMES	Rua Xavier Curado, s/nº - Marechal Hermes - (Ref. Escola Técnica Visconde de Mauá). CEP 21.610-210
7	Realengo	UPA 24h REALENGO	Rua Marechal Joaquim Inácio, nº 155 (próximo ao viaduto de Realengo, na Praça do Canhão). CEP 21.735-320
8	Ricardo de Albuquerque	UPA 24h RICARDO DE ALBUQUERQUE	Estrada Marechal Alencastro, s/nº - Pça Vicente de Oliveira e Silva - ao lado da FAETEC. CEP 21.615-340
9	Santa Cruz	UPA 24H SANTA CRUZ	Av. Cesário de Melo, 13.655 - Conjunto Cesarão, 13.655 - Santa Cruz. CEP 23590-060
10	Tijuca	UPA 24h TIJUCA	Rua Conde de Bonfim, 289, esquina com a Rua Pareto - Tijuca - Prox. à Praça Saens Peña. CEP 20.520-05
11	Ilha do Governador	UPA 24h ILHA	Rua Poeta Manoel Bandeira, s/nº, Cocotá, Ilha do Governador, Rio de Janeiro - RJ CEP: 21.910-296
12	Deodoro	Instituto de Biologia do Exército – IBEX (Fazenda Modelo Gericinó – FMG)	Endereço: Avenida Brasil, 26000 - Vila Militar, Rio de Janeiro. CEP 21.615-310.
13	Barra da Tijuca	Parque Aquático Maria Lenk, Vila Olímpica e HSBC/ARENA	Av. Embaixador Abelardo Bueno, 3401- Barra da Tijuca, Rio de Janeiro - RJ, CEP: 22.775-040

### 5.1.2 Técnicas para a captura e coleta de espécimes

Optou-se apenas pela captura de adultos, dadas as limitações operacionais para utilização de outras técnicas de captura de imaturos (ovos, larvas e pupas). As capturas ocorreram em duas semanas consecutivas, da seguinte forma: no momento da instalação da

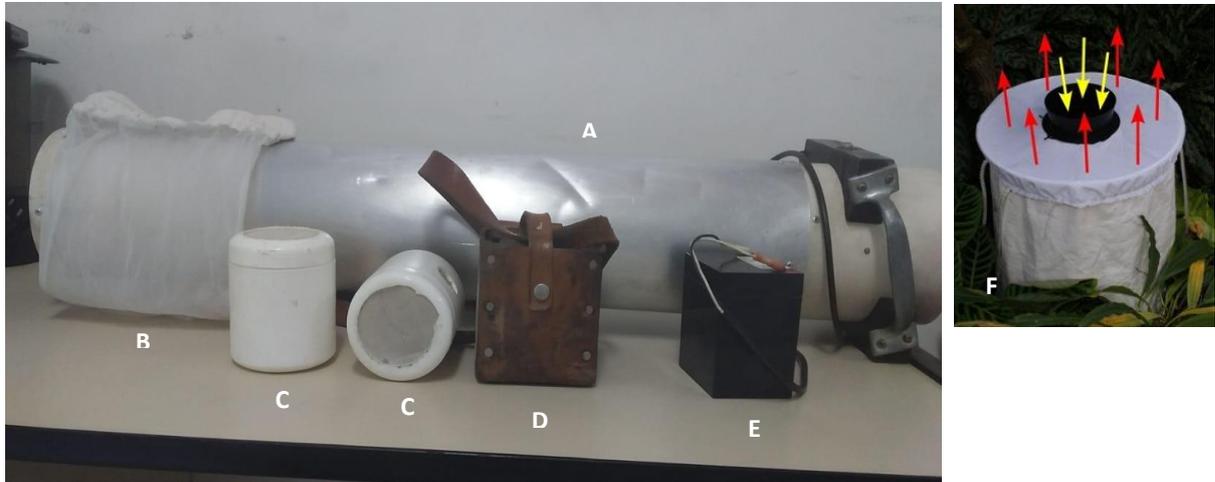
BGS nas unidades, onde permaneciam por 48 horas, era feita a primeira aspiração; o procedimento era repetido no dia do recolhimento da BGS.

Foram utilizados aspiradores (Figura 3-A), que consistem em um tubo de plástico, tipo PVC, com 62 cm de comprimento por 20 cm de diâmetro e contêm um motor e uma hélice montada sobre uma ventoinha de 10W, que funciona com uma bateria de motocicleta de 12 V (Figura 3-E). Um saco de tecido em malha é fixado sobre a boca do tubo, onde ficam presos os mosquitos capturados durante a aspiração. Foi definido um tempo mínimo de aspiração de 10 minutos no interior das unidades selecionadas.

Outra ferramenta utilizada para captura de adultos foi a armadilha *BG-Sentinel*<sup>®</sup> (Figura 3-F). Esta armadilha consiste em um cilindro branco (35 cm diâmetro x 60 cm altura) flexível e compactável (KRÖCHEL *et al.*, 2006). A parte superior central possui um tubo preto, por onde passa fluxo de ar, produzido por meio de um ventilador, ligado a bateria de 12 Volts. Os mosquitos próximos à abertura do tubo são sugados e deslocados para um saco coletor, fixado na extremidade oposta do tubo. Os mosquitos coletados são mantidos ali, aprisionados e vivos, o que garante a qualidade dos espécimes coletados. No interior da armadilha é colocado um atraente sintético que simula o odor humano (BG-Lure<sup>®</sup>, BioGents, Hmgb, Alemanha), composto por uma mistura de ácido láctico, amônia e ácido capróico (KRÖECKEL *et al.*, 2006; MACIEL-DE-FREITAS *et al.*, 2006). Segundo os inventores dessa armadilha, os atrativos são específicos para fêmeas de *Ae. aegypti* em busca de hospedeiro para o repasto sanguíneo.

Todos os mosquitos coletados em ambas as armadilhas foram armazenados em gaiolas plásticas (Figura 3-C), etiquetadas por área, endereço da unidade e data. As gaiolas foram transportadas para o laboratório estadual, onde os mosquitos foram separados por sexo e identificados por espécie a partir da chave dicotômica de Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994). Posteriormente, os insetos foram transportados em caixa térmica com temperatura adequada para o laboratório do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, do Departamento de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IMPG/DV/UFRJ), para análise da presença de vírus.

**Figura 3 - Foto ilustrativa do material utilizado na captura de mosquitos adultos: (A) aspirador movido a bateria; (B) saco coletor; bateria; (C) gaiola de plástico usada para transporte dos mosquitos capturados; (D) bolsa de couro para transporte da bateria; (E) bateria; (F) *BG-Sentinel*<sup>®</sup>**



### 5.1.3 Pesquisa de Campo

Duas equipes da Divisão de Controle de Vetores (DCV) da SES-RJ, cada qual composta por três técnicos, foram designadas para realizar a instalação das armadilhas fixas e as coletas ativas de mosquitos adultos com aspiradores. Todos os técnicos envolvidos foram informados sobre o objetivo do estudo e receberam instruções técnicas sobre o uso correto da BGS e do método de aspiração.

As unidades de pesquisa foram divididas em rotas para facilitar o deslocamento das equipes e melhorar sua capacidade de cobertura, conforme indica o Quadro 2. Cada unidade foi visitada, no mínimo, duas vezes na mesma semana.

**Quadro 2 - Rotas para pesquisa entomológica e cronograma de atividades durante a semana nos anos de 2014 e 2015**

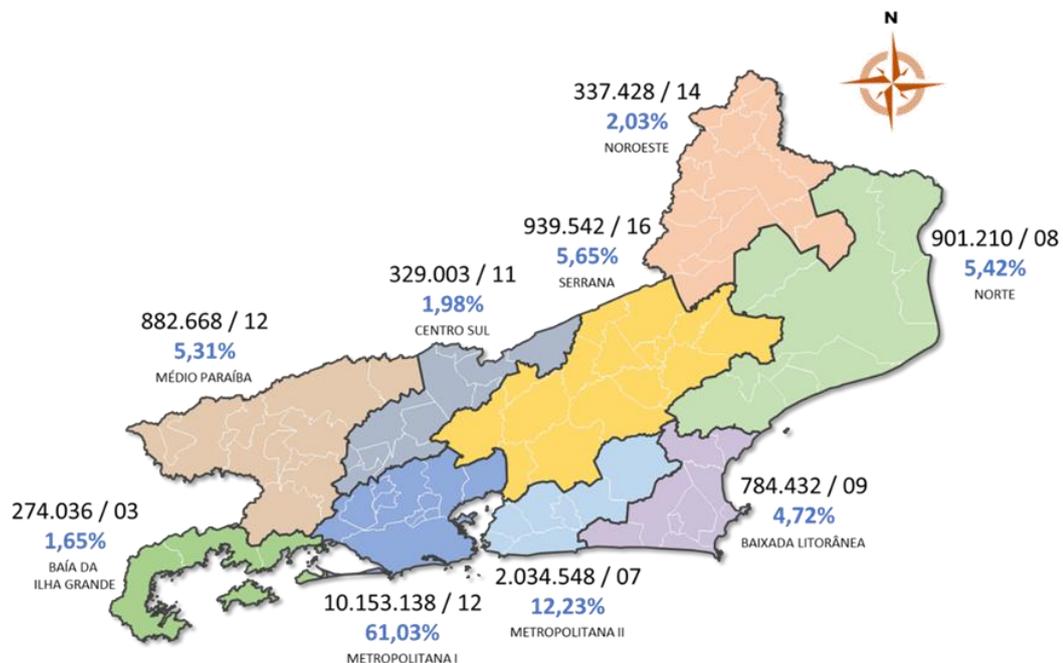
Rota	Bairros	Dia da semana
I	Campo Grande e Santa Cruz	3ª feira
II	Realengo, Ricardo de Albuquerque, Marechal Hermes, Bangu e Deodoro	4ª feira
III	Barra da Tijuca e Jacarepaguá	2ª feira
IV	Tijuca e Ilha do Governador	5ª feira
V	Copacabana	6ª feira

## 5.2 DELINEAMENTO DO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2

### 5.2.1 Área de estudo

O estado do Rio de Janeiro possui 16.635.996 habitantes (DATASUS, 2017), distribuídos em 92 municípios, com 9 Regiões de Saúde, sendo que 73,26% da população estão nas regiões Metropolitana 1 e 2 (Figura 4).

**Figura 4 - Distribuição da população do estado do Rio de Janeiro, em números absolutos e percentuais de habitantes por Região de Saúde. Os valores indicados depois das barras correspondem aos totais de municípios de cada região**



Fonte: DATASUS, 2017.

### 5.2.2 Variáveis utilizadas no estudo

O *Ae. aegypti* já foi identificado em todos os municípios, e a infestação é monitorada regularmente por ações desenvolvidas pelos Agentes de Controle de Endemias (ACE) municipais, que realizam o LIRAa pelo menos uma vez por ano, podendo chegar a quatro edições, seguindo recomendações da Coordenação Geral de Vigilância de Arboviroses (CGArb/MS).

Foi realizado um estudo ecológico, com o objetivo de avaliar a existência de correlação significativa entre os índices de infestação predial (IIP) aferidos pelo LIRAA, bem como de variáveis socioeconômicas, e as taxas de incidência (TI) dos casos notificados de dengue nos anos considerados epidêmicos.

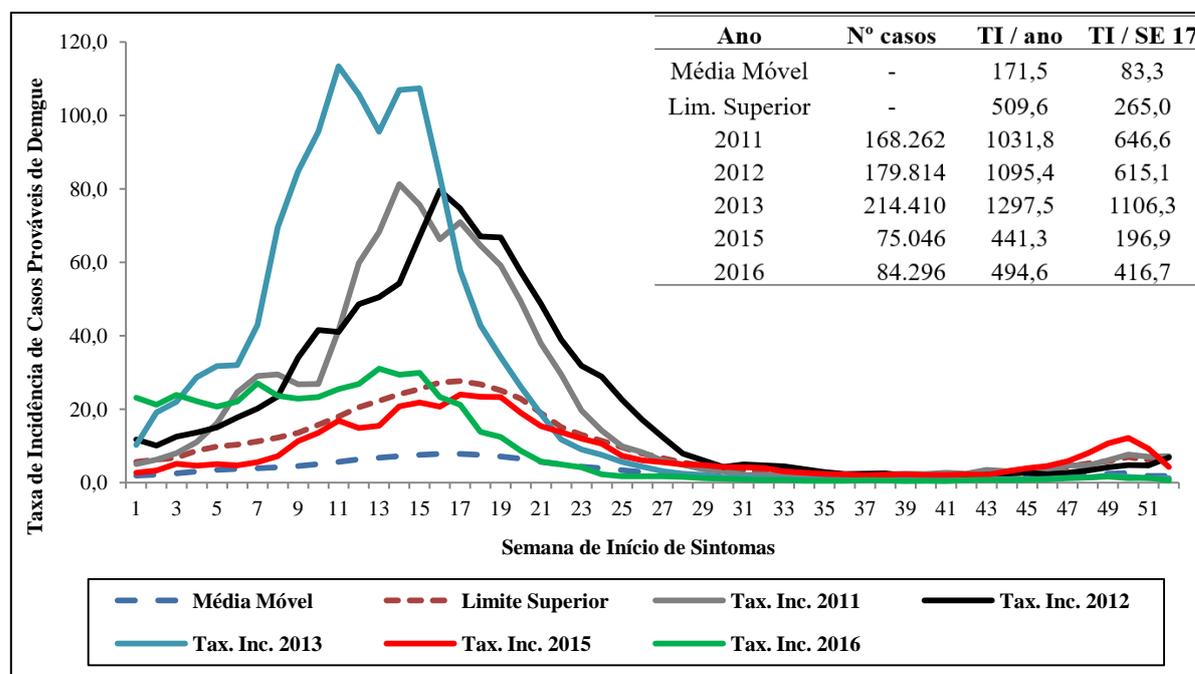
A edição do LIRAA de outubro é considerada como referência pelo Ministério da Saúde para projetar a intensidade da circulação no ano seguinte. Sua relevância tem destaque nas Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue (MS 2009), como sinaliza a frase: “**O LIRAA funciona como uma carta de navegação.** Sem essa informação atualizada, a efetividade das medidas de controle [será prejudicada], pois haverá dificuldades em identificar as áreas com os maiores índices de infestação pelo *Aedes aegypti*” (MS, 2009, p. 86, grifo do autor).

O LIRAA é um método de amostragem que gera três indicadores entomológicos (Índice de Infestação Predial – IIP e Índice de Breteau – IB e Índice por Tipo de Recipientes – ITR). O IIP é usado como referência para definição de risco de epidemias, levando-se em conta os seguintes parâmetros:  $IIP < 1\%$  = *situação satisfatória*;  $IIP \geq 1\%$  e  $< 4\%$  = *situação de alerta*; e  $IIP \geq 4\%$  = *situação de alto risco de epidemia* (COELHO *et al.*, 2008, MS, 2009). A taxa de incidência é um indicador que remete à intensidade da circulação do vírus, considerando os casos prováveis notificados, sendo estabelecidos os seguintes parâmetros: até 100 casos por 100 mil habitantes, baixa transmissão; entre 101 casos e 299 casos por 100 mil habitantes, transmissão moderada; a partir de 300 casos por 100 mil habitantes, alta transmissão. A partir daqui, convencionou-se usar de forma abreviada o valor da TI, quando tiver que mencioná-la “*maior ou igual a 300 casos por 100.000 habitantes*”, ficando “*≥300/100mil-hab*” (VALLE *et al.*, 2015, p. 297).

Dado que a referência citada descreve que esse valor não tenha sido encontrado em referências formais, mas que fontes do Ministério da Saúde consideram que ele o caracteriza como alta incidência, adicionalmente verificou-se o parâmetro “*≥ 300/100mil-hab*” com a elaboração do Diagrama de Controle para os cinco anos cujas TI foram utilizadas (Figura 5), sendo possível ratificar, pelo comportamento das curvas epidêmicas de cada ano, que o valor correspondeu ao utilizado neste estudo. Observou-se que a linha de tendência do ano de 2015 não ultrapassou a linha do limite máximo esperado no período de pico dos casos, que abrangeu as semanas epidemiológicas (SE) 3 a 21, mas o fez a partir da SE 29, culminando em uma TI de 441,3/100 mil hab. no ano em questão. Sendo assim, manteve-se o recorte

como foi proposto inicialmente, considerando como epidêmico os anos em que a TI apresentou o valor igual ou superior a 300 casos por 100.000 habitantes.

**Figura 5 - Diagrama de Controle do Estado RJ - série histórica 2001 a 2017, exceto anos de epidemia no estado: 2002, 2008, 2011, 2012, 2013, 2015 e 2016**



Fonte: SES-RJ, 2019.

Considerou-se para as análises os valores dos IIP aferidos no mês de outubro dos anos de 2010, 2011, 2012, 2014 e 2015, e as TI que atingiram valores  $\geq 300/100\text{mil-hab}$  nos anos seguintes. O IIP do ano de 2013 não foi incluído, pois antecedeu o ano de 2014, que não foi considerado epidêmico. Os valores foram inseridos em planilha de dados em Excel, possibilitando a separação da quantidade de municípios, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela CGArb/MS para os IIP, bem como de sua densidade populacional, estabelecendo, de acordo com esses parâmetros, quantos apresentaram no ano seguinte TI  $\geq 300/100\text{mil-hab}$ , permitindo analisar os percentuais de municípios que apresentaram valores *discordantes* ou *concordantes* entre esses indicadores.

Para subsidiar a análise comparativa entre IIP e TI, convencionou-se neste artigo considerar como valores *discordantes* os percentuais de municípios que atingiram TI  $\geq 300/100\text{mil-hab}$ , coincidentes com IIP abaixo de 1%, durante os anos pesquisados. Esses valores foram assim atribuídos, considerando que para esse patamar de IIP a situação de infestação é considerada pelo CGArb/MS como “*satisfatória*”, indicativa de ausência de risco

de circulação do vírus dengue, ou de baixa transmissão, nos meses subsequentes. Quando os IIP foram iguais ou acima de 1%, coincidindo com os percentuais de municípios com TI  $\geq 300/100\text{mil-hab}$  e, também, quando os IIP foram abaixo de 1% e as TI  $< 300/100\text{mil-hab}$ , convencionou-se considerar que os valores estavam *concordantes*, visto que o CGArb/MS atribui como “*situação de alerta*” ou “*alto risco*” de ocorrência de circulação intensa do vírus, quando o IIP (a infestação) for  $\geq 1\%$ , podendo nos meses subsequentes caracterizar-se como períodos epidêmicos, ou “*situação satisfatória*”, quando os IIP (a infestação) for abaixo de  $< 1\%$ , sugerindo a ausência de transmissão elevada nos meses subsequentes.

Para medir a Acurácia Global do Método, com a finalidade de caracterizar a sensibilidade e especificidade entre IIP e TI, usou-se a *Receiver Operator Characteristic Curve* (Curva ROC). Considerou-se **sensibilidade** como a **capacidade de sinalizar a ocorrência de epidemias**, expressa nas situações em que o IIP foi considerado de alerta e alto risco (IIP  $\geq 1\%$ ) no ciclo de outubro, sendo sucedido no ano seguinte por taxa de incidência alta, com  $\geq 300$  casos/100 mil hab. Considerou-se **especificidade** a **capacidade de sinalizar a NÃO ocorrência de epidemias**, isto é, de sinalizar situações satisfatórias de infestação (IIP  $< 1\%$ ) no ciclo de outubro, precedendo taxa de incidência no ano subsequente de  $< 300$  casos/100 mil hab.

Para verificar a consistência entre o Índice de Infestação Predial (IIP) e de Índice de Breteau (IB), calculou-se a correlação de Spearman entre ambos, cujo propósito foi verificar a qualidade no processo de coleta de amostras nos imóveis.

Para as demais análises, comparou-se os valores das TI dos anos pesquisados com as seguintes variáveis:

- **Meteorológicas** (precipitação média – “precip”, temperatura máxima média – “tempmaxmd”, temperatura mínima média – “tempminmd”, umidade relativa média - “umidrelmd”) dos meses de setembro a fevereiro, por ser o período relacionado tanto ao LIRAA de outubro, quanto ao período sazonal dos surtos ou epidemias de dengue. Para essas variáveis, foram utilizados os dados do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP), do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), relativo às seguintes estações meteorológicas: Forte Copacabana e Vila Militar (Rio de Janeiro), Duque de Caxias, Seropédica, Cordeiro, São Tomé (Campos dos Goytacazes), Macaé, Arraial do Cabo, Itaperuna, Avelar (Paty do Alferes), Resende, Valença e Parati. Os valores das variáveis representam a média das medidas diárias, e foram selecionadas conforme a proximidade das estações com os municípios.

- As **variáveis Socioeconômicas** foram extraídas do censo do IBGE (2010), sendo: percentual de domicílios particulares permanentes com abastecimento de água da rede geral (agua\_RG); percentual de domicílios particulares permanentes com outra forma de abastecimento de água (agua\_outF); percentual de domicílios particulares permanentes com lixo coletado (colLixo); percentual de domicílios particulares permanentes com banheiro de uso exclusivo dos moradores ou sanitário e esgotamento sanitário via rede geral de esgoto ou pluvial (cobEsg); percentual de domicílio com renda média de até 5 salários mínimos (ate5sm); percentual de domicílio com renda de mais de 5 salários mínimos (mais5sm); percentual de domicílios sem renda (semRend); taxa de alfabetização (TxAlfab); percentual de domicílios particulares permanentes com 1 morador (Dom\_1mor); nesse caso, foram considerados até 9 moradores e 10 ou mais moradores (Dom\_10\_mais\_mor); percentual de domicílios particulares permanentes com energia elétrica (Dom\_ener\_ele); índice de desenvolvimento humano (idh) (IBGE, 2010). Para esta parte do estudo, o objetivo foi identificar a existência de associação entre este grupo de variáveis com as taxas de incidência, para verificar se foram capazes de inferir risco de epidemias de dengue.

- **Percentual de Cobertura de Atenção Básica** (cobAB) dos anos equivalentes aos das TI, considerando a cobertura de cada ano estudado, cujo objetivo foi verificar possível associação entre o percentual de cobertura com a TI de dengue, partindo das seguintes premissas: a Atenção Básica é o 1º nível de atenção, pressupondo-se que uma boa cobertura pode tanto aumentar a captação do número de casos de dengue, devido a maior sensibilidade na notificação, quanto impactar na sua redução, devido a implementação das medidas de prevenção realizadas pelas equipes de agentes comunitários de saúde (ACS).

As análises foram realizadas usando o programa estatístico IBM SPSS Statistics V21x86, para verificação de associação entre as variáveis do estudo, estabelecendo a correlação de Spearman, bem como para análise de regressão linear. Adicionalmente foi utilizado o software “R” Development Team (2017) versão 3.4.3, para análises da classificação da distribuição dos municípios com  $\geq 300/100\text{mil-hab}$ , comparando com os parâmetros dos IIP aferidos pelo LIRAa. Essa análise foi feita primeiramente considerando todos os municípios e, posteriormente, foi feito o recorte por população, na seguinte condição: pequeno porte (PP) = população em 2010  $\leq 50.000$  = 55 municípios; médio porte (MP) = população em 2010  $> 50.000 \leq 200.000$  habitantes = 24 municípios; grande porte (GP) = população em 2010  $> 200.000$  = 13 municípios. O objetivo desses pontos de corte foi observar se o tamanho da população do município influencia a correlação entre IIP e TI. A

definição desses recortes foi aleatória, a critério da equipe responsável pelo desenvolvimento do estudo, levando em consideração a distribuição territorial nas regiões de saúde e seu perfil entomoepidemiológico.

## 6 RESULTADOS

Os resultados são apresentados em quatro partes, sendo as duas primeiras referentes ao objetivo específico 4.2.1, considerando os dados das coletas nos locais definidos na proposta inicial do estudo, e as duas últimas partes consolidam os resultados do objetivo específico 4.2.2, referentes aos dados secundários, envolvendo variáveis entomológicas, epidemiológicas e socioeconômicas.

- Parte 1 – Aborda os dados gerados pelas coletas nas Unidades de Pronto Atendimento (UPA), enfatizando aspectos relativos aos métodos de coleta utilizados (armadilha BGS e aspiração) e características dos espécimes coletados (gênero, espécie, sexo, mês de coleta), descritos em detalhes no item 6.1;
- Parte 2 – Enfatiza o achado de um arbovírus classificado como vírus inseto-específico, ainda não registrado no país, caracterizando um achado inédito como resultado da pesquisa. Este grupo de resultados foi organizado em forma de manuscrito e submetido à uma revista para publicação em abril de 2019, tendo sido publicado em maio de 2019 na Revista *Insects*. O artigo está inserido no item 6.2 na íntegra e no formato de sua publicação.
- Parte 3 – Apresenta uma proposta de manuscrito, que será submetido à uma revista com vistas a publicação, e analisa os indicadores entomológicos e epidemiológicos, na perspectiva de identificar possível associação entre eles, e são descritos no item 6.3.
- Parte 4 – Apresenta uma análise dos indicadores entomológicos e epidemiológicos, descrita no item 6.4, buscando investigar possível associação entre esses indicadores com variáveis socioeconômicas.

### 6.1 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1, SOBRE AS COLETAS REALIZADAS NAS UPAS

Nos dois anos do estudo, o total de coletas realizadas foi de 36.875 espécimes (15.076 em 2014 e 21.799 em 2015), sendo que a proporção obtida por meio das armadilhas BGSentinel (BGS) representou 67,0% (24.699 espécimes) do total, enquanto as coletas realizadas com os aspiradores somaram 33,0% (12.176 espécimes).

Do total coletado, 34.174 mosquitos foram do gênero *Culex* e 2.701 da espécie *Aedes aegypti*. Em valores percentuais, foram coletados 92,68% *Culex* e apenas 7,32% de *Ae.*

*aegypti*, caracterizando uma razão de 12,65 *Culex* para um (1) *Ae. aegypti* coletado. A frequência de *Culex* em relação a *Ae. aegypti* foi de 9,79/1 em 2014 e de 15,72/1 em 2015. Tanto com a BGS, quanto com o aspirador, a proporção de *Culex* foi superior a de *Ae. aegypti* (Cx/BGS = 92,8%; Cx/Asp = 92,5%; aeg/BGS = 7,2%; aeg/Asp = 7,5%) (Tabela 1). Este é um dado relevante, já que as coletas foram realizadas no interior de locais selecionados para a potencial presença de *Ae. aegypti* (Tabela 1). Em relação a outras espécies, foram coletados apenas dois espécimes de *Ae. albopictus*, ambas fêmeas, e quatro exemplares de *Aedes fluviatilis*, sendo 3 machos e uma fêmea.

Estudo realizado em 2006 mostrou que a armadilha BGS capturou mais *Ae. aegypti* do que o aspirador, o que aparentemente não ocorreu em nosso estudo, onde o aspirador resultou em percentual 0,3% maior que a BGS (KRÖECKEL *et al.*, 2006; MACIEL-DE-FREITAS *et al.*, 2006). No entanto, a significância desta diferença não foi avaliada. Embora, de acordo com o fabricante, a armadilha BGS tenha sido projetada para atrair fêmeas de *Ae. aegypti* em busca de repasto sanguíneo, o que obtivemos foi elevada captura de *Culex*. Estudo multicêntrico desenvolvido em 2014, que testou várias armadilhas para captura de *Ae. aegypti*, mostrou que a BGS, embora tenha apresentado boa sensibilidade, foi significativamente a armadilha de menor especificidade entre outras testadas no mesmo estudo para a espécie, com o percentual de *Ae. aegypti* capturados variando entre 1 e 50% (NT N.º 3/2014/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA).

A proporção por gênero de cada uma das duas espécies (macho = M; fêmea = F) sobre o total de coletas, além de mostrar que *Culex* é mais abundante que *Ae. aegypti*, indica que machos foram mais coletados do que fêmeas (M/Cx=93,53% e F/Cx=90,71%; M/aeg=6,47% e F/aeg =9,29%). Estas maiores proporções de coleta de machos são confirmadas na análise de cada ano das duas espécies separadas, tanto para *Ae. aegypti* (**2014** – M=58,34% e F=41,66%; **2015** – M=65,26% e F=34,74%), quanto para *Culex*, que apresentou proporções ainda mais significativas (**2014** – M=70,78% e F=29,22%; **2015** – M=70,21% e F=29,79%).

As coletas nos meses de março, abril, maio, setembro e outubro foram mais abundantes nos dois anos em relação aos demais meses em que houve coletas, porém não foram feitas análises mais detalhadas desses resultados.

**Tabela 1 - Distribuição das espécies coletadas por local de coleta, método de coleta e ano da coleta**

Métodos de coleta	Armadilha BGS (48h de exposição)						Aspirador (10 minutos por local)					
	Total 2014 e 2015						Total 2014 e 2015					
	Locais de coleta	Soma de aeg	% aeg	Soma de Cx	% Cx	Razão Cx/aeg	Total aeg e cx	Soma de aeg	% aeg	Soma de Cx	% Cx	Razão Cx/aeg
Vila Olímpica	11	3,0	355	97,0	32	366	10	4,0	241	96,0	24	251
HSBC Arena	7	3,5	194	96,5	28	201	1	9,1	10	90,9	10	11
IBEX	127	2,0	6.339	98,0	50	6466	86	6,3	1.286	93,7	15	1.372
Maria Lenk	9	11,7	68	88,3	8	77	22	4,8	435	95,2	20	457
UPA Bangu	154	18,1	696	81,9	5	850	49	8,1	557	91,9	11	606
UPA C. Grande I	11	33,3	22	66,7	2	33	29	69,0	13	31,0	0	42
UPA C. Grande II	162	29,5	388	70,5	2	550	82	36,6	142	63,4	2	224
UPA Copacabana	37	50,0	37	50,0	1	74	9	6,8	124	93,2	14	133
UPA Ilha	118	8,8	1.217	91,2	10	1335	72	4,9	1.411	95,1	20	1.483
UPA Jacarepaguá	94	8,1	1.061	91,9	11	1155	60	9,9	546	90,1	9	606
UPA Mal. Hermes	151	15,2	841	84,8	6	992	61	18,2	275	81,8	5	336
UPA Realengo	241	23,8	773	76,2	3	1014	65	21,0	244	79,0	4	309
UPA R.Albuquerque	40	21,6	145	78,4	4	185	36	24,3	112	75,7	3	148
UPA Santa Cruz	243	2,7	8.916	97,3	37	9159	113	2,5	4.433	97,5	39	4.546
UPA Tijuca	381	17,0	1.861	83,0	5	2242	220	13,3	1.432	86,7	7	1.652
<b>Total Geral</b>	<b>1.786</b>	<b>7,2</b>	<b>22.913</b>	<b>92,8</b>	<b>13</b>	<b>24.699</b>	<b>915</b>	<b>7,5</b>	<b>11.261</b>	<b>92,5</b>	<b>12</b>	<b>12.176</b>

## 6.2 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.1 – ARTIGO 1

*Publicado na Revista Insects em 2019.*

*Article*

### **High Prevalence of a Newly Discovered Wutai Mosquito Phasivirus in Mosquitoes from Rio de Janeiro, Brazil.**

**Mário Sérgio Ribeiro** <sup>1,2</sup>, **Tania Ayllón** <sup>3,4,\*</sup>, **Viviana Malirat** <sup>5</sup>, **Daniel Cardoso Portela Câmara** <sup>4,6</sup>, **Cristina Maria Giordano Dias** <sup>7</sup>, **Guilherme Louzada** <sup>1</sup>, **Davis Fernandes-Ferreira** <sup>1,8</sup>, **Roberto de Andrade Medronho** <sup>2</sup> and **Renata Campos Acevedo** <sup>1</sup>

<sup>2</sup> Institute of Collective Health Studies, School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Av. Horacio Macedo, S/N, CEP: 21941-598, Rio de Janeiro, Brazil; robertoamedronho@gmail.com

<sup>3</sup> Acute Febrile Diseases Laboratory, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Fiocruz, Av. Brasil 4365, CEP: 21040-360, Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>4</sup> Sentinel Operational Nucleus of Mosquito Vectors, Fiocruz, Av. Brasil 4365, CEP: 21040-360, Rio de Janeiro, Brazil; dcpchamber@gmail.com

<sup>5</sup> Animal Virology Center, CONICET-SENASA, Saladillo 2468, CP: 1440, Buenos Aires, Argentina; vmaliratcevan@centromilstein.org.ar

<sup>6</sup> Laboratory of Transmitters of Hematozoa, Fiocruz, Av. Brasil 4365, CEP: 21040-360, Rio de Janeiro, Brazil.

<sup>7</sup> Epidemiological and Environmental Surveillance, State Health Secretariat of Rio de Janeiro, R. México, 128, CEP: 20031-142, Rio de Janeiro, Brazil; cristina.giordano@saude.rj.gov.br

<sup>8</sup> Department of Molecular and Structural Biochemistry, North Carolina State University, 120 W Broughton Dr, Raleigh, NC 27607, USA; dfferrei@ncsu.edu

\* Correspondence: tasainat@gmail.com

Received: 8 April 2019; Accepted: 2 May 2019; Published: date

**Abstract:** Many RNA viruses have recently emerged, threatening humans and causing harm to animals and plants. Bunyaviruses represent one of the largest groups of RNA viruses and are able to infect a wide range of hosts (invertebrates, vertebrates, and plants). Recently, new insect-specific viruses have been isolated from mosquitoes and phlebotomine sandflies worldwide. Little is known regarding the impact of these viruses on the vector life cycles and the stages of oviposition, breeding, blood feeding, and the mosquito's lifespan. This study describes, for the first time in South America, the detection and characterization of a recently discovered bunyavirus corresponding to the Wutai mosquito phasivirus, confirming its high prevalence in the *Culex* spp. and *Aedes* spp. mosquitoes collected in the urban environment of Rio de Janeiro city, Brazil. The knowledge of the mosquito's insect-specific virus infection can improve virus evolution studies and may contribute to the understanding of intrinsic factors that influence vector competence to transmit pathogenic viruses.

**Keywords:** Insect-specific viruses; Bunyavirus; *Phasivirus*; *Wutai* virus; entomological surveillance

---

## 1. Introduction

Many RNA viruses have recently emerged, threatening humans and causing harm to animals and plants. Those viruses present a unique capacity to evolve, probably influenced by their large population size, lack of proofreading activity of RNA polymerases, recombination, and reassortment. Moreover, the ability to replicate and be transmitted by arthropods can play a specific role in virus diversity and evolution [1].

Bunyaviruses represent one of the largest groups of RNA viruses and are able to infect a wide range of hosts (invertebrates, vertebrates, and plants), which brings an enormous complexity to these viruses. The prototype species (*Bunyamwera orthobunyavirus*) was first isolated from *Aedes* mosquitoes in the Semliki Forest, Uganda, during a yellow fever study in 1943 [2]. This detection was followed by the isolation of several other species, leading to the establishment of the *Bunyaviridae* family in 1975 and the proposal of five genera (*Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus*, and *Tospovirus*). Except for the hantaviruses, that present rodents as the main reservoir in nature and aerosols as the transmission route, all other genera are transmitted by and replicate in arthropod vectors. Due to the wide range of viruses described and ungrouped in the *Bunyaviridae* family, the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) has recently created the order *Bunyavirales* grouping nine families (*Feraviridae*, *Fimoviridae*, *Hantaviridae*, *Jonviridae*, *Nairoviridae*, *Peribunyaviridae*, *Phasmaviridae*, *Phenuiviridae*, and *Tospoviridae*) composed of 13 genera (*Orthoferavirus*, *Emaravirus*, *Orthohantavirus*, *Orthojonvirus*, *Orthonairovirus*, *Herbevirus*, *Orthobunyavirus*, *Orthophasmavirus*, *Goukovirus*, *Phasivirus*, *Phlebovirus*, *Tenuivirus*, and *Orthotospovirus*) [3].

The bunyaviruses are spherical particles with a negative-sense or ambi-sense single-stranded genome organized into three segments (S, M, and L segments). The S segment codes for the nucleocapsid protein (N); the M segment codes for the two glycoproteins (Gn and Gc), and the L segment codes for the RNA dependent RNA polymerase (RdRp).

Many arthropod-borne bunyaviruses are human and animal pathogens and symptoms can range from a self-limiting disease to a severe hemorrhagic fever. Arthropod-borne agents producing hemorrhagic fevers are mainly members of the *Orthonairovirus* genus (*Nairoviridae* family) and *Phlebovirus* genus (*Phenuiviridae* family), including Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV), Rift Valley fever virus (RVFV), and Severe Fever with thrombocytopenia syndrome virus (SFTSV). Viruses related to mild febrile illness are mainly members of the *Orthobunyavirus* genus (*Peribunyaviridae* family) [4]. In Brazil, there are many species of the *Orthobunyavirus* genus, the largest genera group, most of which have been detected in the Amazon region [5–9]. However, despite the favorable environment for bunyavirus circulation in Brazil, other genera and families in the *Bunyavirales* order remain poorly studied. Recently, new insect-specific viruses have been isolated from mosquitoes and phlebotomine sandflies worldwide, adding information for the proposal of new genera, such as *Goukovirus* [10] and *Phasivirus* [11,12].

In this study, we describe, for the first time, the detection and characterization of the Wutai mosquito phasivirus in *Culex* spp. and *Aedes* spp. collected in the urban environment of Rio de Janeiro city, Brazil. This virus was first detected in China in 2012 [1], and only few reports of virus detection and genome sequencing are currently available. Besides, to the authors' knowledge, this virus has not been isolated yet. The knowledge of insect-specific virus infection can improve virus evolution studies and contributes to the understanding the intrinsic factors that influence vector competence to transmit pathogenic viruses.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Sample Collection

A prospective study of arbovirus surveillance in mosquitoes was performed from 2013 to 2017 in Rio de Janeiro (collection license: SISBIO 32476-1). To monitor arbovirus presence, 11 health units and seven different places (three residence buildings, three sport complexes, and one public building)

were chosen for setting the passive traps, according to the proximity to the Olympic game's facilities in Rio de Janeiro in 2016. Mosquito trapping was also conducted in two municipalities in the Northern region of the State, Itaperuna and Campos dos Goytacazes, where a high incidence of dengue fever was observed in 2015. The collection was performed weekly using BG sentinel traps running for 48 hours. The trapped mosquitoes were cooled and carried to the laboratory, counted, sexed, and identified to genus level using the taxonomic key proposed by Consoli and Lourenço-de-Oliveira [13]. Taxonomic confirmation was performed by molecular analyses to confirm the mosquito species [13,14]. *Pools* up to 250 individuals were prepared for molecular analysis, according to genus, sex, trapping localization, and date. Engorged females were analyzed individually. Moreover, the feed source was determined from samples positive to Wutai mosquito phasivirus [14]. Mosquitoes were homogenized in 1000  $\mu$ L or 3000  $\mu$ L of Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (for *pools* containing 1–25 or 26–250 individuals, respectively) supplemented with 3% of fetal calf serum, 2.5  $\mu$ g/ml amphotericin B, 500 U/mL penicillin, and 100 $\mu$ g/mL streptomycin.

## 2.2. Metagenomics Analysis

Briefly, the mosquito homogenate supernatant was filtered through a 0.45  $\mu$ m filter (Millipore, Darmstadt, Germany) to remove larger cell debris and bacteria and treated with a mixture of nucleases (Turbo DNase, Ambion, Carlsbad, CA, USA; Baseline-ZERO, Epicenter, Madison, WI, USA; Benzonase, Novagen, San Diego, CA, USA; RNase One, Promega, Fitchburg, WI, USA) for 1.5 hrs to digest unprotected nucleic acids including the host DNA/RNA. Enriched viral particles were then extracted, reverse transcribed using random hexamers into double-stranded cDNA, fragmented, ends repaired, dA-tailed, adaptor ligated, and purified. Library preparation was performed using NEBNext<sup>®</sup> Ultra<sup>™</sup> DNA Library Prep Kit for Illumina<sup>®</sup> (New England Biolabs, Inc. Ipswich, MA, USA). Sequencing was performed using the Illumina Miseq platform. The acquired reads were trimmed, and de-novo assembled using Geneious v9.1.8 (Biomatters, Auckland, New Zealand). The reads and contigs that generated > 100 bp were subjected to homology search using BLASTX against a non-redundant database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>).

## 2.3. Wutai Mosquito Phasivirus RNA Detection by RT-PCR

One set of primers targeting the L segment was designed based on the complete sequence obtained from the metagenomic study (BunyaBr1- F-383 5' CTA GAC AAG AGG AAC TAA GTG C 3'; BunyaBr1- R-383 5' TGT GGG TGC TAG AGA GTG AT 3'). This primer set was used to estimate the Wutai mosquito phasivirus prevalence. The commercial kit QIAamp viral RNA mini (QIAGEN, Valencia, CA, USA) was used to extract RNA according to the manufacturer's instructions, from 140  $\mu$ L of the mosquito homogenates. Standard RT-PCR was performed using the Superscript III one-step RT-PCR kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions, with 0.7  $\mu$ M primers and temperature conditions as follows—60 °C for 1 min, 50 °C for 45 min, and 94 °C for 2 min, followed by 45 cycles of 95 °C for 15 sec, 55 °C for 30 sec, and 68 °C for 45 sec with a final extension of 68 °C for 7 min.

## 2.4. Nucleotide Sequence Determination and Phylogenetic Analysis

Amplicons were sequenced in the ABI 3730 genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) following the manufacturer's protocol. Raw sequence data were aligned, edited, and assembled using the BioEdit Sequence Alignment Editor, Version 7.0.5.3. The phylogenetic trees were based on nucleotide sequences from the L, M, or S segments. Different evolutionary models were tested using the Akaike Information Criteria (AIC) and a Likelihood Ratio Test (LRT) by the means of the program MEGA, to identify the optimal evolutionary model to be applied in each analysis. Maximum likelihood was used with 1000 replicates for bootstrap support of the tree groupings.

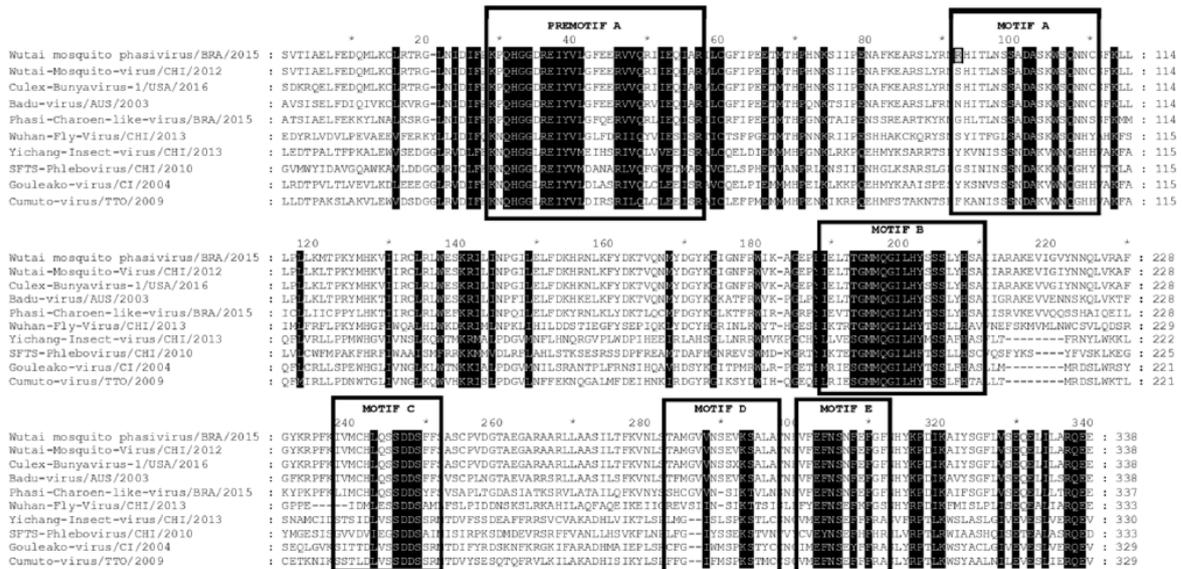
### 3. Results

#### 3.1. Complete Genome of Wutai Mosquito phasivirus Detected in Rio de Janeiro

The contigs generated by the metagenomic analysis revealed the presence of bunyavirus genomic material related to a recently described member of the *Phasivirus* genus within the *Phenuiviridae* family, in a group of four *Culex* spp. female. Nucleotide sequences corresponding to the three L, M, and S segments could be identified. The L segment encoding the most conserved viral polyprotein, the polymerase (RdRp), was used to confirm the identity of the detected virus. According to the latest revision of the bunyavirus taxonomy by the ICTV, the demarcation of the species is performed by comparing a fragment of approximately 1 KB in the central domain (premotif A to motif E) within the third conserved region of L gene, considering a new species when less than 90% homology is observed at the amino acid level [3,11].

As depicted in Figure 1 the comparative analysis of the deduced amino acid sequence of this fragment (nucleotides 3001 to 4014 of the Wutai mosquito phasivirus virus isolated in Rio de Janeiro) showed 98.1% homology (90.3% at the nucleotide level) with the Wutai mosquito phasivirus detected in China in 2012 from *Culex quinquefasciatus* (GenBank accession number KM 817700) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25633976>), and was assigned as the prototype species. Additionally, the Brazilian Wutai mosquito phasivirus presented 96.3% amino acid homology with CBunV1/Kern isolate, another representative of the Wutai mosquito phasivirus species, collected in California, USA, in 2016 from *Culex quinquefasciatus* (GenBank accession number MH188051) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30098450>).

**A**



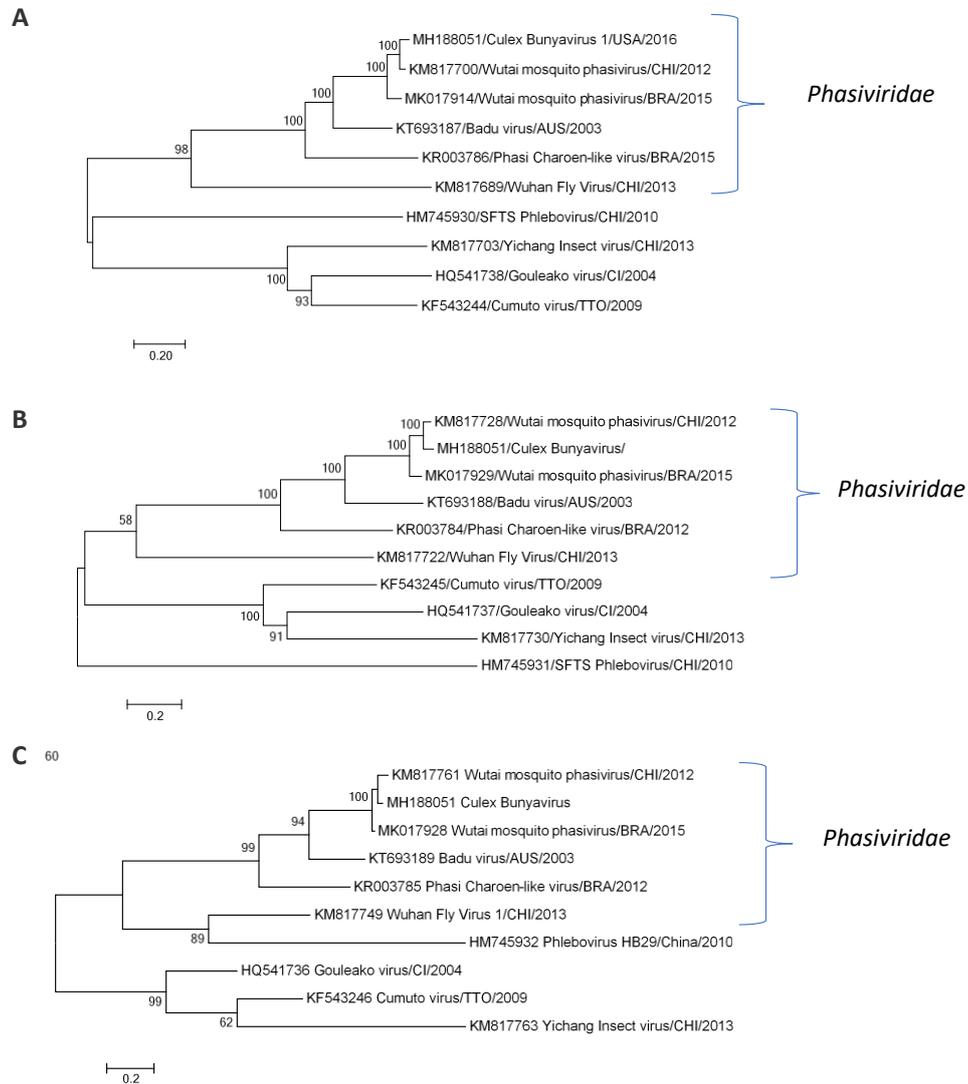
**B**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Nucleotide differences									
1 Wutai mosquito phasivirus/BRA/2015		90.3	89.2	75.5	66.8	54.1	46.7	43.4	46.5	47.9
2 Wutai-Mosquito-Virus/CHI/2012	<b>98.1</b>		93.8	75.2	67.1	53.8	46.7	43.5	47.3	48.9
3 Culex-Bunyavirus-1/USA/2016	<b>96.3</b>	<b>98.1</b>		75.7	66.7	54.3	45.9	44.1	46.9	49.2
4 Badu-virus/AUS/2003	<b>86.0</b>	<b>86.9</b>	<b>86.3</b>		66.8	53.5	44.7	43.6	46.4	47.3
5 Phasi-Charoen-like-virus/BRA/2015	<b>71.0</b>	<b>70.7</b>	<b>70.1</b>	<b>71.3</b>		50.3	44.7	41.3	44.7	47.7
6 Wuhan-Fly-Virus/CHI/2013	<b>43.3</b>	<b>43.3</b>	<b>44.2</b>	<b>40.8</b>	<b>41.7</b>		41.9	44.6	44.7	48.3
7 Yichang-Insect-virus/CHI/2013	<b>30.5</b>	<b>31.5</b>	<b>31.5</b>	<b>30.2</b>	<b>31.8</b>	<b>34.3</b>		44.1	60.4	62.4
8 SFTS-Phlebovirus/CHI/2010	<b>29.6</b>	<b>30.2</b>	<b>30.2</b>	<b>31.2</b>	<b>29.3</b>	<b>33.6</b>	<b>36.8</b>		43.0	42.4
9 Gouleako-virus/CI/2004	<b>32.1</b>	<b>31.8</b>	<b>32.1</b>	<b>31.2</b>	<b>30.2</b>	<b>36.8</b>	<b>64.2</b>	<b>34.9</b>		63.6
10 Cumuto-virus/TTO/2009	<b>31.8</b>	<b>31.8</b>	<b>32.1</b>	<b>31.5</b>	<b>32.1</b>	<b>35.8</b>	<b>64.2</b>	<b>33.3</b>	<b>65.7</b>	

**Figure 1.** Sequence alignment of RdRp three prime conserved motif of selected viruses. (A) Amino acid alignment showing pre-motif A and motifs A, B, C, D, and E, highlighted by boxes. Highly conserved amino acid residues between Wutai-Mosquito-Phasivirus/BRA/2015 and selected bunyaviruses are marked in black. The only difference found within the motifs between Wutai-Mosquito-Phasivirus/BRA/2015 and the species prototype strain Wutai-Mosquito-Virus/CHI/2012, in position 92 of the alignment is highlighted. Sequence alignment position is indicated in an upper marker line, every 10 residues. Number 1 in the alignment corresponds to amino acid position 1001 of the Wutai-Mosquito-Phasivirus/BRA/2015 and Badu-Virus/AUS/2003; 949 of Wutai-Mosquito-Virus/CHI/ and Culex-Bunyavirus-1/USA/2016; 1002 of Phasi-Charoen-like-Virus/BRA/2015; 970 of Wuhan-Fly-Virus/CHI/2013; 909 of Yichang-Insect-Virus/CHI/2013; 885 of SFTS-Phlebovirus/CHI/2010; 880 of Gouleako-Virus/CI/2004; and 895 of Cumuto-Virus/TTO/2009. Numbers at the end of each line indicates the total number of amino acids in the corresponding row. (B) Pairwise comparison of percentage of differences per site, calculated at the nucleotide (upper right) and amino acid (lower left) levels between the Wutai-Mosquito-Phasivirus/BRA/2015 and the selected bunyaviruses are shown. All the positions containing gaps and missing data were eliminated. There were a total of 966 nucleotide and 321 amino acid positions in the final datasets.

An estimation of genetic relationship assessed for the complete coding region of all genomic segments (L, M and S) with the corresponding ones of members of all the four genera in the *Phenuiviridae* family and other bunyavirus families, confirmed the genetic proximity between the

Wutai mosquito phasivirus isolates detected in Brazil and China (Figure 2). All nucleotide sequences obtained were deposited at GenBank, reference numbers are shown at the sequence title.

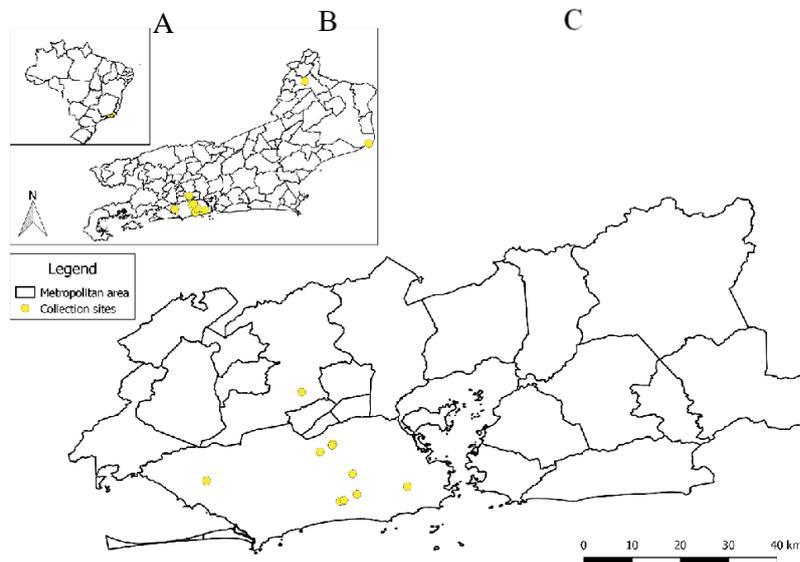


**Figure 2.** Genetic relationship of Wutai mosquito phasivirus with other members of the *Phasiviridae* family and other related bunyaviruses. Phylogenetic trees were constructed for (A) L segment (5800 bp); (B) M segment (2620 bp); and (C) S segment (511 pb). The evolutionary history was inferred by using the Maximum Likelihood method based on the General Time Reversible model for segments L and M and on the Tamura 3-parameter model for segment S [15]. A discrete Gamma distribution was used to model evolutionary rate differences among sites (5 categories). The rate variation model allowed for some sites to be evolutionarily invariable for segments L and M. The trees are drawn to scale, with branch lengths measured in the number of substitutions per site. All positions containing gaps and missing data were eliminated. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7 [16], with 1000 replicates. Only bootstrap values > 70% are shown at the node.

### 3.2. Wutai Mosquito Phasivirus Prevalence in Rio de Janeiro and Phylogenetic Analysis

A total of 1866 adult mosquitoes trapped between 2013–2017 were randomly selected from the laboratory mosquito surveillance study for bunyavirus screening. Of these, 1465 (78.51%) were identified as the *Culex* spp. (824 males, 418 non-engorged females, and 223 engorged females) and 401

(21.49%) were identified as the *Aedes* spp. (150 males, 248 non-engorged females, and 3 engorged females). The geographical distribution of sampling locations is presented in Figure 3.



**Figure 3.** Geographic distribution of trapping locations. (A) Brazil; (B) Rio de Janeiro state; (C) Metropolitan region.

The Wutai mosquito phasivirus was detected in 42 of 149 *pools* analyzed (Tables 1 and 2). The virus was detected in male mosquitoes and in non-engorged and engorged females. A total prevalence of 4.03% was observed in *Culex* engorged females (Table 1).

**Table 1.** Distribution of the Wutai mosquito phasivirus positive (pos) *Culex* spp. pools according to the trapping locations.

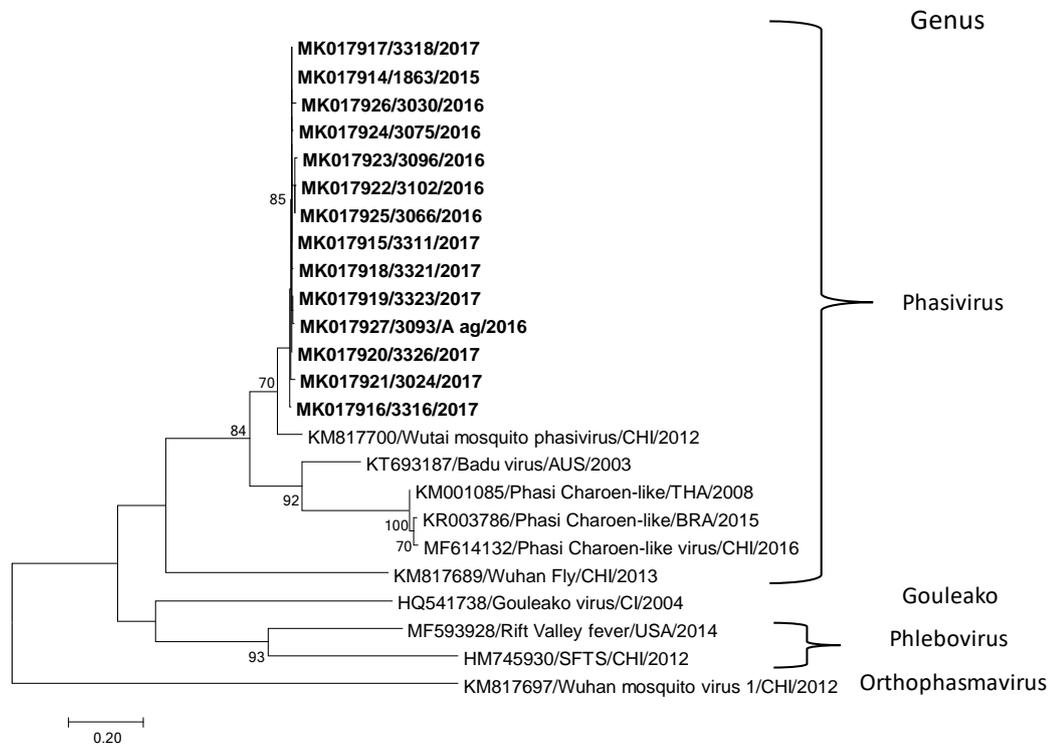
Locations	Males	Pools	Non-engorged Females <i>n</i>	Pools	Engorged Females	
	<i>n</i>	<i>n</i> (pos)		<i>n</i> (pos)	<i>n</i>	Pos <i>n</i> (%)
1	107	12 (6)	74	11 (8)	0	-
2	180	4 (2)	77	4 (1)	47	1 (2.1%)
3	21	1 (1)	55	4 (0)	21	0
4	0	-	0	-	2	0
5	0	-	15	1 (0)	21	0
6	49	4 (2)	43	4 (3)	0	-
7	5	1 (1)	12	2 (1)	6	0
8	0	-	0	-	3	0
9	32	3 (0)	18	2 (1)	31	0
10	347	2 (2)	98	1 (1)	15	0
11	0	-	0	-	74	8 (10.81%)
12	83	4 (3)	26	2(0)	0	-
13	0	-	0	-	3	0
<b>Total</b>	824	31(17)	418	32(15)	223	9 (4.03%)

**Table 2.** Distribution of the Wutai mosquito phasivirus positive (pos) *Aedes* spp. pools according to the trapping locations.

Locations	Males	Pools	Non-engorged Females <i>n</i>	Pools	Engorged Females	
	<i>n</i>	<i>n</i> (pos)		<i>n</i> (pos)	<i>n</i>	Pos <i>n</i> (%)
2	64	13 (0)	22	11 (0)	0	-
3	33	10 (0)	20	7 (0)	0	-
4	0	-	5	3(0)	0	-
7	13	7 (0)	16	7 (0)	0	-
9	26	9 (0)	28	11 (0)	1	0
10	14	4 (1)	157	4 (0)	0	-
13	0	0	0	0	2	0
Total	150	43 (1)	248	43 (0)	3	0

The identification of the blood meal sources from engorged positive females revealed *Homo sapiens* and *Canis lupus familiaris* as the feeding sources. The molecular analyses confirmed the mosquito species contained in the positive pools. Complex *Culex pipens quinquefasciatus* were confirmed positive for the Wutai mosquito phasivirus. Another positive pool was comprised of the *Culex mollis* species (genus *Culex*, subgenus *Culex*) and *Conspirator* group (genus *Culex*, subgenus *Melanocolion*),

pointing out these groups as possible hosts for the Wutai mosquito phasivirus. Only one *pool* of male *Aedes aegypti* also presented positive results. The complete genome referred to previously (Figures 1 and 2) was obtained from one out of the 42 positive *poools*, whereas the partial sequence from the L segment was determined for an additional 13 positive *poools*. All the partial sequences obtained in this work clustered together and presented a homology ranging from 97.7 to 99.7% (Figure 4).



**Figure 4.** Molecular phylogenetic analysis of Wutai mosquito phasivirus. The phylogenetic tree was constructed by using partial nucleotide sequence of the L segment (315 bp). The evolutionary history was inferred by using the Maximum Likelihood method based on the Tamura 3-parameter model. A discrete Gamma distribution was used to model the evolutionary rate differences among the sites (five categories (+G, parameter = 3,7057)). The tree is drawn to scale, with branch lengths measured in the number of substitutions per site. Evolutionary analyses were conducted in MEGA7, with 1000 replicates. Only bootstrap values > 70% are shown at the node. The bold-sequences were determined in this study.

#### 4. Discussion

This study reports, for the first time, the complete genome of a Wutai mosquito phasivirus detected in South America. This species belongs to a recently described genus in which four species were included (Wutai mosquito phasivirus, Badu Virus, Wuhan fly, and Phasi Charoen-like) with only few complete genomes available in the Genbank.

Our results also demonstrated that the virus can infect different culicids. At least three species from the *Culex* genus were positive (*Culex mollis*, *Culex conspirator*, and *Culex pipens quinquefasciatus*). A *pool* containing *Ae aegypti* males was also positive, strengthening the wide distribution of this insect-specific virus among mosquito species. There is no information regarding the route of transmission of the Wutai mosquito phasivirus and the impact on the ecology of the mosquito hosts. All the strains detected in Rio de Janeiro clustered together, independently of the host; however, further studies targeting variable regions of the genome are needed in order to evaluate the diversity and evolution of this virus.

In 2015, one study revealed the presence of *Phasivirus* in Brazil. The sequencing, based on the pattern of small viral RNAs, revealed the presence of a *Phasi Charoen-like virus* (PCLV) in *Aedes aegypti* individuals obtained from colonies established from mosquitoes trapped in Rio de Janeiro city [12], a virus originally identified in mosquitoes from Thailand. One year later, the same virus was isolated from *Ae. aegypti* mosquitoes in northern Australia [17].

Beyond the diversity of mosquito species infected, the Wutai mosquito phasivirus presented a wide geographic distribution in Rio de Janeiro. From a total of 13 locations screened in this study, nine locations had mosquitoes positive for this virus. Nonetheless, the four locations that tested negative for *Phasivirus* (4, 5, 8, and 13) cannot be considered negative due to the low number of mosquitoes analyzed *per area*.

Questions remain regarding the impact of the Wutai mosquito phasivirus in the vector life cycle and the stages of oviposition, breeding, blood feeding, and mosquito's lifespan. Recently, the studies of vector competence have been highlighting the influence of microbial communities on the ability of mosquito populations to transmit arboviruses [18]. A well-characterized microbial-arboviral relationship is an inhibition promoted by *Wolbachia* on the transmission of dengue viruses. Aside from bacteria and fungi, the influence of the insect virome on vector competence should be better investigated. Efforts should be done in order to isolate the insect-specific viruses described herein to enable experiments to evaluate the influence on vector competence.

Bunyaviruses are an important group for the emergence of pathogenic strains, many of them transmitted by blood-feeding vectors. Therefore, efforts should be done to improve the knowledge of bunyavirus genomic diversity, including insect-specific strains, in order to complete viral evolution studies and add clues to understanding the origin of pathogenic strains.

## 5. Conclusions

This study describes for the first time in Brazil the detection and characterization of a recently discovered bunyavirus, the Wutai mosquito phasivirus. The study also confirms the presence of this virus in the main urban vectors for the arboviruses, *Culex* spp. and *Aedes* spp. A high prevalence and a wide distribution of infected *Culex* spp. were observed in Rio de Janeiro city, contributing to a better understanding of the mosquito's insect-specific virus distribution. This information also contributes to virus evolution studies and should be considered in studies that determine vector competence to transmit pathogenic viruses.

**Supplementary Materials:** The following are available online at [www.mdpi.com/xxx/s1](http://www.mdpi.com/xxx/s1), Table S1: Excel file containing the original data was used for Tables 1 and 2. The file contains the number of mosquitoes collected during the study period, according to trapping sites. (XLSX).

**Author Contributions:** Conceptualization, M.S.R., D.F.-F., Roberto de A.M. and R.C.A.; Data curation, M.S.R.; Formal analysis, T.A., V.M., D.C.P.C. and R.C.A.; Methodology, T.A., D.C.P.C., C.M.G.D. and G.L.; Project administration, D.F.-F. and R. de A.M.; Resources, D.F.-F. and R.C.A.; Writing – original draft, M.S.R.; Writing – review & editing, T.A., V.M. and R.C.A.

**Funding:** This research was funded by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro-FAPERJ (grant E-26/201.840/2017) (D.F.F and R.C.A) and was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 (R.C.A). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Acknowledgments:** We would like to thank Daniel Cadar and Jonas Schmidt-Chanasit for the metagenomic analysis and José Luiz da Silva for fieldwork support and taxonomic determination.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Li, C.X.; Shi, M.; Tian, J.H.; Lin, X.D.; Kang, Y.J.; Chen, L.J.; Qin, X.C.; Xu, J.; Holmes, E.C.; Zhang, Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *Elife* **2015**, *4*, doi:10.7554/eLife.05378.
- Mazel-Sanchez, B.; Elliott, R.M. Evolution of the Bunyamwera Virus Polymerase to Accommodate Deletions within Genomic Untranslated Region Sequences. *J. Virol.* **2015**, *89*, 3957–3964.
- Lefkowitz, E.J.; Dempsey, D.M.; Hendrickson, R.C.; Orton, R.J.; Siddell, S.G.; Smith, D.B. Virus taxonomy: The database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, D708–717.
- Gowen, B.B.; Hickerson, B.T. Hemorrhagic fever of bunyavirus etiology: Disease models and progress towards new therapies. *J. Microbiol.* **2017**, *55*, 183–195.
- de Souza, W.M.; Acrani, G.O.; Romeiro, M.F.; Reis, O.; Tolardo, A.L.; da Silva, S.P.; de Almeida Medeiros, D.B.; Varela, M.; Nunes, M.R.T.; Figueiredo, L.T.M. Molecular characterization of Capim and Enseada orthobunyaviruses. *Infect. Genet. Evol.* **2016**, *40*, 47–53.
- Cardoso, B.F.; Serra, O.P.; da Silva Heinen, L.B.; Zuchi, N.; de Souza, V.C.; Naveca F.G.; dos Santos, M.A.M.; Shlessarenko, R.D. Detection of Oropouche virus segment S in patients and in *Culex quinquefasciatus* in the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **2015**, *110*, 745–754.
- Mourão, M.P.G.; de Souza Bastos, Michele.; de Figueiredo, R.M.P.; de Lima Gimaque, J.B.; do Carmo Rodrigues Alves, V.; das Graças Gomes Saraiva, M.; Figueiredo, M.L.G.; Ramasawmy, R.; Nogueira, M.L.; Figueiredo, L.T.M. Arboviral diseases in the western brazilian amazon: A perspective and analysis from a tertiary health & research center in manaus, state of Amazonas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2015**, *48*, doi:10.1590/0037-8682-0133-2013.
- Nunes, M.R.T.; Travassos da Rosa, A.P.A.; Weaver, S.C.; Tesh, R.B.; Vasconcelos, P.F.C. Molecular Epidemiology of Group C Viruses (Bunyaviridae, Orthobunyavirus) Isolated in the Americas. *J. Virol.* **2005**, *79*, 10561–10570.
- Oliveira, D.B.; Luiz, A.P.M.F.; Fagundes, A.; Pinto, C.A.; Bonjardim, C.A.; Trindade, G.S.; Kroon, E.G.; Abrahão, J.S.; Ferreira, P.C. Evidence of apeu virus infection in wild monkeys, Brazilian Amazon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2016**, *94*, 494–496.
- Marklewitz, M.; Handrick, S.; Grasse, W.; Kurth, A.; Lukashev, A.; Drosten, C.; Ellerbrok, H.; Leendertz, F.H.; Pauli, G.; Junglen, S. Gouleako Virus Isolated from West African Mosquitoes Constitutes a Proposed Novel Genus in the Family Bunyaviridae. *J. Virol.* **2011**, *85*, 9227–9234.
- Hobson-Peters, J.; Warrilow, D.; McLean, B.J.; Watterson, D.; Colmant, A.M.G.; van den Hurk, A.F.; Hall-Mendelin, S.; Hastie, M.L.; Gorman, J.J.; Harrison, J.J.; *et al.* Discovery and characterisation of a new insect-specific bunyavirus from *Culex* mosquitoes captured in northern Australia. *Virology* **2016**, *489*, 269–281.
- Aguiar, E.R.G.R.; Olmo, R.P.; Paro, S.; Ferreira, F.V.; De Faria, I.J.D.S.; Todjro, Y.M.H.; Lobo, F.P.; Kroon, E.G.; Meignin, C.; Gatherer, D.; *et al.* Sequence-independent characterization of viruses based on the pattern of viral small RNAs produced by the host. *Nucleic Acids Res.* **2015**, *43*, 6191–6206.
- Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Available online: <http://books.scielo.org> (access on day month year)
- Börstler, J.; Jöst, H.; Garms, R.; Krüger, A.; Tannich, E.; Becker, N.; Schmidt-Chanasit, J.; Lühken, R. Host-feeding patterns of mosquito species in Germany. *Parasit. Vectors.* **2016**, *9*, 318.
- Tamura, K.; Nei, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* **1993**, *10*, 512–526.
- Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* **2016**, *33*, 1870–1874
- Hall, R.A.; Bielefeldt-Ohmann, H.; McLean, B.J.; O'Brien, C.A.; Colmant, A.M.G.; Piyasena, T.B.H.; Harrison, J.J.; Newton, N.D.; Barnard, R.T.; Prow, N.A.; *et al.* Commensal viruses of mosquitoes: Host restriction, transmission, and interaction with arboviral pathogens. *Evol. Bioinform. Online* **2016**, *12*, 35–44.
- Kramer, L.D.; Ciota, A.T. Dissecting vectorial capacity for mosquito-borne viruses. *Curr. Opin. Virol.* **2015**, *15*, 112–118.



### 6.3 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2, COM PRODUÇÃO DE MANUSCRITO

#### **Relação entre indicadores entomológicos e ocorrência de dengue em anos epidêmicos no estado do Rio de Janeiro, entre 2011 e 2016.**

##### **1. Introdução**

A circulação simultânea das arboviroses dengue, Zika e chikungunya tem imposto desafios importantes para o Brasil em virtude do surgimento de formas graves atípicas e das incertezas diante da pouca compreensão sobre as repercussões clínicas em situações de hiperendemicidade, incluindo infecções sequenciais e coinfeção pelos três arbovírus<sup>1,2</sup>.

A sobreposição de sinais e sintomas clínicos, associada às limitações do diagnóstico diferencial, tem sido um agravante neste cenário epidemiológico complexo, no qual a busca por estratégias mais efetivas de vigilância e controle centradas, sobretudo, no vetor *Aedes aegypti*, tem unido os esforços para o enfrentamento deste problema de grande relevância em Saúde Pública<sup>3</sup>.

É no “inchaço” das grandes cidades e na forma de organização social da vida nas grandes metrópoles, caracterizadas pela urbanização acelerada desvinculada de políticas habitacionais e de infraestrutura urbana, que são produzidos cenários favoráveis à proliferação de mosquitos *Aedes*, aspectos importantes para dispersão e manutenção de tais arboviroses nessas áreas<sup>4,5,6</sup>.

Em decorrência das mudanças climáticas, com alterações dos ciclos das chuvas e aumento das temperaturas, o impacto na transmissão de dengue e de arboviroses emergentes pode colocar em exposição mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo<sup>7</sup>. No Brasil, país de clima tropical úmido, as temperaturas elevadas na maior parte do ano são um fator facilitador para a manutenção do *Ae. aegypti* em altas densidades na maioria das cidades.

De maneira geral, a principal resposta técnica dos programas municipais tem como base a realização de pesquisas larvárias domiciliares para fins de monitoramento e como subsídio ao controle da infestação de mosquitos *Aedes*. Para obtenção de indicadores entomológicos de maneira rápida e oportuna, utiliza-se o Levantamento de Índice Rápido para o *Aedes aegypti* – LIRAA, estratégia que consiste em um inquérito amostral de imóveis, na qual o Índice de Infestação Predial (IIP) obtido é utilizado como referência para definir áreas prioritárias para

receberem intervenções <sup>8,9</sup>. Sua relevância tem destaque nas Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue <sup>9</sup>, sendo considerado uma “carta de navegação” para identificar áreas mais infestadas no território, sem a qual a efetividade das medidas de controle estaria comprometida <sup>9</sup>.

Contudo, apesar de sua relevância como instrumento de tomada de decisão e dos recorrentes questionamentos sobre sua eficiência na previsão de risco de transmissão epidêmica, estudos com foco na avaliação do LIRAa ainda são escassos. Considerando esses aspectos, o objetivo do presente estudo foi analisar o desempenho do LIRAa quanto a sua sensibilidade na previsão de epidemias de dengue em municípios do estado do Rio de Janeiro.

## 2. Metodologia

Trata-se de um estudo com delineamento ecológico no qual os municípios do Rio de Janeiro foram utilizados como unidades de análise. O RJ tem 16.635.996 habitantes <sup>10</sup>, distribuídos em nove regiões de saúde, com 73,26% da população concentrada nas regiões Metropolitana 1 e 2 (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Distribuição da população do estado do Rio de Janeiro por Região de Saúde.

Região	População	%
Baía de Ilha Grande	274.036	1,65
Baixada Litorânea	784.423	4,72
Centro Sul Fluminense	329.003	1,98
Metropolitana 1	10.153.138	61,03
Metropolitana 2	2.034.548	12,23
Médio Paraíba	882.668	5,31
Norte	901.210	5,42
Noroeste	337.428	2,03
Serrana	939.542	5,65
<b>Total</b>	<b>16.635.996</b>	<b>100,00</b>

Fonte: DATASUS-2017

Com base na premissa de que as epidemias de dengue são antecedidas por níveis elevados de infestação, foram obtidas as taxas de incidência por município nos anos de 2011, 2012, 2013, 2015 e 2016, considerados epidêmicos no estado (incidência  $\geq$  300 casos por 100.000 habitantes), além dos respectivos índices de infestação predial (IIP) dos ciclos do LIRAa de outubro dos anos imediatamente anteriores - 2010, 2011, 2012, 2014 e 2015.

As análises foram realizadas com base nas definições de risco de epidemias do Ministério da Saúde, que classifica os municípios brasileiros segundo valores do IIP:  $< 1\%$  = *situação satisfatória*;  $\geq 1\%$  e  $< 4\%$  = *situação de alerta*;  $\geq 4\%$  = *situação de alto risco de epidemia* (Coelho *et al.* 2008, MS 2009). A taxa de incidência, que por sua vez reflete a intensidade da circulação do vírus, foi obtida considerando a notificação de casos prováveis, sendo estabelecidos os seguintes pontos de corte: TI até 100 casos por 100 mil habitantes = *baixa transmissão*; TI de 101 a 299 casos por 100 mil habitantes = *transmissão moderada*; TI de 300 ou mais casos por 100 mil habitantes = *alta transmissão* <sup>11</sup>.

## 2.1. Procedimentos de Análise

Foram elaborados diagramas de dispersão contendo os valores dos IIP obtidos nos ciclos do LIRAa de outubro e as respectivas taxas de incidência de dengue nos anos seguintes, visando análise exploratória e visualização gráfica da relação entre as referidas variáveis. Com base nos parâmetros para classificação de risco e de ocorrência de epidemias, os municípios foram classificados em concordantes e discordantes. Foram considerados concordantes:

- Municípios cujas taxas de incidência foram  $TI \geq 300/100$  mil habitantes e os IIP nos meses de outubro do ano imediatamente anterior foram  $> 1\%$  e  $< 4\%$  (situação de alerta) ou  $IIP \geq 4\%$  (situação de alto risco de epidemia);
- Municípios cujas TI foram  $< 300/100$  mil habitantes e IIP nos meses de outubro do ano imediatamente anterior foi  $IIP < 1\%$  (situação satisfatória).

Em contrapartida, foram considerados discordantes:

- Municípios cujas taxas de incidência foram  $TI \geq 300/100$  mil habitantes e os IIP em outubro do ano anterior foram  $IIP < 1\%$  (situação satisfatória);
- Municípios cujas taxas de incidência foram  $TI < 300/100$  mil habitantes, porém os IIP em outubro do ano anterior foram  $\geq 1\%$  e  $< 4\%$  (situação de alerta) ou  $IIP \geq 4\%$  (situação de alto risco de epidemia);

A análise também foi estratificada por tamanho populacional do município em 2010, considerando as seguintes categorias: pequeno porte - PP (municípios com  $\leq 50.000$  habitantes); médio porte – MP (municípios com população  $> 50.000$  e  $\leq 200.000$  habitantes) e de grande porte – GP (municípios com população  $> 200.000$  habitantes). Adicionalmente, estratificou-se os índices de infestação predial em seis valores, sendo: ‘zero’, ‘ $> 0 \leq 0,5$ ’, ‘ $> 0,5 < 1$ ’, ‘ $\geq 1 < 2$ ’, ‘ $\geq 2 < 3$ ’ e ‘ $\geq 3$ ’. O primeiro propósito dessa estratégia foi identificar a

quantidade de municípios que apresentaram circulação viral de dengue, coincidindo com IIP igual a zero. O segundo, foi identificar em que patamares havia concentração dos valores do IIP, propondo novos valores empiricamente.

Na sequência foram obtidas as curvas *Receiver Operating Characteristic* (ROC) para caracterizar a sensibilidade e especificidade entre IIP e TI. A sensibilidade do LIRAA foi definida como a capacidade em sinalizar a ocorrência de epidemias, expressa nas situações em que o IIP foi considerado de alerta e alto risco ( $IIP \geq 1\%$ ) no ciclo de outubro, sendo sucedido no ano seguinte por taxa de incidência alta, com  $\geq 300$  casos por 100 mil habitantes. Já a especificidade do LIRAA foi definida como a capacidade de sinalizar a não ocorrência de epidemias, isto é, de sinalizar situações satisfatórias de infestação ( $IIP < 1\%$ ) no ciclo de outubro, precedendo taxa de incidência no ano subsequente de  $< 300$  casos por 100 mil habitantes.

Como forma de estimar a qualidade do LIRAA, foram realizadas análises de correlação de Spearman entre o Índice de Infestação Predial (IIP) e de Índice de Breteau (IB). Este índice, IB, mostra o número de criadouros positivos, com formas imaturas de *Ae. aegypti*, para cada 100 imóveis pesquisados. Valores próximos de IB e IIP indicam que, para cada imóvel positivo, foi contabilizado apenas um criadouro, situação que sugere que a inspeção foi interrompida imediatamente após a identificação do primeiro criadouro com formas imaturas.

Os dados foram analisados usando o programa estatístico IBM SPSS Statistics V21x86 e o *software* R Development Team (2017) versão 3.4.3.

### 3. Resultados

#### 3.1. Relação entre IIP e Taxa de Incidência

No período analisado foram registradas 382 edições do LIRAA, realizadas nos meses de outubro (**Tabela 2**). Em média, 76 municípios realizaram anualmente a metodologia durante os cinco anos investigados, o que representa 82,6% do total de 92 municípios do estado.

Quando analisamos os dados estratificando os municípios por valores de infestação, observa-se que 91,63% dos municípios apresentaram IIP entre 0 e 2% (**Tabela 2**). Para 64,92% de todas as avaliações, o valor do IIP é no máximo 1%. Este dado sugere que as epidemias podem ocorrer quando os índices estão nesse patamar de infestação. Adicionalmente, observou-se que 78,37% dos municípios de porte ‘pequeno’ apresentaram

IIP < 1%, enquanto 63,08% dos municípios de porte ‘grande’ apresentaram IIP  $\geq$  1% (**Tabela 3**).

**Tabela 2.** Distribuição de frequência dos municípios segundo ocorrência de epidemia (TI  $\geq$  300 casos por 100 mil habitantes) e classificação dos valores de índice de infestação predial - IIP.

IIP- outubro	TI < 300 casos/100		TI $\geq$ 300 casos/100		Total		
	n	%	n	%	n	%	Freq. acum.
Zero	37	9,69	37	9,69	74	19,4	19,37
> 0 $\leq$ 0,5	49	12,82	54	14,14	103	27,1	46,34
> 0,5 < 1	32	8,38	39	10,20	71	18,6	64,92
$\geq$ 1 < 2	37	9,69	65	17,02	102	26,7	91,63
$\geq$ 2 < 3	8	2,09	18	4,71	16	4,1	98,43
$\geq$ 3	2	0,52	4	1,05	6	1,5	100
Total	165	43,19	217	56,81	382	100	

**Tabela 3.** Proporção de municípios, por porte populacional, com distribuição do índice de infestação predial menor, ou maior ou igual a 1%, no estado do Rio de Janeiro.

Porte do Município	Nº Munic. (n=92)	População	< 1%	$\geq$ 1%	Total
			%	%	%
PQ	55	$\leq$ 50.000	78,37	21,63	100,0
MD	24	> 50.000 $\leq$ 200.000	55,96	44,04	100,0
GR	13	> 200.000	36,92	63,08	100,0

Fonte: População do censo IBGE/2010.

Em 74 das 382 edições do LIRAA o índice de infestação predial foi zero, sendo que em 50% dessas edições (37) a TI esteve acima, ou abaixo de 300 casos/100 mil. Esse fato em si coloca em dúvida a qualidade da informação gerada, já que, supostamente, o índice de infestação ‘zero’ indicaria ausência do vetor, fato impossível diante da constatação da situação epidêmica (**tabela 2**). Destacou-se que 33 municípios apresentaram valores do IIP = 0, sendo que cinco desses repetiram esse resultado em quatro LIRAA, dos cinco anos analisados (**tabela 4**).

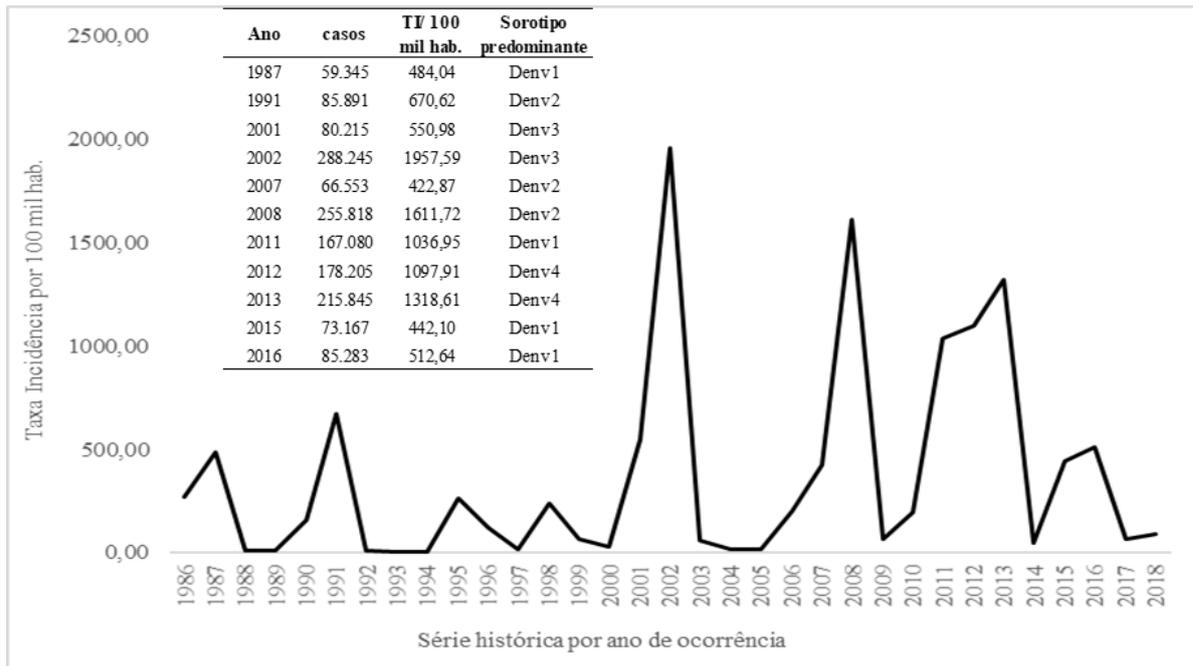
**Tabela 4.** Municípios que apresentaram IIP=0 nos cinco anos analisados e quantidade de vezes que esse resultado foi repetido no período.

Municípios que apresentaram IIP=0	Municípios com IIP = 0	Edições por município com IIP = 0	Total de edições
Aperibé, Bom Jardim, Carapebus, Carmo, Itatiaia, Miguel Pereira, Natividade, Nova Friburgo, Quissamã e Santo Antônio de Pádua.	10	1	10
Duas Barras*, Porciúncula, Itaocara, Quatis*, Trajano de Moraes*, Cardoso Moreira, Mendes, Vassouras, Comendador Levy Gasparian e Cordeiro.	10	2	20
Cambuci, Areal, Macuco, Paty do Alferes, Porto Real, Rio Claro, São José do Vale do Rio Preto e Sapucaia.	8	3	24
Engenheiro Paulo de Frontin, Piraí, Rio das Flores, Pinheiral e Santa Maria Madalena*.	5	4	20
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>-</b>	<b>74</b>

\* Municípios que tiveram em uma das edições do LIRAA a TI = 0.

Na análise gráfica da distribuição dos índices de infestação predial (IIP) anuais dos municípios, realizados nas edições de outubro, a Figura 2 apresenta, separadamente para cada ano avaliado, os índices de infestação (painéis à esquerda) e as taxas de incidências de dengue (painéis à direita). Em todos os casos são mostrados gráficos tipo box-plot com as medianas encontradas. Além disso, para esta análise anual, municípios de pequeno, médio e grande porte foram avaliados de forma estratificada. Observou-se que as medianas tendem a aumentar quanto maior o porte populacional do município, indicando que os menores índices de infestação encontrados são nos municípios de pequeno porte. Este perfil foi consistente nos cinco anos de avaliação apresentados tanto na Tabela 3, quanto na Figura 2.

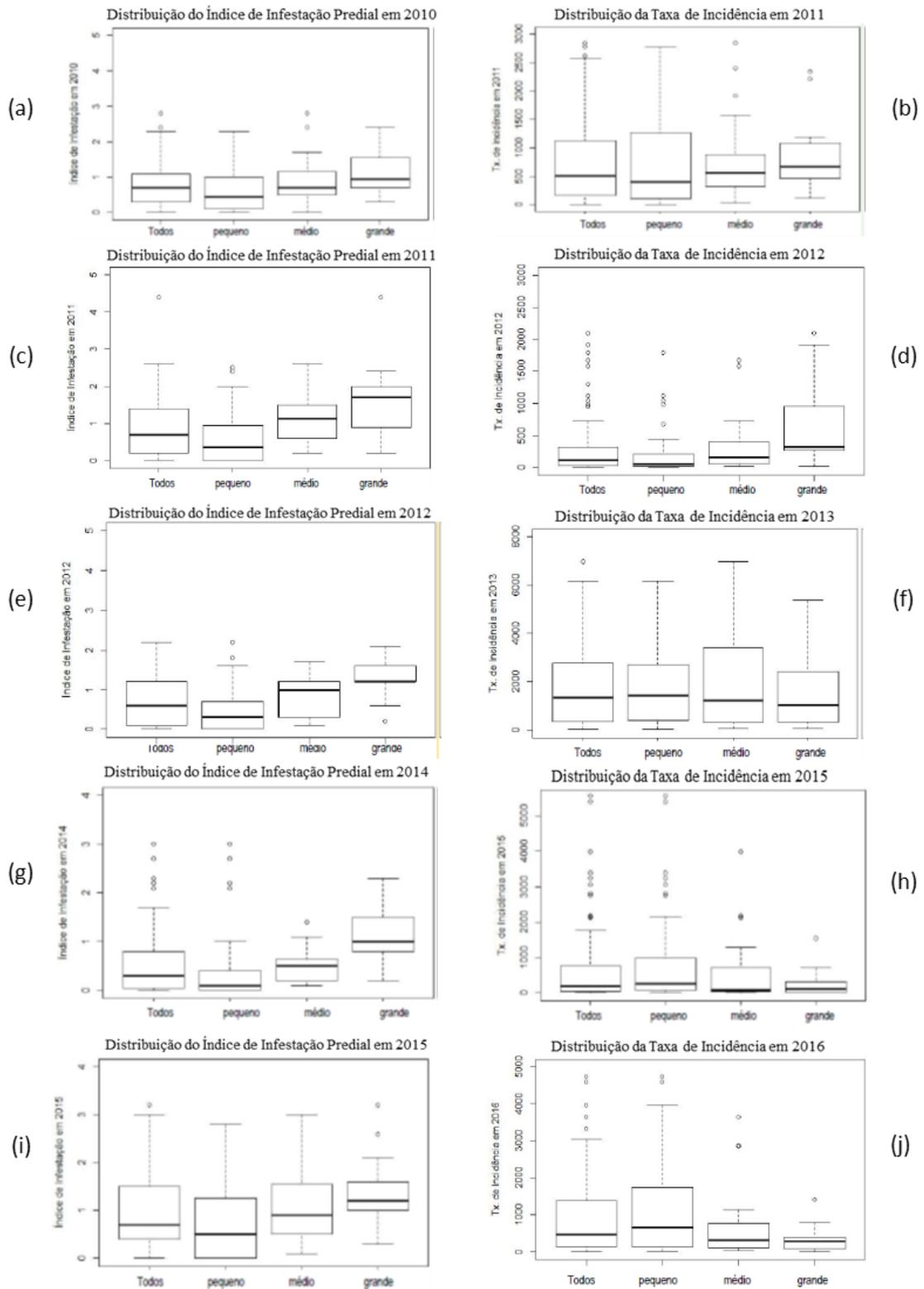
Nos painéis à direita, observou-se que o comportamento das medianas das taxas de incidência mostraram a mesma tendência dos IIP apenas nos dois primeiros anos analisados (**Figura 2b e d**), diferindo nos demais, inclusive mostrando comportamento contrário aos observados na análise dos IIP (**Figura 2f, h e j**). Uma série histórica das taxas de incidência de dengue no estado do Rio de Janeiro é apresentada na Figura 1, mostrando a linha de tendência dos anos epidêmicos ao longo do período estudado, destacando os anos cuja TI foi superior a 300 casos por 100 mil habitantes, e os sorotipos que predominaram nos respectivos anos.



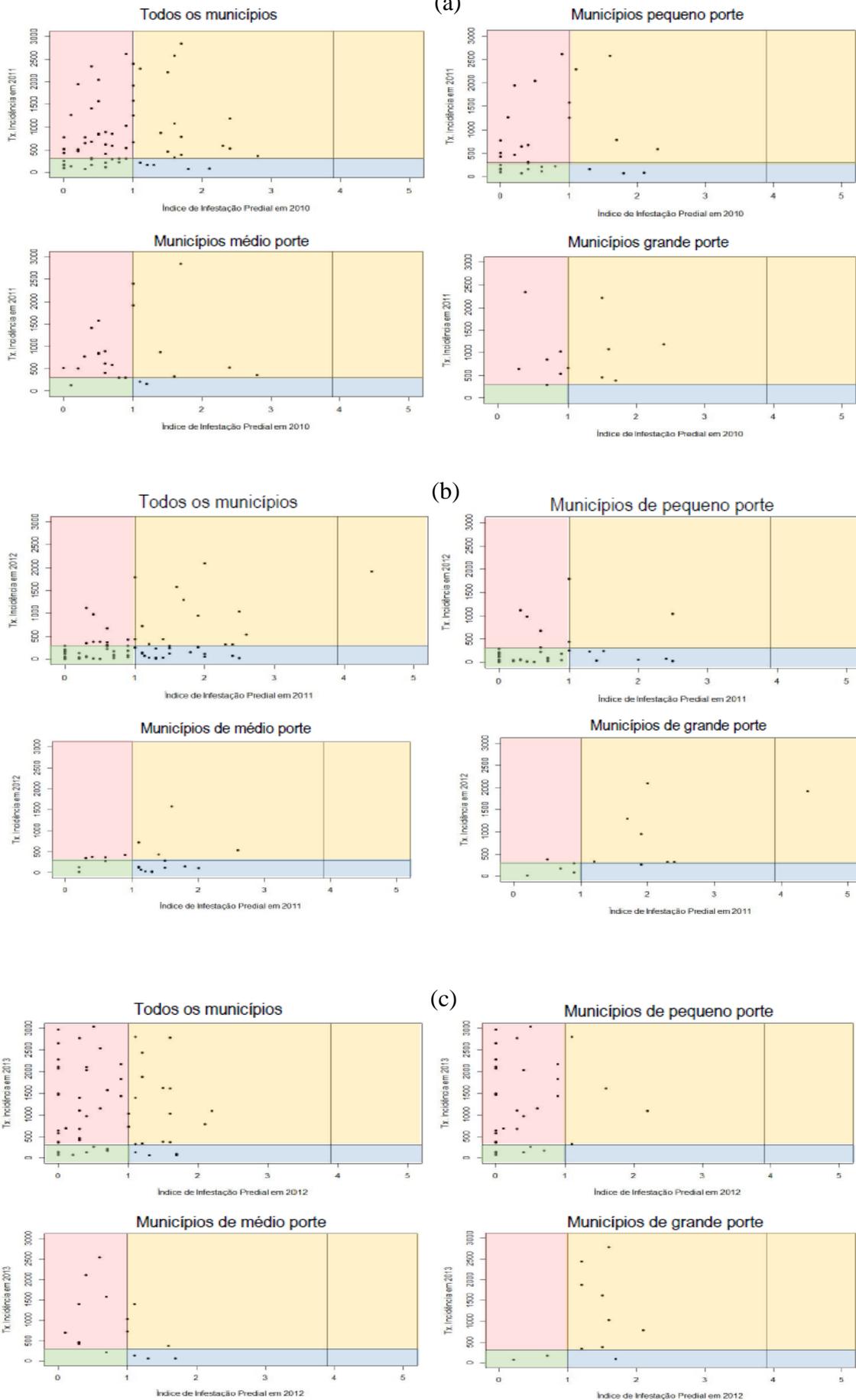
**Figura 1.** Série histórica das taxas de incidência de dengue no estado do Rio de Janeiro, no período de 1986 a 2018, destacando os anos com TI acima de 300 casos/100 mil habitantes, e sorotipos predominantes (Fonte: SINAN/SES-RJ)

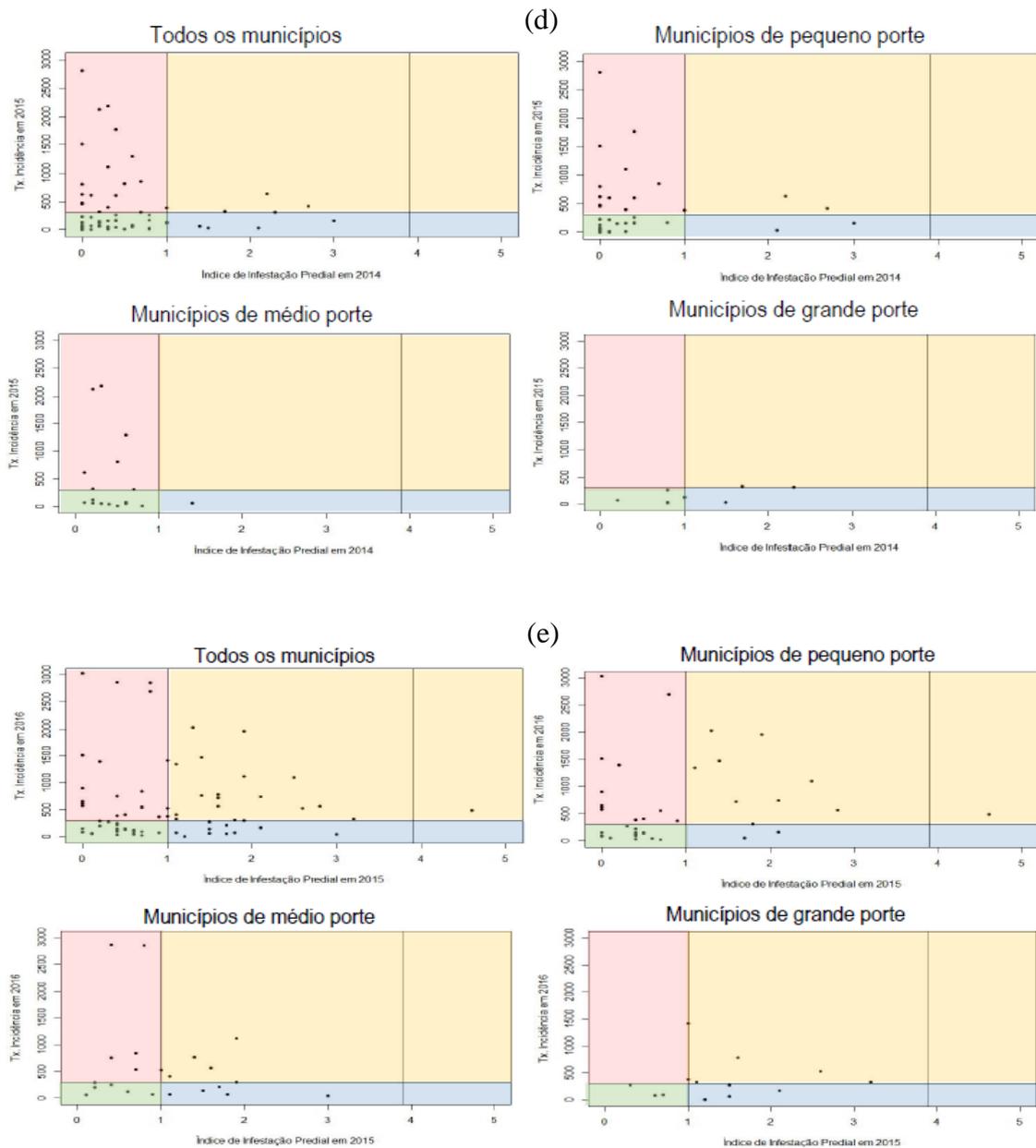
A Figura 3 apresenta diagramas de dispersão dos dados anuais dos IIP de outubro, em comparação com as taxas de incidência no ano subsequente. Esta análise foi feita para o conjunto de todos os municípios com dados disponíveis e para os municípios estratificados por tamanho populacional. Cada quadrante do diagrama reúne municípios segundo situação de concordância ou não entre estes dois indicadores, IIP e TI: as cores rosa e azul indicam os municípios *discordantes* (com epidemia e infestação ‘baixa’ ou o contrário, sem epidemia e com infestação em nível de alerta ou de alto risco). As cores verde e amarela indicam os municípios *concordantes* (‘sem epidemia e IIP satisfatório’ ou ‘com epidemia e IPP de alerta ou alto risco’) (**Figura 3 – Legenda**).

A análise visual sugere frequência expressiva de municípios com valores de IIP e TI discordantes em todo o período de análise (**Figura 3a-e**), com exceção do período de 2011/2012, cuja correlação positiva entre IIP em outubro de 2011 e a taxa de incidência em 2012 apresentou significância estatística ( $r = 0,479$ ;  $p < 0,01$ ) (**Figura 3b**).



**Figura 2.** Distribuição das medianas dos IIP anuais e taxas de incidência de dengue em anos correspondentes, segundo porte populacional dos municípios do Estado do Rio de Janeiro.





Legenda:

Discordantes

■ Municípios COM epidemia e IIP satisfatório;

■ Municípios SEM epidemia e IIP considerado de alerta

Concordantes

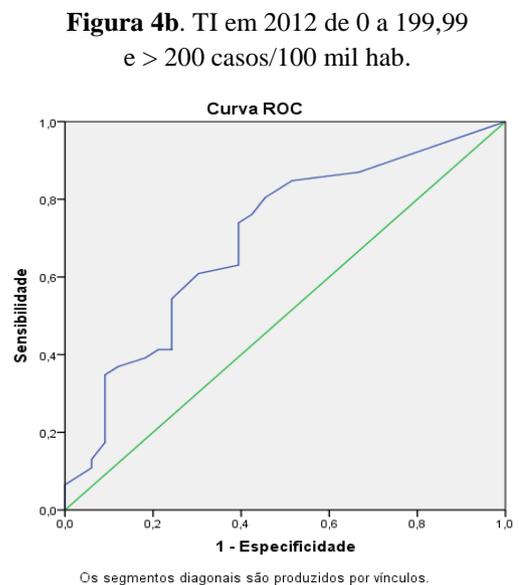
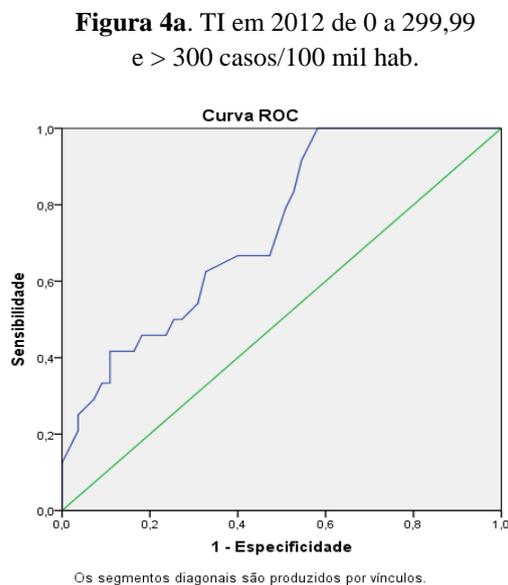
■ Municípios SEM epidemia e IIP satisfatório;

■ Municípios COM epidemia e IIP considerado de alerta

**Figura 3.** Distribuição dos municípios, por porte populacional, com  $TI \geq 300/100\text{mil-hab}$  em relação ao IIP aferido em outubro: (a) TI 2011 e IIP 2010; (b) TI 2012 e IIP 2011; (c) TI 2013 e IIP 2012; (d) TI 2015 e IIP 2014; (e) TI 2016 e IIP 2015.

A acurácia do IIP na predição de epidemias foi testada com dois pontos de corte para a incidência de dengue:  $TI > 300$  casos por 100 mil habitantes (figura A) e  $TI > 200$  casos por 100 mil habitantes (**figura 4**).

Considerando a definição de epidemia baseada na  $TI \geq 300$  por 100 mil habitantes, o ponto de corte do IIP = 0,65% em outubro de 2011 apresentou o mais adequado equilíbrio entre sensibilidade (66,7%) e especificidade (52,7%). Não foi observado ganhos em termos de sensibilidade e especificidade quando consideramos  $TI > 200$  casos por 100 mil habitantes para definição de epidemia (**figura 4a-b**).

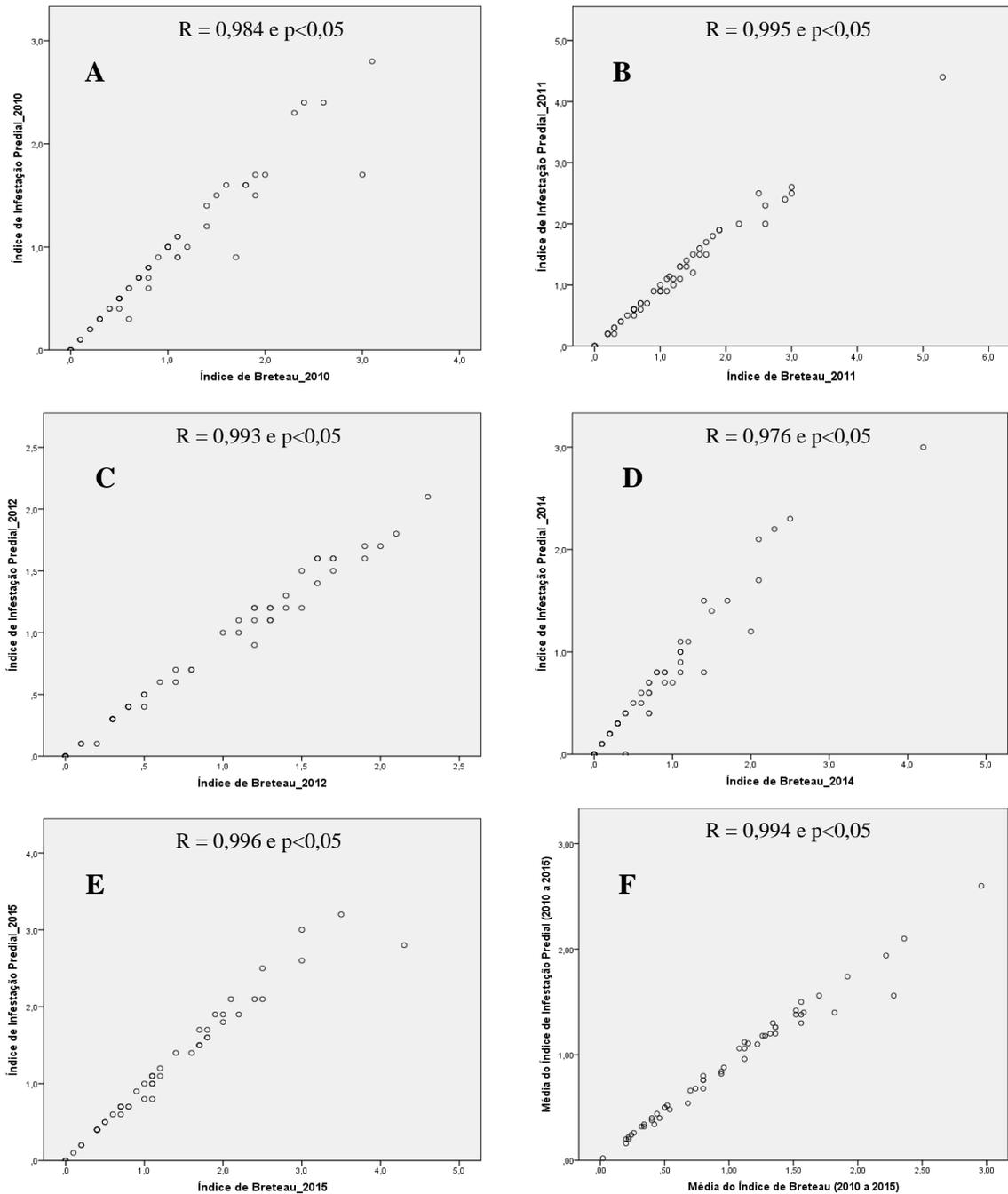


**Figura 4.** Curva ROC para caracterização de sensibilidade e especificidade entre IIP em outubro de 2011 e TI de dengue em 2012.

A análise da correlação entre o índice de infestação predial - IIP e índice de Breteau -IB foi conduzida com a finalidade de verificar a qualidade dos indicadores do LIRAa nos 55 municípios que realizaram a metodologia nas cinco edições anuais. A correlação também foi calculada para o período inteiro, na qual utilizou-se a média aritmética dos dois indicadores.

Foi possível visualizar que os pontos da distribuição se concentram próximos ao centro dos gráficos, assim como a distribuição dos pontos gerados pelo cálculo da média entre ambos, indicando que os pontos compreendem valores praticamente iguais (**Figura 5**).

Também foi calculada a correlação de Spearman (R) entre os dois indicadores, obtendo-se valores próximos a 1 (um) em todas as edições, com significância estatística ( $p < 0,05$ ).



**Figura 5.** Distribuição dos Índices de Infestação Predial (IIP) e Índice de Breteau (IB) e respectivos valores da correlação de Spearman: (A)=2010; (B)=2011; (C)=2012; (D)=2014; (E)=2015; a letra (F) é a média entre os IB e IIP nos 5 anos analisados.

#### 4. Discussão

No estado do Rio de Janeiro, desde 2009 o LIRAa tornou-se obrigatório como metodologia de aferição dos IIP do *Ae. aegypti*, após a pactuação com os municípios, na Comissão Intergestores Bipartite do estado (CIB-RJ), se consolidando como metodologia de rotina nas ações de prevenção e controle do dengue. Foi, portanto, uma medida positiva dos gestores, que nos propiciou o acesso aos dados entomológicos aqui apresentados, já que, em média, 76 municípios realizaram anualmente a metodologia durante os cinco anos investigados, ou seja, 82,6% do total de 92 municípios do estado. Atualmente, o MS recomenda a realização de quatro edições do LIRAa por ano, tornando-o uma ação vinculada a suspensão do repasse de recursos financeiros para os municípios, caso não seja executada como recomendado. No último ano, cerca de 98% dos municípios a executam na totalidade, salvo aqueles que, por algum empecilho justificaram sua execução, como a ocorrência de um desastre natural, uma epidemia causada por alguma arbovirose, ou questões administrativas locais.

A análise comparativa dos valores dos Índices de Infestação Predial – IIP, aferidos no LIRAa das edições de outubro dos anos de 2010, 2011, 2012, 2014 e 2015, e as respectivas taxas de incidência nos anos seguintes, considerados epidêmicos, indicou frequência elevada de valores discordantes. Do total de 217 edições do LIRAa realizadas no mês de outubro nas quais as taxas de incidência de dengue nos anos seguintes foram epidêmicas, em 130 edições (59,9%) os municípios apresentaram IIP inferiores a 1%, ou seja, níveis de infestação considerados baixos.

Por outro lado, nas 165 edições em que as taxas de incidência de dengue nos anos seguintes foram consideradas não epidêmicas, em 47 (28,4%) os valores do IIP foram superiores a 1%, isto é, níveis de infestação considerados de alerta ou alto risco ( $IIP \geq 1\%$ ). Acrescenta-se que este resultado, embora tenha sido considerado “discordante” pelo desenho da metodologia deste estudo, epidemiologicamente trata-se de um cenário possível, já que pode estar relacionado à imunidade da população ao sorotipo viral predominante, resultando em baixa circulação viral. Registramos, porém, que esses fatores não foram estudados com profundidade, podendo ser frutos de novos estudos que auxiliem na definição de medidas corretivas, que impactem na melhora dos indicadores gerados pelo LIRAa.

Propôs-se um recorte dos valores dos IIP diferente dos estabelecidos pelos Ministério da Saúde <sup>9</sup>, onde foi identificado que 91,64% das edições do LIRAa no período os valores do IIP

foram  $< 2\%$ , sinalizando para a necessidade de se estabelecer um novo limiar superior, para classificar o município em alto risco de epidemia, considerando que atualmente esse limiar é de  $4\%$ . Em complemento a essa questão, outra observação constatada foi que valor de  $IIP \geq 4\%$ , foi raro no período analisado, revelando-se pouco relevante para orientação geral dos municípios. Esse achado pressupõe que o município não precisa estar com  $IIP > 4\%$  para configurar risco elevado de epidemia.

As análises gráficas mostraram que os menores IIP aferidos nas edições do LIRAA de outubro estão distribuídos principalmente nos municípios menores, com destaque para os que apresentaram  $IIP = 0$ , coincidindo com a circulação do vírus do ano subsequente. Caberá verificar, como perspectiva deste trabalho, se a infestação é mesmo mais baixa em municípios menores, ou se é a qualidade do índice que pode estar comprometida nesses municípios, razões que devem ser investigadas futuramente.

Esses resultados reforçam as conclusões de diversos autores que propuseram uma reconsideração dos parâmetros estabelecidos pelo PNCMD/MS em relação ao LIRAA, pois além da pouca efetividade na orientação de ações de prevenção e controle da infestação com foco em formas imaturas, pode mascarar a densidade de adultos, que são responsáveis pela transmissão do vírus. Destacam que a metodologia reflete apenas a infestação pelas formas imaturas do *Ae. aegypti*, por isso outras estratégias devem ser incorporadas em complementação ao LIRAA<sup>12,13,14,15,16,17,18,19</sup>.

Todavia, ainda são escassos os estudos no Brasil que estabeleceram correlações entre índices de infestação predial e ocorrência de transmissão de dengue<sup>20,21</sup>, ou ainda, estudos que se propõem a avaliar o desempenho da metodologia na predição de epidemias. Segundo estudo conduzido por Coelho *et al.* (2008)<sup>8</sup>, o LIRAA realizado em outubro tem algum poder preditivo na velocidade de crescimento epidêmico. Além da constatação de incompatibilidade entre resultados do LIRAA e taxas de incidência de casos de dengue, estudos de diferentes autores mostram a necessidade de integrar outras metodologias entomológicas, capazes de medir com melhor precisão a infestação por *Ae. aegypti*, como o uso de ovitrampas e aspiradores<sup>22,23,24,25,26,27,28,29</sup>.

Questões relacionadas à qualidade dos indicadores do LIRAA também vem sendo discutidas, principalmente entre técnicos que atuam na gestão local, mas também na literatura sobre o tema<sup>30,31</sup>, que coloca sob suspeita a perspectiva de o LIRAA ser uma referência para o

norteamento das ações de controle. Neste estudo, quantificamos uma singularidade entre os valores dos Índices de Infestação Predial e os Índices de Breteau (IB): a correlação de Spearman calculada para ambos indicadores, nas cinco edições analisadas foi praticamente 1,0 (um). Esse achado nos leva a duas suposições importantes: a primeira, refere-se à falta de conhecimento por parte dos ACE quanto à relevância do IB; a segunda, em tese, está relacionada com o comprometimento do profissional com a importância da coleta no momento da visita ao imóvel. Portanto, são questões que requerem investimento em capacitação e sensibilização dos executores da metodologia, para que se possa, em tempos futuros e breves, corrigir essas fragilidades identificadas na sua execução, que impactam diretamente nos resultados, podendo induzir medidas equivocadas por parte dos gestores. Sabe-se que, dentre essas medidas, as estratégias de informação e comunicação, pelas diferentes formas de mídia, sobre a prevenção da dengue são norteadas pelos registros dos criadouros predominantes nos respectivos territórios onde são encontrados, acentuando esses possíveis equívocos.

Adicionalmente, é importante ressaltar que a metodologia LIRAA pode sofrer impacto em seus resultados por outros fatores além do relatado anteriormente, tais como: o tamanho da amostra definido no planejamento da ação, estabelecido no seu desenho metodológico; falta de infraestrutura adequada para sua execução e seu rigoroso monitoramento operacional; falta de capacitação periódica e sensibilização dos ACE para execução da metodologia. Esses fatores associados aos apresentados neste estudo, podem interferir na qualidade do indicador, gerando um certo grau de insegurança por parte dos técnicos e gestores sobre a metodologia.

Os dados deste artigo mostram a grande dificuldade em se definir mecanismos que apontem, com maior precisão, quais parâmetros do índice de infestação predial do *Ae. aegypti* exercem maior influência sobre a intensidade da transmissão do vírus dengue. Este cenário reforça a necessidade de investimento em estratégias alternativas, capazes de melhorar o desenho de possíveis cenários de epidemias de dengue e outras arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*.

## 5. Conclusões e considerações finais

Não houve correlação direta entre índices de infestação predial aferidos no mês de outubro dos cinco anos analisados e taxas de incidência dos anos subsequentes, exceto no período de 2011/2012, quando a correlação, embora com significância estatística, foi moderada ( $r = 0,479$ ;  $p < 0,01$ ).

Os índices de infestação predial  $< 2\%$  concentraram 91,63% de todas as edições analisadas nos cinco anos analisado.

Municípios considerados neste estudo como de porte populacional pequeno, abaixo de 50.000 habitantes, concentraram 78,37% dos índices de infestação abaixo de 1%, enquanto nos municípios considerados de grande porte ( $> 200.000$  habitantes) esse valor foi de 36,92%, sinalizando para a necessidade de aprofundar as análises sobre esses resultados, para que se estabeleçam novos parâmetros entomológicos, com vistas a orientar melhor as equipes de vigilância dos municípios.

Os índices de infestação predial  $\geq 4\%$ , ponto de corte usado para classificar municípios como de “alto risco” de epidemia, revelou-se pouco relevante para orientação geral dos municípios, já que raramente foi registrado entre os municípios analisados nos cinco anos do estudo, independente do corte populacional.

Atribui-se que os valores dos índices de infestação predial e de Breteau praticamente iguais no período analisado está relacionado a ausência de sensibilização e capacitação periódica dos ACE que executam o LIRAA, podendo estar relacionados a outros fatores não avaliados neste estudo.

O Índice de Infestação Predial na faixa de 0,65% apresentou maior sensibilidade para identificar o provável ponto de corte, para transmissão com taxas acima de 300 casos por 100 mil habitantes, embora a comprovação desse resultado só tenha mostrado significância estatística no período de 2011/2012.

A limitada sensibilidade e especificidade do índice de infestação predial gerado pelo LIRAA, expressa pela baixa capacidade em predizer tanto a ocorrência, quanto a não ocorrência de epidemias, torna urgente e necessária uma revisão na definição dos parâmetros de risco de transmissão estabelecidos.

Além disso, de um ponto de vista operacional, é necessário investir em capacitação e sensibilização permanentes dos agentes públicos que realizam a metodologia LIRAA, para que se possa corrigir fragilidades identificadas na sua execução, pela falta de informação sobre a importância do Índice de Breteau, como indicador que aponta a real situação dos criadouros predominantes no seu território de atuação. Destaca-se, ainda, que as estratégias de informação e comunicação sobre as medidas de prevenção são direcionadas pelos resultados do LIRAA, que, baseando-se nos diferentes tipos de criadouros predominantes registrados pela metodologia, elaboram as campanhas para sensibilização e mobilização da população.

Estados e municípios elaboram suas estratégias de ação para contingências baseados nos resultados do LIRAA, que vem sendo utilizado como norteador das medidas de contenção da transmissão de dengue e, de forma mais ampla atualmente, para contenção de arboviroses transmitidas por mosquitos *Aedes aegypti*, incluindo Zika e chikungunya. Neste cenário, torna-se urgente repensar os parâmetros estabelecidos pela metodologia para classificação de risco de epidemias nos municípios e, adicionalmente, investir no desenvolvimento de outras metodologias complementares de vigilância entomoviológica e epidemiológica, que permitam mensurar o real risco de transmissão no território e delinear estratégias mais efetivas para o controle dessas arboviroses.

## 6. Bibliografia

1. Donalisio, MR; Freitas, ARR 2015. Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 18(1), 283-285. <https://dx.doi.org/10.1590/1980-5497201500010022>
2. Fritzell C, Raude J, Adde A, Dusfour I, Quenel P, Flamand C 2016. Knowledge, Attitude and Practices of Vector-Borne Disease Prevention during the Emergence of a New Arbovirus: Implications for the Control of Chikungunya Virus in French Guiana. *PLoS Negl Trop Dis* 10(11): e0005081. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005081>
3. MS 2016. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Relatório da Reunião Internacional para Implementação de Alternativas para o Controle do *Aedes aegypti* no Brasil. Boletim Epidemiológico. Volume 47 N° 15 – 2016. <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/abril/05/2016-012---Relatorio-reuniao-especialistas-Aedes-publica----o.pdf>
4. Gubler DJ 1997. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerg Infect Dis*. 4: 442-449.
5. Tauil PL 2001. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad Saúde Públ* 17: 99-102.
6. Teixeira TRA, Medronho RA 2008. Indicadores sócio-demográficos e a epidemia de dengue em 2002 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública [online]*. 24: 2160-2170.
7. Hales S, de Wet N, Maindonald J, Woodward A 2002. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. *Lancet* 2002; 36(9336): 830-4.
8. Coelho GE, Burattini MN, Teixeira MG, Coutinho FAB, Massad E 2008. Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 103: 535-539.
9. MS 2009. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias

de dengue – Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 160 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

10. DATASUS – 2017 (acesso em 07/01/17).  
<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/poptRJ.def>
11. Valle D, Pimenta DN, Cunha RV 2015. Dengue: teorias e práticas. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2015. 460 p. : tab.; graf. ISBN: 978-85-7541-456-9.
12. Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A. *et al* 1996. Critical examination of *Aedes aegypti* indices: correlations with abundance. *American Journal of Tropical Medicine and Higiene*. 54: 543-547.
13. Gomes AC 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. *Informativo Epidemiológico do SUS*. 7: 49-57.
14. Braga IA, Gomes AC, Nelson M, Mello RCG, Bergamaschi DP, Souza JMP 2000. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev Bras Med Trop*. 33: 347-353.
15. Braga IMA, Valle D 2007. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiol. Serv. Saúde*, vol. 16, nº. 2, p. 113-118.
16. Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R 2009b. Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *J Med Entomol*. 5: 1001-1014.
17. Resende MC, Silva IM, Eiras AE 2010. Avaliação da operacionalidade da armadilha MosquiTRAP no monitoramento de *Aedes aegypti*. *Epidemiol. Serv. Saúde* [online]. vol.19, n.4, pp. 329-338. ISSN 1679-4974.
18. Pilger D, Lenhart A, Manrique-Saide P, Siqueira JB, Da Rocha WT, Kroeger A 2011. Is routine dengue vector surveillance in central Brasil able to accurately monitor the *Aedes aegypti* population? Results from a pupal productivity survey. *Tropical Medicine and International Health*. 16: 1143-50.

19. Sivagnaname N, Gunasekaran K 2012. Need for an efficient adult trap for the surveillance of dengue vectors. *Indian J Med Res.* 136: 739–749.
20. Teixeira MG, Barreto ML, Costa MCN, Vasconcelos PFC, Cairncross S 2002b. Dynamics of dengue vírus circulation: a silente epidemic in a complex urban área. *Trop Med Int Health.* 7: 757-762.
21. Zeidler JD, Acosta POA, Barrêto PP, Cordeiro JS 2008. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 42: 986-91.
22. Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E 2000. Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med Hyg.* 62: 11-18.
23. Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GC, Atrinckman D, Kittayapong P, Zhou H, Edman J 2000. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: populations dynamics. *J Med Entomol.* 37: 77-88.
24. Eiras AE 2002. Armadilha para captura de mosquitos. Patente: Privilégio e inovação. N. PI0203907-9, “Armadilha para captura de mosquitos”. 05 de set de 2002 (Depósitos).
25. Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, Eiras AE, Barata EAMF, Chiaravalloti-Neto F 2006. Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTraps<sup>TM</sup> in Mirassol, São Paulo, Brazil. *J Vector Ecol.* 31: 285-291.
26. Fávaro EA, Mondini A, Dibo MR, Barbosa AAC, Eiras AE, Chiaravalloti-Neto F 2008. Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in São Paulo, Brazil. *J. Vector Ecol.* 33: 8-16.
27. Kröckel U, Rose A, Eiras AE, Geier M 2006. New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in a urban environment. *J Am Mosq Control Assoc* 22: 229-239.
28. Lima-Camara T, Honório NA, Lourenço-de-Oliveira R 2006. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera> Culicidae) em distintos ambientes no Rio de Janeiro. *Cad Saúde Publ.* 22: 2079-2084.

29. Ribeiro MS, Codeço CT, Honório NR 2013. Análise comparativa entre as metodologias de monitoramento da infestação do *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:Culicidae) associadas à transmissão de dengue nos municípios de Itaboraí e Guapimirim, Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública – Fiocruz-RJ.
30. Chiaravalloti Neto F. *et al* 1999. Avaliação de ações municipais de combate a vetores da dengue na região de São José do Rio Preto, São Paulo, 1989 a 1995. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba, v. 32, n. 4, p. 357-362, Aug. 1999. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86821999000400004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86821999000400004&lng=en&nrm=iso)>. access on 23 June 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86821999000400004>.
31. Frutuoso RL 2013. Fatores associados com o índice de infestação predial do *Aedes aegypti* em municípios brasileiros no ano de 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/14379/1/2013\\_RodrigoLinsFrutuoso.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/14379/1/2013_RodrigoLinsFrutuoso.pdf)

#### 6.4 RESULTADOS REFERENTES AO OBJETIVO ESPECÍFICO 4.2.2 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA INTERAÇÃO ENTRE TAXA DE INCIDÊNCIA, ÍNDICE DE INFESTAÇÃO PREDIAL E VARIÁVEIS SOCIOECONÔMICAS

Neste item, são apresentados os resultados das análises que não foram contemplados no manuscrito proposto no item 6.3, considerando sua relevância para o estudo, porém não sendo possível incluí-los no mesmo, dada a quantidade de informações disponíveis e as limitações impostas pelos periódicos quanto a necessidade de objetividade na inclusão dos resultados das pesquisas. Destacamos que os dados poderão fazer parte de análises futuras mais aprofundadas e, certamente, integrarão novas produções científicas.

Foram realizadas análises de correlação de Spearman e regressão linear, incluindo grupos de variáveis, conforme a coerência em relação às possibilidades de os modelos adequarem-se ao modelo teórico explicativo da cadeia de transmissão da dengue. Foram consideradas, sucessivamente, duas planilhas de dados, sendo a primeira com todos os 92 municípios do estado do Rio de Janeiro, ou seja, mesmo aqueles que não realizaram todas as edições do LIRAA, como planejado para o estudo, foram incluídos. Após a primeira análise, decidiu-se excluir os índices de infestação predial (IIP) aferidos pelo LIRAA em 2007, e as taxas de incidência (TI) de 2008, considerados sem relevância para o estudo, já que apenas 23 municípios haviam realizado o LIRAA naquele ano. Sendo assim, foi gerada uma segunda planilha com os demais anos, a partir de 2010. Em seguida, foram realizadas análises de correlação entre o conjunto de variáveis selecionadas para o estudo, tendo a TI como variável de desfecho, e as demais consideradas variáveis explicativas.

O Quadro 3 mostra a análise de correlação entre TI e IIP, revelando que apenas no período de 2011/2012 houve correlação positiva entre as duas variáveis (IIP\_2011 e TI\_2012 = 0,479, com  $p < 0,01$ ).

Em seguida, foi feita a análise de regressão linear incorporando os dados entomológicos (IIP\_2011), climáticos e sociodemográficos como variáveis independentes e TI\_2012 como variável dependente, testando vários modelos em todos os anos estudados. Após seguidos testes, apenas as variáveis temperatura mínima média e domicílios com renda superior a cinco salários mínimos permaneceram no modelo final com significância estatística ( $p < 0,05$ ) (**Tabela 2**).

**Quadro 3 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e Índice de Infestação Predial do LIRAa de outubro do ano anterior, considerando os 92 municípios**

IIP_2010	TI_2011	
	Corr. Spearman	0,135
	Sig.	0,27
	N	69
IIP_2011	TI_2012	
	Corr. Spearman	,479**
	Sig.	0,001
	N	79
IIP_2012	TI_2013	
	Corr. Spearman	-0,003
	Sig.	0,979
	N	76
IIP_2014	TI_2015	
	Corr. Spearman	-0,07
	Sig.	0,544
	N	78
IIP_2015	TI_2016	
	Corr. Spearman	-0,035
	Sig.	0,758
	N	80

**Tabela 2 - Modelo com preditores que apresentaram significância na regressão linear, associando TI de dengue do ano de 2012, IIP de 2011 e variáveis socioambientais**

Modelo	Coeficientes não padronizados		Coeficientes padronizados	t	Sig.
	B	Modelo padrão	Beta		
(Constante)	-1131,778	519,946		-2,177	,033
1 IIP_2011	127,687	45,889	,288	2,783	,007
tempminmd11_11	64,099	30,475	,225	2,103	,039
mais5sm	45,656	17,033	,269	2,680	,009

a. Variável dependente: TI\_2012

Analisou-se a correlação de Spearman entre TI e cobertura de Atenção Básica “cobAB”, cujos resultados demonstraram uma correlação negativa em 2012 ( $r = -0,295$ ;  $p < 0,05$ ). Este resultado indica que, quanto menor a cobertura da Atenção Básica (AB), menores são as chances de captação de novos casos de dengue, impactando na redução das TI,

e foi atribuído à subnotificação (**Quadro 4**). Em 2015 os valores foram positivos (0,212), assim como em 2016 (0,332); nos dois anos com  $p < 0,05$ . Nesses casos, inferiu-se que quanto maior a cobertura da AB, maiores seriam as chances de detecção dos casos de dengue circulando no território das equipes da Estratégia Saúde da Família (eSF).

**Quadro 4 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e cobertura de Atenção Básica do mesmo ano**

TI_2011	<b>cobAB2011</b>	
	Corr. Spearman	-,113
	Sig.	,282
	N	92
TI_2012	<b>cobAB2012</b>	
	Corr. Spearman	-,295**
	Sig.	,004
	N	92
TI_2013	<b>cobAB2013</b>	
	Corr. Spearman	,073
	Sig.	,491
	N	92
TI_2015	<b>cobAB2015</b>	
	Corr. Spearman	,212*
	Sig.	,042
	N	92
TI_2016	<b>cobAB2016</b>	
	Corr. Spearman	,332**
	Sig.	,001
	N	92

Para as variáveis socioeconômicas, a correlação de Spearman com a Taxa de Incidência foi representativa nos anos de 2011 e 2012, onde 8 entre 10 variáveis apresentaram correlação significativa em 2011, e 7 em 2012. Em ambos os anos, as variáveis ‘proporção de domicílios com água de outras fontes’, “AguautF”, e ‘proporção de domicílios com renda média até 5 salários mínimos’, “ate5sm”, apresentaram correlações negativas. A variável ‘proporção de domicílios com cobertura de esgoto’, “cobEsg” não apresentou correlação em nenhum dos anos analisados. As variáveis ‘taxa de alfabetização’, “TxAlfab” e ‘índice de desenvolvimento social’, “idh” apresentaram os maiores índices de correlação positiva nesses dois anos, o que também ocorreu com a variável “ate5sm” em 2016 (**Quadro 5**).

**Quadro 5 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência dos anos epidêmicos e variáveis socioeconômicas do Censo IBGE/2010**

IIP	Estatística	TxAlfab	Agua RG	Agua outF	Col Lixo	cobEsg	ate 5sm	mais 5sm	sem Rend	idh	Prop popurb
TI_2011	Corr. Spearman	,403**	,234*	-,234*	,311**	,201	-,250*	,315**	,105	,415**	,293**
	Sig.	,000	,025	,025	,003	,055	,016	,002	,320	,000	,005
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
TI_2012	Corr. Spearman	,340**	,230*	-,230*	,156	,026	-,430**	,225*	,247*	,332**	,201
	Sig.	,001	,027	,027	,137	,802	,000	,031	,017	,001	,055
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
TI_2013	Corr. Spearman	-,022	,109	-,109	,000	,005	-,056	,205	-,016	,158	,195
	Sig.	,836	,300	,300	,997	,963	,599	,050	,878	,132	,062
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
TI_2015	Corr. Spearman	,021	,189	-,189	,128	,062	,037	,260*	-,088	,189	,251*
	Sig.	,844	,071	,071	,224	,558	,724	,012	,402	,071	,016
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
TI_2016	Corr. Spearman	-,268**	,052	-,052	-,157	,053	,420**	,125	-,390**	-,016	,142
	Sig.	,010	,622	,622	,134	,614	,000	,235	,000	,877	,176
	N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92

A análise entre a TI e variáveis climáticas do período correspondente mostra variações nos resultados, apresentando correlações com significância estatística tanto positivas, quanto negativas. A Figura 6 mostra apenas períodos que apresentaram correlações significativas. A variável ‘temperatura mínima média’, “tempminmd”, foi a que mostrou uma sequência importante de correlações positivas com a TI nos anos de 2012, 2013 e 2015, diferindo das demais variáveis climáticas, que, ao contrário, apresentaram valores discrepantes quando analisadas em anos diferentes. Por exemplo, a variável ‘precipitação’, “precip”, apareceu 11 vezes com correlação negativa e cinco vezes com correlação positiva. A ‘temperatura máxima média’, “tempmaxmd” apresentou correlação negativa nos meses 09 e 10/2012, 10 e 12/2013, e positiva nos meses 09, 10 e 11/2014 e 10/2015. A ‘umidade relativa do ar’, “umidrelmd”, foi importante nos meses 01/2012, 11/2014 e 12/2015, quando as correlações foram de (0,415), (0,581) e (0,405), respectivamente, todas com  $p < 0,05$ .

**Figura 6 - Correlação de Spearman entre Taxa de Incidência e variáveis climáticas: A (2011); B (2012); C (2013); D (2015); E (2016)**

<b>A</b>			precip 11_10	temp max md 09_10	temp max md 10_10
Rô de Spearman	TI_2011	Coef. Corr.	-,238*	-,214*	-,215*
		Sig.	,022	,040	,039
		N	92	92	92

<b>E</b>			precip 09_15	precip 12_15	precip 02_16	temp max md 10_15	temp min md 12_15	umid relmd 09_15	umid relmd 11_15	umid relmd 12_15
Rô de Spearman	TI_2016	Coef. Corr.	-,281**	,470**	-,290**	,286**	-,218*	-,332**	-,205*	,405**
		Sig.	,007	,000	,005	,006	,037	,001	,049	,000
		N	92	92	92	92	92	92	92	81

<b>B</b>			precip 09_11	precip 10_11	precip 11_11	precip 12_11	precip 01_12	temp min md 09_11	temp min md 10_11	temp min md 11_11	temp min md 12_11	temp min md 01_12	temp min md 02_12	umid relmd 09_11	umid relmd 11_11	umid relmd 12_11	umid relmd 01_12	
Rô de Spearman	TI_2012	Coef. Corr.	,401**	-,333**	-,353**	-,373**	-,489**	,404**	,467**	,460**	,466**	,465**	,484**	,329**	-,368**	-,290**	,415**	
		Sig.	,000	,001	,001	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,003	,000	,005	,000
		N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	80	92	92	69

<b>C</b>			precip 11_12	precip 12_12	precip 01_13	precip 02_13	temp ma xmd 10_12	temp max md 12_12	temp max md 02_13	temp min md 09_12	temp min md 10_12	temp min md 11_12	temp min md 12_12	temp min md 01_13	temp min md 02_13	umid relmd 11_12
Rô de Spearman	TI_2013	Coef. Corr.	-,239*	-,387**	-,382**	-,424**	-,216*	-,291**	-,308**	,316**	,297**	,266*	,322**	,337**	,307**	,239*
		Sig.	,022	,000	,000	,000	,039	,005	,003	,002	,004	,011	,002	,001	,003	,022
		N	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92

<b>D</b>			precip 09_14	precip 10_14	precip 02_15	temp max md 09_14	temp max md 10_14	temp max md 11_14	temp min md 09_14	temp min md 10_14	temp min md 11_14	temp min md 02_15	umid relmd 11_14	umid relmd 01_15
Rô de Spearman	TI_2015	Coef. Corr.	,210*	,268**	,501**	,275**	,251*	,223*	,243*	,234*	,228*	,225*	,581**	-,225*
		Sig.	,045	,010	,000	,008	,016	,032	,020	,025	,029	,031	,000	,044
		N	92	92	92	92	92	92	91	92	92	92	92	80

\*\* . A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

\* . A correlação é significativa no nível 0,05 (2 extremidades).

## 7 DISCUSSÃO

Considerando o processo saúde-doença que envolve a transmissão do dengue, o modelo lógico explicativo leva em conta os elementos básicos para que a cadeia se complete, a saber: (1) indivíduo susceptível ao vírus; (2) circulação de um dos quatro sorotipos virais com o qual o indivíduo não teve contato; e (3) presença do vetor de transmissão, o *Aedes aegypti*. Sabidamente, o único elo vulnerável nessa cadeia é o vetor, sobre o qual todas as medidas para prevenir a doença estão direcionadas, tendo em vista a ausência de uma vacina eficaz, que possa interferir nos dois primeiros elementos (TAUIL, 2002).

Diante desses pressupostos, as análises que buscam explicar as epidemias de dengue concentram-se na procura de possíveis associações entre os processos epidêmicos e os fatores ambientais e sociodemográficos, uma vez que a conjunção desses fatores, ou sua atuação isoladamente, pode contribuir para aumento da magnitude dos processos epidêmicos. Logo, entende-se que o conhecimento prévio sobre a atuação dos referidos fatores na magnitude da doença, permite a elaboração de análises estatísticas, capazes de projetar cenários de ocorrência de epidemias (em teoria) e, assim, contribuir para evitá-las, com ações de prevenção.

### 7.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS DAS ANÁLISES DOS IIP E TI

Os valores dos Índices de Infestação Predial – IIP, aferidos no LIRAA de outubro dos anos 2010, 2011, 2012, 2014 e 2015, foram comparados com as Taxas de Incidência dos anos epidêmicos subsequentes. Para análise dos resultados, foram considerados os conceitos de ‘discordante’ e ‘concordante’, atribuídos na metodologia deste estudo. Valores incompatíveis foram observados em todos os anos; de um total de 217 edições do LIRAA apresentaram  $TI \geq 300/100\text{mil-hab}$ , dentre as quais 130 edições (59,9%) corresponderam a municípios com IIP menores que 1%, mas em situação de incidência de dengue alta ( $\geq 300/100\text{mil-hab}$ ).

Quanto a compatibilidade entre os percentuais das duas variáveis analisadas, podemos considerar todas as edições onde os municípios apresentaram  $TI \geq 300/100\text{mil-hab}$ , coincidindo com  $IIP \geq 1\%$ , que ocorreram em todos os anos, totalizando 165 edições. Destacamos que as edições que apresentaram  $IIP \geq 4\%$ , apesar deste valor ser o parâmetro que classifica os municípios como de alto risco de transmissão, não apresentaram importância

entomológica nos anos analisados, representando baixíssimos percentuais de ocorrência em relação aos demais parâmetros.

Esses resultados ratificam as conclusões de diversos autores que propuseram uma reconsideração dos parâmetros estabelecidos pela CGArb/MS em relação ao LIRAA. Este indicador traduz apenas a infestação pelas formas imaturas do *Ae. aegypti*, e não seria suficiente para definir municípios sob menor ou maior risco, uma vez que não apresenta correlação com as taxas de incidência em períodos posteriores e não parece ser um bom indicador para inferir abundância de adultos, a etapa do vetor responsável pela transmissão do vírus (TUN- LIN *et al.*, 1996; GOMES, 1998; BRAGA *et al.*, 2000; BRAGA; VALLE, 2007; HONÓRIO *et al.*, 2009b; RESENDE *et al.*, 2010; PILGER *et al.*, 2011; SIVAGNANAME *et al.*, 2012).

No Brasil existem poucos estudos destinados a estabelecer correlações entre índices de infestação predial e ocorrência de transmissão de dengue (TEIXEIRA *et al.*, 2002; ZEIDLER *et al.* 2008). De acordo com Coelho *et al.*, (2008), o LIRAA realizado em outubro tem algum poder preditivo na velocidade de crescimento epidêmico. Porém, nosso estudo identificou que das 382 edições do LIRAA nos cinco anos analisados, 350 (91,6%) se concentraram entre os IIP “zero” e “< 2%”, sendo 155 (44,2%) com TI < 300/100mil-hab, e 195 (55,8%) com TI  $\geq$  300/100mil-hab. Além da constatação de incompatibilidade entre resultados do LIRAA e taxas de incidência de casos de dengue, vários estudos mostram a necessidade de integrar outras metodologias entomológicas, capazes de medir com melhor precisão a infestação do *Ae. aegypti*, como o uso de ovitrampas e aspiradores (FOCKS *et al.*, 2000; FÁVARO *et al.*, 2006; 2008; EIRAS, 2002; KRÖCKEL *et al.*, 2006; SCOTT *et al.*, 2000; LIMA-CAMARA, *et al.*, 2006; RIBEIRO, 2013).

Estudo multicêntrico realizado entre os anos de 2009 e 2012, por encomenda do PNCMD/MS, teve como objetivo avaliar várias armadilhas disponíveis no mercado com potencial de estimar a população adulta de *Aedes aegypti*. Verificou-se que “todas as armadilhas apresentaram desempenho superior aos índices larvários, sob vários aspectos”. Contudo, a conclusão foi “em nenhum caso, armadilhas são independentes do trabalho dos agentes, mas que a adoção de qualquer armadilha na rotina da vigilância entomológica depende de capacitação prévia e avaliação continuada dos profissionais” (NT N.º 3/2014/IOC).

Os resultados acima trazem à luz uma questão importantíssima sobre a qualidade das ações desenvolvidas pelas equipes de ACE dos municípios. Uma das conclusões do estudo

multicêntrico afirma que “todas as armadilhas foram mais sensíveis que os índices larvários, de infestação predial”, e que é necessário “ter à disposição do trabalho de vigilância entomológica, profissionais comprometidos e capacitados”, sendo essa sua principal recomendação, destacando a “necessidade de treinamentos e avaliações continuados” para as equipes.

A questão da qualidade também foi abordada durante pesquisa de campo realizada entre 2011 e 2012 nos municípios de Itaboraí e Guapimirim, no Rio de Janeiro. Imóveis onde larvas ou pupas não foram encontradas durante o LIRAA realizado pelos ACE, foram ‘positivados’, tanto com as ovitrampas, como com coletas de adultos por aspiração (RIBEIRO, 2013).

Essas questões ganham evidência no presente estudo, quando observamos os resultados da comparação entre o IIP, que quantifica os imóveis infestados, e o Índice de Breteau (IB), que identifica a frequência dos criadouros positivos em relação aos imóveis inspecionados. É comum que ambos os valores estejam muito próximos, o que coloca em dúvida a qualidade dos índices, principalmente do IB. Ela significaria, em princípio, que cada imóvel infestado conteria apenas um recipiente ‘positivo’, ou seja, com larvas de *Ae. aegypti*. Este dado certamente compromete o propósito e a qualidade do indicador IB, questão que foi discutida no manuscrito descrito no item 6.3 (p. 57).

Esta situação compromete diretamente os resultados esperados, denotando gravidade por representar um ato falho em relação à execução da metodologia. Em primeiro lugar, pressupõe-se que há falta de compreensão do ACE sobre a relevância do IB, situação que pode interferir no propósito deste indicador, que é mostrar a variedade de criadouros positivos em um mesmo imóvel, ratificando o comportamento das fêmeas do *Ae. aegypti*, de colocar seus ovos em diferentes recipientes (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Logo, a decisão inadvertida do ACE de abdicar da busca criteriosa de criadouros com formas imaturas, quando as encontra no primeiro recipiente investigado, omite a identificação da presença do vetor em outros recipientes. Adicionalmente, esse equívoco pode gerar informações distorcidas sobre os criadouros preferenciais do vetor, induzindo a erros de estratégia na definição tanto de ações de comunicação junto à população, quanto de políticas de fortalecimento das ações intersetoriais.

A outra questão, que sonega a informação verdadeira quando há omissão de focos e, portanto, geração de índices de infestação baixos, tem consequências importantes para a gestão local, de um lado pela caracterização de um cenário que transmite uma falsa sensação

de conforto por parte da população; de outro, o prejuízo do trabalho de planejamento dos gestores, que ficam sem informação sobre a real situação local e, portanto, impedidos de aplicar as medidas preventivas mais adequadas. O cenário resultante da produção de índices de forma leviana, por falsos registros, ou por reprodução de focos de um imóvel para vários outros, em geral se reflete, posteriormente, em necessidade de mobilização não planejada das equipes de saúde, para enfrentamento tardio de situações de epidemia.

Essa discussão vem sendo tratada com muita discrição em fóruns envolvendo os gestores dos programas municipais de controle da dengue; são relatos recorrentes sobre a inconsistência dos índices gerados pelo LIRAa. Os resultados do presente estudo, corroborados por outros trabalhos que apontam na mesma direção, indicam que há dúvida sobre a qualidade dos índices larvários aferidos pelos ACE. Esse é um tema relevante, apontando para a necessidade de avaliações criteriosas sobre essas atividades, que envolvem uma categoria de profissionais que exerce um trabalho essencial no campo da saúde pública. As ações de monitoramento e controle de vetores, especificamente, requerem não só prudência por parte de gestores e profissionais que a executam, mas também de significativo investimento em qualificação e sensibilização, que seja capaz de elevar a importância da atividade de vigilância entomológica para um nível de qualidade que dela se espera.

## 7.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS DAS VARIÁVEIS CLIMÁTICAS E SOCIOECONÔMICAS

Sabe-se que um dos grandes problemas para o monitoramento das doenças transmissíveis está relacionado à capacidade de notificação oportuna, ou mesmo de não notificação, da rede de atenção à saúde. Observou-se que na análise de correlação entre as variáveis 'TI' e 'indicadores de cobertura da Atenção Básica' (AB) houve tanto correlação positiva, quanto negativa. Este resultado não permitiu concluir se, de fato, maiores ou menores coberturas da AB impactam na redução da subnotificação. Vale ressaltar que a AB é a porta de entrada dos serviços de saúde, instância que não só garante a assistência no primeiro nível de atenção, como também mantém monitoradas e catalogadas as doenças que circulam em seus territórios, para que a definição das políticas de redução de riscos e da promoção da saúde sejam implementadas de forma resolutiva e oportuna.

Os relatos a seguir apresentam resultados que buscaram atribuir correlações entre variáveis socioeconômicas e climáticas, que não coincidiram, em parte, com os resultados

deste estudo. Contudo, podemos considerar que fatores relacionados a questões locais, bem como os recursos metodológicos utilizados, período do estudo, formas de coleta de dados, modelos estatísticos utilizados para análise etc., podem ter interferido na dinâmica da pesquisa, ocasionando tais discrepâncias.

Vários autores relacionaram maiores riscos de transmissão de dengue com piores níveis socioeconômicos da população, em cidades brasileiras (MEDRONHO, 1995; COSTA; NATAL, 1998; SIQUEIRA *et al.*, 2004; CAIAFFA *et al.*, 2005). No entanto, Teixeira e Medronho (2008), em outro estudo realizado em São Paulo, apesar de identificarem a mesma associação em um dado período, não detectaram associação permanente entre essas variáveis. Resultados discrepantes também foram observados neste estudo, quando comparados a outros estudos com a mesma temática, como os citados acima, entre outros mais recentes (GOMES, 2011; VIANA; IGNOTTI, 2013).

Viana e Ignotti (2013) mostraram que o fator abiótico ‘chuva’ foi importante para a produção de larvas, pupas e para a ocorrência de dengue. As infestações foram detectadas principalmente entre os meses de maior índice de precipitação pluviométrica nas diferentes localidades avaliadas. Este resultado não coincidiu totalmente com o estudo aqui apresentado, que revelou variações nos valores obtidos com as correlações de Spearman, com positividade em alguns anos, contrastando com associações negativas em outros.

Estudo de revisão realizado em 2017 em Porto Rico relatou que os artigos que usaram a variável climática como variável explicativa para a ocorrência de dengue em Porto Rico, quando houve aumentos na temperatura e precipitação, foi possível associá-los com o aumento da densidade do vetor e com a transmissão da doença. Os autores da revisão indicam que há poucos estudos sobre as inter-relações entre fatores de transmissão climáticos e não-climáticos. Recomendam que pesquisas adicionais nesta área são necessárias para entender completamente a dinâmica da transmissão do dengue (MATYSIAK; ROESS, 2017).

Esses estudos, assim como os dados deste artigo, mostram a grande dificuldade em se definir mecanismos que apontem, com maior precisão, quais fatores (ambientais ou socioeconômicos) exercem maior influência sobre a intensidade da transmissão do vírus dengue, o que reforça a necessidade de investimento em estratégias alternativas, capazes de melhorar o desenho de possíveis cenários de epidemias de dengue.

## 8 CONCLUSÕES

O monitoramento da circulação de vírus em mosquitos, baseado no PCR convencional, que utiliza iniciadores desenhados para famílias, não se mostrou eficaz e não satisfaz a expectativa inicial deste estudo, que era mostrar a possível presença de arbovírus nas áreas de estudo, antes da circulação em seres humanos, para tornar a estratégia em uma ação de vigilância entomo-virológica na rotina dos serviços de vigilância local. A metodologia de PCR realizada com iniciadores específicos para cada vírus em circulação pode apresentar maior sensibilidade e favorecer a detecção viral. Todavia, foi possível identificar um vírus inseto-específico ainda não identificado no estado do Rio de Janeiro, o que aponta para a necessidade de investimentos mais consistentes em tecnologias de pesquisa laboratorial, visando a busca de vírus inseto-específicos, que podem estar interagindo na ecologia dos vetores das arboviroses já estabelecidas no estado.

Observou-se, com este estudo, que não há evidências que índices de infestação predial abaixo de 1% aferidos pelo LIRAA, como preconiza o MS, garantam ausência de circulação viral intensa no ano seguinte. Com isso, recomenda-se uma revisão na definição dos parâmetros estabelecidos para prospecção de risco de transmissão com base nesse indicador. Destaca-se que estados e municípios elaboram suas estratégias de ações para contingências baseados nesse indicador, como norteador das medidas de contenção da transmissão do dengue. Atualmente, a preocupação com a situação epidemiológica inclui ainda a febre chikungunya e o vírus Zika, e o *Aedes aegypti* é vetor primário de ambos.

É urgente a necessidade de investimentos na sensibilização e qualificação permanentes dos profissionais que desenvolvem ações de vigilância entomológica nos municípios. Tais investimentos teriam como contrapartida direta o melhor direcionamento das estratégias de comunicação sobre criadouros predominantes, com otimização de recursos humanos e financeiros, e com vistas à implementação de ações intersetoriais, que impactarão na redução dos índices de infestação pelo *Ae. aegypti*.

Destacamos que o estudo foi importante para a análise de associação entre a variável de desfecho Taxa de Incidência com variáveis ambientais e socioeconômicas. Há evidências estatísticas de que o índice de infestação predial do *Ae. aegypti*, bem como a variável climática ‘temperatura mínima média’, podem ser usados como moduladores dos fatores de risco para ocorrência de epidemias de dengue, nos municípios avaliados. Em todos os casos houve associação significativa destas duas variáveis com a Taxa de Incidência, mesmo que em ocasiões pontuais, em anos específicos.

É urgente discutir a introdução de outras metodologias ou estratégias de análises dos dados, ou de investigação entomológica, que permitam sugerir a existência de condições propícias para classificar áreas de maior ou menor risco de ocorrência de epidemias de dengue e outras arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*, considerando as variáveis utilizadas neste estudo, bem como outras não contempladas.

Este estudo reforça a necessidade de investimentos permanentes e robustos na definição de mecanismos alternativos, capazes de melhorar o desenho de possíveis cenários de epidemias de dengue e outras arboviroses.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, E. R. G. R. *et al.* Sequence-independent characterization of viruses based on the pattern of viral small RNAs produced by the host. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 13, p. 6191-6206, 2015.
- ANTUNES, J. L. F.; CARDOSO, M. R. A. Uso da análise de séries temporais em estudos epidemiológicos. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 3, p. 565-576, set. 2015. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v24n3/v24n3a24.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2019.
- ARAÚJO, J. S. S. *et al.* Microcephaly in northeast Brazil: a review of 16 208 births between 2012 and 2015. **Bulletin of the World Health Organization**, 2016. DOI 10.2471/BLT.16.170639.
- ARDUINO, M. B.; ÁVILA, G. O. Aspectos físico-químicos da água de criadouros de *Aedes aegypti* em ambiente urbano e as implicações para o controle da dengue. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 1, p. 89-100, jan./mar. 2015.
- AUGUSTE, A. J. *et al.* Characterization of a novel Negevirus and a novel Bunyavirus isolated from *Culex* (Culex) declarator mosquitoes in Trinidad. **Journal of General Virology**, v. 95, pt. 2, p. 481-485, Feb. 2015.
- BENNETT, A. J. *et al.* Diverse RNA viruses of arthropod origin in the blood of fruit bats suggest a link between bat and arthropod viromes. **Virology**, v. 528, p. 64-72, Feb 2019.
- BENNETT, K. E. *et al.* Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, n. 1, p. 85-92, 2002.
- BHATT, S. *et al.* The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013.
- BOLLING, B. G. *et al.* Insect-specific viruses detected in laboratory mosquito colonies and their potential implications for experiments evaluating arbovirus vector competence. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 422-428, 2015.
- BRAGA, I. A. *et al.* Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição para detecção de *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 4, p. 347-353, 2000.
- BRAGA, I. M. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Portaria nº 1.007, de 04 de maio de 2010. Define critérios para regulamentar a incorporação do Agente de Combate às Endemias - ACE, ou dos agentes que desempenham essas atividades, mas com outras denominações, na atenção primária à saúde para fortalecer as ações de vigilância em saúde junto às equipes de Saúde da Família. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 2010. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt1007\\_04\\_05\\_2010\\_comp.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt1007_04_05_2010_comp.html). Acesso em: 20 mar. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Portaria nº 1.813, de 11 de novembro de 2015. Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) por alteração do padrão de ocorrência de microcefalias no Brasil. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 2015. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2015/prt1813\\_11\\_11\\_2015.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2015/prt1813_11_11_2015.html). Acesso em: 20 mar. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Fundação Nacional de Saúde. Departamento de Operações. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. **Manual de dengue**: vigilância epidemiológica e atenção ao doente. 2. ed. Brasília: MS, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: MS, 2009. 160 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRAKS, M. A. H. *et al.* Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeast Brazil and Florida. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, n. 6, p. 785-794, 2003.

BURKE, R. L. *et al.* Septic tanks as larval habitats for the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Playa-Playita, Puerto Rico. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 24, n. 2, p. 117-123, 2010.

CAIAFFA, W. T. *et al.* The urban environment from the health perspective: the case of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 958-967, 2005.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p.1885-1886, Oct. 2015.

CHANDLER, J. A. *et al.* Metagenomic shotgun sequencing of a Bunyavirus in wild-caught *Aedes aegypti* from Thailand informs the evolutionary and genomic history of the Phleboviruses. **Virology**, v. 464-465, p. 312-319, 2014.

CHAO, D.; DAVIS, B. S.; CHANG, G. J. Development of multiplex real-time reverse transcriptase PCR assay for detecting eight medically important flaviviruses in mosquitoes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 584-589, 2007.

CHRISTOPHERS, S. R. *Aedes aegypti* (L): the yellow fever mosquito. London: Cambridge University Press, 1960. 739 p.

COELHO, G. E. *et al.* Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 6, p. 535-539, 2008.

COELHO, G. E. Challenges in the control of *Aedes aegypti*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54, supl. 18, p. 13-14, out. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v54s18/a06v54s18.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2016.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994. 225 p.

COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Distribuição espacial da dengue e determinantes socioeconômicos em localidade urbana no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, n. 3, p. 232-236, 1998.

CRUZ, A. C. R.; VASCONCELOS, P. F. C. Arbovírus no Brasil. **Biológico**, v. 70, n. 2, p. 45-46, jul./dez. 2008. Disponível em: [http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70\\_2/45-46.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v70_2/45-46.pdf). Acesso em: 17 jun. 2016.

DATASUS – 2016. Disponível em: <http://datasus.saude.gov.br/>. Acesso em: 07 jan. 2017.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; VON ZUBEN, A. P. B. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51/pt\\_0034-8910-rsp-S1518-87872017051006889.pdf](http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51/pt_0034-8910-rsp-S1518-87872017051006889.pdf). Acesso em: 20 mar. 2018.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R. Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 1, 283-285, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v18n1/1415-790X-rbepid-18-01-00283.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2018.

DROSTEN, C. *et al.* Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 7, p. 2323-2330, 2002.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL - ECDC. **Rapid risk assessment: zika virus infection outbreak, French Polynesia**. Stockholm: ECDC, 2014. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/maio/22/Zika-virus-French-Polynesia-rapid-risk-assessment.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2018.

EIRAS, A. E. **Armadilha para captura de mosquitos**. Patente: privilégio e inovação. N. PI0203907-9. Depósito: 05 set. 2002.

ESHOO, M. W. *et al.* Direct broad-range detection of alphaviruses in mosquito extracts. **Virology**, v. 368, n. 2, p. 286-295, 2007.

FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. Zika virus in the Americas: yet another arbovirus threat. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 7, p. 601-604, 2016.

FÁVARO, E. A. *et al.* Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTraps™ in Mirassol, São Paulo, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 31, n. 2, p. 285-291, 2006.

FÁVARO, E. A. *et al.* Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in São Paulo, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 33, n. 1, p. 8-16, 2008.

FERNÁNDES, Z.; FORATTINI, O. P. Sobrevivência de populações de *Aedes albopictus*: idade fisiológica e história reprodutiva. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 3, p. 285-291, 2003.

FOCKS, D. A.; BRENNER, R. J.; HAYES, J.; DANIELS, E. Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, n. 1, p. 11-18, 2000.

FORATTINI, O. P. **Ecologia epidemiologia e sociedade**. São Paulo: Artes Médicas, 1992.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ. **Nota Técnica nº 3/2014/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA**. versão 1, 22 de maio de 2014. Nota Técnica em que o Instituto Oswaldo Cruz realiza recomendação para utilização de armadilhas como ferramentas alternativas para estimativa de infestação por *Aedes aegypti*. [...]. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2014. Disponível em: [http://www.fiocruz.br/ioc/media/nota\\_tecnica\\_ioc\\_3.pdf](http://www.fiocruz.br/ioc/media/nota_tecnica_ioc_3.pdf). Acesso em: 20 mar. 2018.

GOMES, A. C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 7, n. 3, p. 49-57, 1998.

GOMES, A. C.; MARQUES, G. R. A. M. Encontro de criadouro natural de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 245, 1988.

GOMES, A. F. **Análise espacial e temporal da relação entre dengue e variáveis meteorológicas na cidade do Rio de Janeiro no período de 2001 a 2009**. 2011. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

GONÇALVES, C. M. **Diferenças na variação da competência vetorial entre nove populações de *Aedes aegypti* do município de Belo Horizonte, Minas Gerais, ao Dengue vírus 2**. 2014. 81 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2014.

GRATZ, N. G. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 3, p. 215-227, 2004.

GUBLER, D. J. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. **Emerging Infectious Diseases**, v. 4, n. 3, p. 442-449, 1997.

GUBLER, D. J.; KUNO, G. (ed.). **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. London: CAB International, 1997. 478 p.

HALSTEAD, S. B. Dengue virus: mosquito interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 273-291, 2008.

HAWLEY, W. A. The biology of *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 4, suppl. 1, p. 1-40, 1988.

HENRIQUES, C. M. P.; DUARTE, E.; GARCIA, L. P. Desafios para o enfrentamento da epidemia de microcefalia. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 1, p. 7-10, jan./mar. 2016.

HOECK, P. A. E. *et al.* Population and parity levels of *Aedes aegypti* collect in Tucson. **Journal of Vector Ecology**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2003.

HONÓRIO, N. A. *et al.* Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1001-1014, 2009b.

HONÓRIO, N. A. *et al.* Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v, 3, n. 11, p. e545,2009a.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Centro de Documentação e Disseminação de Informações. **Base de informações do censo demográfico 2010**: resultados do universo por setor censitário. [S. l.]: IBGE, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Banco de Dados das Estações Meteorológica - INMET/BDMEP. Convencionais. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>. Acesso em: 2016 e 2017.

JÖST, H. *et al.* Isolation and Phylogenetic Analysis of Sindbis Viruses from Mosquitoes in Germany. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 5, p. 1900-1903, 2010.

JUGLEN, S.; DROSTEN, C. Virus discovery and recent insights into virus diversity in arthropods. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, p. 1-7, 2013.

KRÖCKEL, U. *et al.* New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 2, p. 229-238, 2006.

LIMA-CAMARA, T.; HONÓRIO, N. A.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência e distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera> Culicidae) em distintos ambientes no Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 10, p. 2079-2084, 2006.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. *et al.* Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 6, p. 799-800, Sept. 2002.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Rio de Janeiro against *Aedes aegypti*: yellow fever in 1908 and dengue in 2008 - Editorial. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 7.

MACIEL-DE-FREITAS, R.; EIRAS, A. E.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 321-325, 2006.

MARQUES, G. R. A. M.; SANTOS, R. C.; FORATTINI, O. P. *Aedes albopictus* em bromélias de ambiente antrópico no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 243-248, 2001.

MATYSIAK, A.; ROESS, A. Interrelationship between climatic, ecologic, social, and cultural determinants affecting dengue emergence and transmission in Puerto Rico and their implications for Zika response. **Journal of Tropical Medicine**, 2017, Article 8947067.

MEDRONHO, R. A. **Geoprocessamento e saúde**: uma nova abordagem do espaço no processo saúde doença. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1995.

MONATH, T. P. Yellow fever. In: MONATH, T. P. (ed.). **The arboviruses**: epidemiology and ecology. Boca Raton, FL: CRC Pres, 1988. v. 5, p. 139-231.

- MOURÃO, M. P. G. *et al.* Mayaro fever in the city of Manaus, Brazil, 2007-2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 42-46, 2012. DOI <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0669>.
- NOGUEIRA, R. M. R. *et al.* Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 925-926, 2001.
- NOGUEIRA, R. M. R. *et al.* Dengue in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 1986-1998. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 3, 1999.
- OSANAI, C. H. *et al.* Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 25, n. 1, p. 53-53, jan./fev. 1983.
- PEPIN, K. M. *et al.* Cost-effectiveness of novel system of mosquito surveillance and control, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 41, 2013.
- PIALOUX, G. *et al.* Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. **Lancet Infectious Disease**, v. 7, n. 5, p. 319-327, 2007.
- PILGER, D. *et al.* Is routine dengue vector surveillance in central Brasil able to accurately monitor the *Aedes aegypti* population? Results from a pupal productivity survey. **Tropical Medicine and International Health**, v. 16, n. 9, p. 1143-50, 2011.
- PONLAWAT, A.; HARRINGTON, L. C. Blood feeding patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 844-849, 2005.
- RAZA, F. A. *et al.* Dengue seroprevalence and its socioeconomic determinants in Faisalabad, Pakistan: a cross-sectional study. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 4, p. 503-507, Aug. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v51n4/1678-9849-rsbmt-51-04-503.pdf> . Acesso em: 08 set. 2018.
- RESENDE, M. C.; SILVA, I. M.; EIRAS, A. E. Avaliação da operacionalidade da armadilha MosquiTRAP no monitoramento de *Aedes aegypti*. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 19, n. 4, p. 329-338, 2010.
- RIBEIRO, M. S. **Análise comparativa entre as metodologias de monitoramento da infestação do *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera:Culicidae) associadas à transmissão de dengue nos municípios de Itaboraí e Guapimirim, Rio de Janeiro.** 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.
- RIO DE JANEIRO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro - SES-RJ. Situação epidemiológica da dengue, chikungunya e zika no Estado RJ. **Boletim Epidemiológico**, n. 001, 2017.
- RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. *In*: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (ed.). **Dengue and Dengue hemorrhagic fever**. New York: CAB Intern, 1997. p. 45-60.
- RODRIGUEZ, M. R.; RIOS, M. D.; GUTIERREZ, A. Y. *Aedes albopictus* y sus sitios de cría en la provincia de Limón, Costa Rica. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 65, n. 3, sept. 2013.

SCHATZMAYR, H. G. Dengue situation in Brazil by year 2000. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, supl. 1, p. 179-181, 2000.

SCHATZMAYR, H. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 2, p. 245-246, 1986.

SCOTT, T. W. *et al.* Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 94-99, 1993.

SCOTT, T. W. *et al.* Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: populations dynamics. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 1, p. 77-88, 2000.

SIQUEIRA, J. B. *et al.* Household survey of dengue infection in central Brazil: spatial point pattern analysis and risk factors assessment. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 5, p. 646-651, 2004.

SIVAGNANAME, N.; GUNASEKARAN, K. Need for an efficient adult trap for the surveillance of dengue vectors. **Indian Journal of Medical Research**, v. 136, n. 5, p. 739-749, 2012.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, supl. 1, p. 99-102, 2001.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle da dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867-871, jun. 2002. Disponível em: [scielo.br/pdf/csp/v18n3/9314.pdf](http://scielo.br/pdf/csp/v18n3/9314.pdf). Acesso em: 23 fev. 2019.

TEIXEIRA, M. G. *et al.* Dynamics of dengue vírus circulation: a silente epidemic in a complex urban área. **Tropical Medicine & International Health**, v. 7, n. 9, p. 757-762, 2002.

TEIXEIRA, T. R. A.; MEDRONHO, R. A. Indicadores sócio-demográficos e a epidemia de dengue em 2002 no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2160-2170, 2008.

TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. *et al.* Dengue. In: LEÃO, R. N. Q. (ed.). **Doenças infecciosas e parasitárias, enfoque amazônico**. Belém: CEJUP Press, 1997. p. 227-241.

TUN-LIN, W. *et al.* Critical examination of *Aedes aegypti* indices: correlations with abundance. **American Journal of Tropical Medicine and Higiene**, v. 54, n. 5, p. 543-547, 1996.

VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; CUNHA, R. V. **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2015. 460 p. VASCONCELOS, P. F.C. *et al.* Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche nos Estados do Maranhão e Goiás, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 31, n. 4, p. 271-278, jul./ago. 1989.

VEGA-RÚA, A. *et al.* High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of chikungunya virus. **Journal of Virology**, v. 88, n. 11, p. 6294-6306, 2014.

VIANA, D. V.; IGNOTTI, E. A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 16, n. 2, p. 240-256, jun. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v16n2/1415-790X-rbepid-16-02-00240.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2019.

WEAVER, S. C. Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 6, p. e2921, 2014. DOI10.1371/journal.pntd.0002921.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.10.008>.

WERMELINGER, E. D.; FERREIRA, A. P. Métodos de controle de insetos vetores: um estudo das classificações. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 4, n. 3, p. 49-54, set. 2013. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v4n3/v4n3a07.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Comprehensive guidelines for prevention and control of dengue**. [S. l.]: WHO, 2011, Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204894/1/B4751.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control**. Organização Mundial da Saúde. Genebra: WHO, 1997.

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

ZARA, A. L. S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, jun. 2016. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v25n2/2237-9622-ess-25-02-00391.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2018.

ZEIDLER, J. D.; ACOSTA, P. O. A.; BARRÊTO, P. P.; CORDEIRO, J. S. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 6, p. 986-991, 2008.

ZHANG, X. *et al.* Discovery and high prevalence of Phasi Charoen-like virus in field-captured *Aedes aegypti* in South China. **Virology**, v. 523, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682215004663?via%3Dihub>. Acesso em: 08 jun. 2018.