



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Maisa Carla Pereira Parra

**Investigação da circulação dos vírus Chikungunya,
Dengue, Febre Amarela e Zika em mosquitos
Aedes, através das ferramentas de análise espacial
associadas às técnicas moleculares**

São José do Rio Preto
2020

Maisa Carla Pereira Parra

**Investigação da circulação dos vírus Chikungunya,
Dengue, Febre Amarela e Zika em mosquitos
Aedes, através das ferramentas de análise espacial
associadas às técnicas moleculares**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio
Preto para a obtenção do Título
de Doutora no Curso de Pós-
Graduação em Ciências da
Saúde, Eixo Temático: Medicina
e Ciências Correlatas.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Lacerda Nogueira

São José do Rio Preto
2020

Parra, Maisa Carla Pereira

Investigação da circulação dos vírus Chikungunya, Dengue, Febre Amarela e Zika em mosquitos *Aedes*, através das ferramentas de análise espacial associadas às técnicas moleculares/Maisa Carla Pereira Parra.

São José do Rio Preto, 2020.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Lacerda Nogueira

1. Arbovírus 2. *Aedes Aegypti* 3. Epidemiologia. 4. Vigilância Entomológica.

Maisa Carla Pereira Parra

**Investigação da circulação dos vírus Chikungunya,
Dengue, Febre Amarela e Zika em mosquitos
Aedes, através das ferramentas de análise espacial
associadas às técnicas moleculares**

**BANCA EXAMINADORA
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE DOUTORA**

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Mauricio Lacerda
Nogueira

2º Examinador: Profa. Dra. Margareth Regina Dibo

3º Examinador: Profa. Dra. Mariana Sequetin Cunha

4º Examinador: Profa. Dra. Carolina Colombeli

Pacca Mazaro

5º Examinador: Prof. Dr. Adriano Pinter dos Santos

Suplentes: Profa. Dra. Milene Rocha Ribeiro e

Profa. Dra. Tauyne Menegaldo Ramiro

São José do Rio Preto, 17/11/2020.

Sumário

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Epígrafe	iv
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	viii
Lista de Abreviaturas e Símbolos	x
Resumo	xii
Abstract	xiv
1. Introdução	1
1.1 Objetivo Geral	9
1.2 Objetivos Específicos	10
2. Materiais e Métodos	11
3. Resultados	33
4. Discussão	90
5. Conclusões	101
6. Referências	104
7. Apêndices	120
8. Anexos	128

Dedicatória

Ao meu amor à primeira vista, àquela
que seu sorriso alegra meus dias, à
minha filha Maria Vitória; dedico.

Agradecimentos

“Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e para meu crescimento como pessoa. Sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.” Augusto Branco

- Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me concedido o dom da vida, sem o qual não seria possível realizar este trabalho. E por ter me mostrado que sempre está ao meu lado em todos os momentos.
- Agradeço, á meu grande exemplo, meu orientador Prof. Dr. Mauricio Lacerda Nogueira, por ter me dado a oportunidade de estar realizando este trabalho. Por ter aberto as portas do seu laboratório, dando-me a oportunidade de realizar esta pesquisa. Também por ter me ajudado a ampliar os horizontes do conhecimento. Não me esquecerei jamais de seus ensinamentos, conselhos e sua imensurável confiança em meu trabalho, foi uma honra tê-lo como orientador, MUITO OBRIGADA!!!!
- Ao Prof. Dr. Francisco Chiaravalloti-Neto, por ter apostado em mim, por ter me ajudado a alcançar conhecimentos que jamais almejei aprender. MUITO OBRIGADA!!! Principalmente por toda a paciência e dedicação que você teve comigo; asseguro não foi fácil.
- A todos os membros do Laboratório de Virologia LPV/FAMERP: Alice, Ana Carolina, Andressa, Beatriz, Bruno, Cassia, Eliane, Fernanda, Flora, Gislaine, Karina, Leonardo, Mânlio, Marilia, Milene, Natalia, Nathalia, Rafael, Taiza, Tatiana, Tauyne. Meus colegas de trabalho diário. Meu muito OBRIGADA por toda ajuda e cooperação para a realização deste estudo.
- Aos membros do Laboratório de Vetores SUCEN/FAMERP que realizaram todo o trabalho de campo e também a identificação dos mosquitos. Gostaria de deixar um

agradecimento especial ao Nivaldo e ao Nunes, por coordenarem os trabalhos das equipes de campo, a Beatriz por todo empenho na separação e identificação dos mosquitos coletados e ao Marcelo por toda ajuda com a produção dos bancos de dados primários.

- À FAPESP que concedeu auxílio financeiro, sem qual este trabalho não poderia ter sido realizado.
- À Fundação Butantan pela concessão de bolsa de estudos, no decorrer deste estudo.
- A Secretária de Saúde do Município de São José do Rio Preto pelo envio dos bancos de dados com as informações relativas as notificações suspeitas dos arbovírus estudados aqui. Aqui gostaria de agradecer a Andreia Negri pela ajuda para a obtenção destes bancos de dados.
- À minha família por todo afeto, carinho e paciência durante todo percurso. Esta conquista também pertence a vocês. OBRIGADA!!!
- Ao meu marido por toda paciência e incentivo, agradeço principalmente por toda ajuda durante a fase de escrita da tese.
- Aos meus amigos que durante este período, estiveram por perto para me encorajar a seguir em frente, mesmo nos momentos de dificuldade.
- Deixo aqui um agradecimento especial a todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram a conseguir almejar este título em minha carreira acadêmica.
- Gostaria de agradecer de modo especial a todos os professores que passaram pela minha vida, que me mostraram que os estudos são a melhor opção na vida de uma pessoa.

FOI GRAÇAS A TODO INCENTIVO QUE RECEBI DURANTE ESTES ANOS QUE HOJE POSSO CELEBRAR ESTE MARCO EM MINHA VIDA. UM AGRADECIMENTO A TODOS VOCÊS!!!!!!!!!!

Epígrafe

“Não importa quanto a vida possa ser ruim, sempre existe algo que você pode fazer, e triunfar. Enquanto há vida, há esperança. ”

Stephen Hawking

“I would just like to take this moment to say to all the young girls out there who dream about science as a profession: Go for it. It is the greatest job in the world. And if anybody tells you can't, don't listen.”

“Eu gostaria de aproveitar este momento para dizer a todas as garotas por aí que sonham em ter as ciências como profissão: Sigam em frente. É o melhor trabalho do mundo. E se alguém lhes disser que você não pode, não escute. ”

Amy Farrah-Fowler - Big Bang Theory

Lista de Figuras

- Figura 1:** Informações epidemiológicas de chikungunya, dengue, zika e febre amarela no município de SJRP entre os anos de 2015 e 2020. **13**
- Figura 2:** Imagem de Satélite do bairro Vila Toninho - São José do Rio Preto - São Paulo - Brasil. **14**
- Figura 3:** Geocodificação dos endereços das residências selecionadas para a instalação das armadilhas e coleta dos mosquitos adultos. **15**
- Figura 4:** Armadilha do tipo BG- Mosquitito™ e seus componentes. **16**
- Figura 5:** Esquema das atividades realizadas para identificação e estocagem dos espécimes coletados durante o estudo. **17**
- Figura 6:** Mapa temático com a geolocalização das casas inspecionadas para a realização dos indicadores entomológicos de formas imaturas (IB, IP e IR), durante o mês de agosto/2019 Vila Toninho, SJRP. **18**
- Figura 7:** Distribuição temporal dos culicídeos coletados durante o estudo na Vila Toninho, SJRP, separados por espécie e por ano de coleta. **35**
- Figura 8:** ANO 1 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o primeiro ano do estudo (2015/16). **36**
- Figura 9:** ANO 2 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o segundo ano do estudo (2016/17). **37**
- Figura 10:** ANO 3 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o terceiro ano do estudo (2017/18). **38**
- Figura 11:** ANO 4 - Infestação Vetorial de Mosquitos Adultos durante o quarto ano do estudo (2018/19). **39**

Figura 12: ANO 1 - Infestação Vetorial de larvas durante o primeiro ano do estudo (2015/2016).	42
Figura 13: ANO 2 - Infestação Vetorial de larvas durante o segundo ano do estudo (2016/2017).	43
Figura 14: ANO 3 - Infestação Vetorial de larvas durante o terceiro ano do estudo (2017/2018).	44
Figura 15: ANO 4 - Infestação Vetorial de larvas durante o quarto ano do estudo (2018/2019).	45
Figura 16: Resultados dos Indicadores Entomológicos mensais, índice Naf e índices estegômicos, trabalhados durante o estudo.	48
Figura 17: Variações climáticas do município de SJRP, entre os anos de 2015 e 2019, obtidas do site CIIAGRO online.	49
Figura 18: Correlação entre as variáveis climáticas e IB, Vila Toninho SJRP.	50
Figura 19: Correlação entre as variáveis climáticas e o IP, Vila Toninho SJRP.	50
Figura 20: Correlação entre as variáveis climáticas e o Naf Global, Vila Toninho, SJRP.	51
Figura 21: Relação entre as variáveis climáticas e os indicadores entomológicos, no bairro Vila Toninho, SJRP, entre Outubro/2015 e Fevereiro/2019.	52
Figura 22: Mapa temático dos verões, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP.	53
Figura 23: Mapa temático dos outonos, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP.	54
Figura 24: Mapa temático dos invernos, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP.	54

- Figura 25:** Mapa temático das primaveras, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP. 55
- Figura 26:** Mapa Temático dos mosquitos positivos para CHIKV, Vila Toninho, SJRP. 62
- Figura 27:** Casos de Suspeitos e Confirmados de Dengue, notificados na Vila Toninho, SJRP entre 2015 e 2017. 67
- Figura 28:** Mapa Temático mosquitos positivos para DENV (1-4), Vila Toninho, SJRP. 68
- Figura 29:** Resultados obtidos pela técnica de imunofluorescência realizada nas amostras positivas para febre amarela nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP. 73
- Figura 30:** Gel de Agarose 1% com o resultado do PCR para diferenciação entre a cepa vacinal e a cepa silvestre para YFV. 74
- Figura 31:** Mapa Temático mosquitos positivos para YFV, Vila Toninho, SJRP. 75
- Figura 32:** Mosquitos positivos e casos suspeitos e confirmados de ZIKV, notificados na Vila Toninho, SJRP, entre 2016 e 2017. 79
- Figura 33:** Mapa Temático mosquitos positivos para ZIKV (2015/2017) Vila Toninho, SJRP. 81
- Figura 34:** Mapa Temático mosquitos positivos para ZIKV (2017/2018) Vila Toninho, SJRP. 82
- Figura 35:** Mapa Temático da dispersão viral dos arbovírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV na Vila Toninho, SJRP. 86

Lista de Tabelas

Tabela 1: Quantidade e porcentagem de mosquitos coletados durante o estudo, separados por espécie e sexo.	34
Tabela 2: Valores mensais do Índice Naf Global obtidos durante o estudo.	40
Tabela 3: Resultados do Índice de Breteau (IB) obtidos durante o estudo.	46
Tabela 4: Resultados do Índice Predial (IP) obtidos durante o estudo.	47
Tabela 5: Quantidade de vezes que cada um dos tipos de recipientes foi encontrado durante o estudo.	47
Tabela 6: Médias posteriores dos efeitos fixos exponenciados para o IB e IP.	55
Tabela 7: Diferença de custo operacional para a realização dos trabalhos de campo no estudo, para a obtenção dos indicadores entomológicos, tanto o índice Naf quanto os índices estegômicos.	56
Tabela 8: Porcentagem de <i>pools</i> positivos para os vírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV em mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP.	58
Tabela 9: Quantidade de <i>pools</i> de fêmeas (♀) e machos (♂) positivos para cada um dos vírus estudados e suas respectivas porcentagem de positividade.	59
Tabela 10: Amostras positivas para CHIKV provenientes das amostras de mosquitos do gênero <i>Aedes</i> coletados na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2018.	60
Tabela 11: Taxa de infecção (MIR) para CHIKV em mosquitos <i>Ae. aegypti</i> durante o período do estudo.	64
Tabela 12: Taxa de infecção (MIR) para DENV 1-4 em mosquitos <i>Ae. aegypti</i> durante o período do estudo.	70

Tabela 13: Sequências obtidas pelo método de Sanger, a partir das amostras 452, 686, 688, 690, 693 e 712 positivas para YFV, oriundas de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> coletados na Vila Toninho, SJRP, entre 2015 e 2018.	71
Tabela 14: Taxa de infecção (MIR) para YFV em mosquitos <i>Ae. aegypti</i> durante o período do estudo	76
Tabela 15: Cts obtidos do PCR em tempo real classificando as amostras como positivas para ZIKV.	78
Tabela 16: Taxa de infecção para ZIKV em mosquitos <i>Ae. aegypti</i> durante o período do estudo	83
Tabela 17: Amostras positivas para mais de um vírus, possível co-infecção viral nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP, entre os anos de 2015 e 2018.	85
Tabela 18: Casos notificados de CHIKV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.	87
Tabela 19: Casos notificados de DENV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.	88
Tabela 20: Casos notificados de ZIKV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.	88
Apêndice 1: Quantidade de mosquitos coletados mensalmente nas coletas realizadas na Vila Toninho, SJRP durante o período do estudo.	121
Apêndice 2: Valores do Naf Global, Desvio Padrão, Intervalo de Confiança obtidos entre os anos de 2015 e 2019.	122
Apêndice 3: Apêndice 3: Resultados do Índice de Recipientes obtidos durante o estudo.	123
Apêndice 4: Amostras de mosquitos, coletados na Vila Toninho, SJRP, positivas para um dos arbovírus pesquisados.	124

Lista de Abreviaturas e Símbolos

<i>Ae</i>	<i>Aedes</i>
BSQV	Bussaquara vírus
CHIKV	Chikungunya vírus
CPCV	Cacipacoré vírus
Ct	Cycle threshold
DENV	Dengue vírus
DENV1	Dengue vírus sorotipo 1
DENV2	Dengue vírus sorotipo 2
DENV3	Dengue vírus sorotipo 3
DENV4	Dengue vírus sorotipo 4
GIS	Geographical Information System - Sistema de Informação Geográfica
GPS	Global Positioning System - Sistema de Posicionamento Global
IB	Índice de Breteau
IDHM	Índice de Desenvolvimento Humano Municipal
ILHV	Ilhéus vírus
IP	Índice Predial
IR	Índice de Recipientes
LPV	Laboratório de Virologia
MAYV	Mayaro vírus
MIR	Minimum Infection Rate - Taxa de Infecção mínima
MS	Ministério da Saúde do Brasil
NAF	Número de <i>Aedes aegypti</i> fêmeas
NS	Non-Structural Protein (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)
OMS	Organização Mundial de Saúde

OROV	Oropouche vírus
RNA	Ácido ribonucleico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SJRP	São José do Rio Preto
SLEV	Vírus da Encefalite de São Luis
T1 A T14	Tipo de Recipiente do 1 ao 14
UBSF	Unidade Básica de Saúde da Família
UPA	Unidade de Pronto Atendimento
WNV	Vírus da Febre do Oeste do Nilo
YFV	Vírus da Febre Amarela
ZIKV	Zika vírus
♀	Fêmea
♂	Macho

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os arbovírus causam anualmente milhares de casos ao redor do mundo e por este motivo, são considerados um importante problema de saúde pública. Dentre eles, podemos destacar Chikungunya (família *Togaviridae* e gênero *Alphavirus*) e Febre Amarela, Dengue e Zika (família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*). Ambos transmitidos ao homem através da picada da fêmea de mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A identificação dos locais com altos índices de infestação vetorial e/ou com alta incidência de casos das doenças é de suma importância para medidas de controle eficazes. A associação entre técnicas de análise espacial, técnicas de biologia molecular para identificação da circulação viral tanto em humanos quanto em seus vetores e a ocorrência de doenças infecciosas são importantes ferramentas de controle destes patógenos. **OBJETIVOS:** O objetivo deste estudo foi o emprego de ferramentas de análise espacial associadas a estudos entomológicos e epidemiológicos que forneçam importantes informações sobre a circulação viral em uma localidade, direcionando os trabalhos de equipes de campo para áreas mais críticas, gerando ações de controle eficazes. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Para a realização deste estudo, fizemos um levantamento larvário e coleta de mosquitos adultos para o cálculo dos indicadores entomológicos no bairro Vila Toninho, SJRP. E o levantamento dos casos de destas arboviroses no bairro, utilizando-se de dados secundários obtidos junto a Secretária de Saúde do município. Os *pools* (amostras) de mosquitos adultos foram identificados e separados por espécie e sexo, contendo no máximo 10 exemplares de mosquitos por tubo (coletados na mesma armadilha e no mesmo dia) que foram analisados por meio das técnicas de biologia molecular para identificação da circulação dos vírus chikungunya, febre amarela, dengue e zika. Todas as informações relativas ao vetor ou aos casos foram geocodificadas e mapas temáticos foram construídos. Informações relativas as variações climáticas foram coletadas do site Ciiagro online. **RESULTADOS:** Foram

coletados 7.960 mosquitos culicídeos, destes 1.795 eram *Ae. aegypti* e 14 *Ae. albopictus*. Um total de 751 *pools* foram analisados através de técnicas de biologia molecular para identificação viral, destes 33,57% foram positivos para um dos quatro vírus estudados, sendo 2,8% positivos para chikungunya, 5,06% positivos para dengue, 1,46% positivos para febre amarela e 14,25% positivos para zika. Os meses mais quentes e úmidos de cada ano apresentaram as maiores porcentagens de amostras positivas, tanto em relação aos casos humanos quanto aos mosquitos. **CONCLUSÃO:** Concluimos que ocorreu uma infestação vetorial por mosquitos *Aedes* no bairro Vila Toninho, SJRP, durante todo o período do estudo, e que encontramos os maiores índices entomológicos entre os meses da primavera e verão, que são os meses mais quentes e úmidos, o que favorece a proliferação vetorial e consequentemente das arboviroses em humanos. Também encontramos a circulação dos vírus chikungunya, dengue, febre amarela e zika em mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Portanto, concluimos que estudos entomológicos que consideram as variáveis climáticas e a investigação da circulação viral de arbovírus em mosquitos e humanos em regiões endêmicas são importantes ferramentas no auxílio as autoridades de saúde na tomada de decisões.

PALAVRAS-CHAVE: Arboviroses, Análise Espacial, Entomologia, Epidemiologia, Controle do Vetor.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Worldwide, arboviruses cause thousands of cases every year and for this reason they are considered an important public health issue. Among them, we can point out Chikungunya (*Togaviridae* family and genus *Alphavirus*) and Yellow Fever, Dengue and Zika (*Flaviviridae* family, genus *Flavivirus*). Both transmitted to the man through the bite of the female *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. The identification of areas with high rates of vector infestation and/or high incidence of disease cases is of the utmost importance for effective control measures. The association between spatial analysis techniques, molecular biology techniques for the identification of viral circulation both in humans and their vectors and the occurrence of infectious diseases are important tools for the control of these pathogens. **OBJECTIVES:** The objective of this study was the use of spatial analysis tools associated with entomological and epidemiological studies that can provide important information about the viral circulation in a location, directing the work of field teams to more critical areas, thereby generating effective control actions. **MATERIALS AND METHODS:** For this study, we did a larval survey and collection of adult mosquitoes for the calculation of entomological indicators in Vila Toninho neighborhood, SJRP. And the survey of the cases of these arboviruses in the neighborhood, using secondary data obtained from the Municipal Health Secretary. The pools (samples) of adult mosquitoes were identified and separated by species and sex, containing a maximum of 10 mosquitoes per tube (collected in the same trap and on the same day) that were analyzed using molecular biology techniques to identify the circulation of Chikungunya, Yellow Fever, Dengue and Zika viruses. All vector or case information was geocoded and thematic maps were constructed. Information regarding climatic variations has been collected from Ciiagro online site. **RESULTS:** A total of 7,960 Culicidae mosquitoes were collected, from these 1,795 were *Ae. aegypti* and 14 *Ae. albopictus*. A total of 751 pools were analyzed using molecular biology techniques for viral

identification; of these 33.57% were positive for one of the four viruses studied, being 2.8% positive for Chikungunya; 5.06% positive for Dengue; 1.46% positive for Yellow Fever and 14.25% positive for Zika. The hottest and wettest months of each year showed the highest percentages of positive samples, both for human and for mosquitoes' cases as well.

CONCLUSION: We concluded that a vectorial infestation by *Aedes* mosquitoes occurred in Vila Toninho, SJRP, throughout the study period, and that we have found the highest entomological rates between the spring and summer months, which are the hottest and wettest months, which favors the vectorial proliferation and consequently of arboviruses in humans. We also found the circulation of chikungunya, dengue, yellow fever and zika viruses in *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes. Therefore, we concluded that entomological studies that consider the climatic variables and the investigation of the viral circulation of arboviruses in mosquitoes and humans in endemic regions are important tools in supporting health authorities in decision-making. **Conclusion:** We concluded that a vectorial infestation by *Aedes* mosquitoes occurred in Vila Toninho, SJRP, throughout the study period, and that we have found the highest entomological rates between the spring and summer months, which are the hottest and wettest months, which favors the vectorial proliferation and consequently of arboviruses in humans. We have also found the circulation of Chikungunya, Dengue, Yellow Fever and Zika viruses in *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes. Therefore, we concluded that entomological studies that consider the climatic variables and the investigation of the viral circulation of arboviruses in both mosquitoes and humans in endemic regions are important tools in supporting health authorities in decision-making.

KEYWORDS: Arboviruses, Spatial Analysis, Entomology, Epidemiology, Vector Control.

1. INTRODUÇÃO

Alphavirus e *Flavivirus* são arbovírus causadores de inúmeras doenças. São os responsáveis por um número expressivo de notificações de morbimortalidade, não apenas em regiões de clima tropical e subtropical, mas também em regiões de clima temperado como a Europa. ⁽¹⁻⁵⁾ Estes arbovírus são transmitidos ao homem através de vetores artrópodes, principalmente, mosquitos e carrapatos. ⁽⁶⁾ São sustentados na natureza, por meio de reservatórios, frequentemente aves e roedores. Os homens, normalmente, aparecem no ciclo de transmissão, como hospedeiros acidentais. ⁽⁶⁾

Em termos de saúde pública, estes arbovírus, são os responsáveis por doenças, tais como: Chikungunya (CHIKV), Dengue (DENV), Febre Amarela (YFV), Zika (ZIKV), Mayaro (MAYV), Encefalite de São Luis (SLEV), Febre do Oeste do Nilo (WNV), Bussuquara (BSQV), Ilhéus (ILHV), Oropouche (OROV) e Cacipacore (CPCV). ^(3,7-13)

O Chikungunya vírus (CHIKV) é um *Alphavirus* (família *Togaviridae*), transmitido ao homem através da picada da fêmea de mosquitos do gênero *Aedes* (*Ae.*), principalmente, pelo *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*. ⁽¹⁴⁾ É um vírus de RNA de fita simples com polaridade positiva (~12 kb); é codificado por quatro proteínas não estruturais (nsP1-4) e cinco estruturais (C, E1, E2, E3 e 6K). ^(14,15)

Apresenta-se como uma doença febril aguda, com artrites e artroses associadas; foi identificada pela primeira vez na Tanzânia, em 1950. ⁽¹⁶⁾ O período de incubação é de 2 - 4 dias após a picada, persistindo os sintomas de 3-7 dias, podendo apresentar artralgia prolongada por meses ou até anos. Infecções assintomáticas variam de 3 – 25% dos casos. ^(15,16)

Até o ano de 2005, o CHIKV era pouco estudado e conhecido, devido à sua dispersão restrita às partes da África e Ásia, com epidemias esporádicas. Desde o ano de

2004, ele começou a se espalhar por regiões do Quênia e para Ilhas do Oceano Índico e em meados de 2014 ocorreu à sua dispersão mundial, podendo hoje, ser encontrado em países dos cinco continentes. ^(5,14,17) No ano de 2013 ocorreu a disseminação do vírus pelas Ilhas do Caribe, seguida pela sua dispersão entre as Américas Central e do Sul, com ciclos Homem/*Ae.*/Homem. ^(14,17) Associados a isto, fatores ambientais como o aquecimento global provocado pela queima de combustíveis fósseis e atividades humanas desordenadas que levam a degradação ambiental são cruciais para a disseminação não só do vírus como também dos vetores. ^(4, 17)

De acordo com dados do Ministério da Saúde (MS), ⁽²⁴⁾ foram notificados, entre 2015 e 2019, mais de 765 mil casos de Chikungunya no país e 523 óbitos. O ano de 2016, foi o ano com o maior número de notificações; 277 mil casos notificados. No mesmo período o estado de São Paulo registrou mais de 20 mil casos notificados de Chikungunya e o município de São José do Rio Preto (SJRP) notificou 391 casos da doença. ⁽¹⁸⁾

O Dengue vírus é um *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae*, subdividido em quatro sorotipos (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) distintos entre si. ^(19,20,21) É um vírus de RNA de fita simples de polaridade positiva (~10 kb), seu genoma possui uma única fase de leitura aberta (ORF), a qual codifica uma poliproteína precursora que é clivada em dez proteínas, sendo três estruturais (C, prM e E) e sete não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5). ^(19,20,21)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), desde de 2009, a doença é classificada como dengue, dengue com sinais de alerta e dengue grave. Seu primeiro sintoma é febre alta de início abrupto, que persiste de dois a sete dias, acompanhada de náuseas, exantema, mialgia, artralgia, cefaleia, dor retroorbital, petequias e leucopenia. Com

a melhora do quadro febril pode ocorrer o aumento da permeabilidade capilar, em paralelo com o aumento dos níveis de hematócrito, marcando o início de uma fase mais grave. É conhecida como dengue com sinais de alerta, na qual o paciente apresenta um ou mais dos seguintes sintomas: dor abdominal intensa, vômitos persistentes, acumulação de líquidos, sangramento de mucosas, letargia ou irritabilidade. Quando estes sintomas se agravam o paciente evolui para o dengue grave que leva ao extravasamento grave do plasma evidenciando taquicardia, extremidades frias e tempo de enchimento capilar igual ou superior a três segundos e sangramento grave comprometendo os órgãos. ^(22, 23)

A dengue é uma doença viral aguda com ampla distribuição mundial, aproximadamente, 390 milhões de infecções são causadas anualmente, com cerca de 500 mil casos graves. Em 2005, durante a Assembleia Mundial de Saúde, a dengue foi incluída entre os maiores problemas de saúde pública do mundo, devido à sua expansão e incidência. ⁽²²⁾

No Brasil, de acordo com o MS, a dengue ocasionou, entre os anos de 2015 e 2019, mais de cinco milhões de casos notificados da doença. ⁽²⁴⁾ Neste mesmo período, o estado de São Paulo, notificou mais de dois milhões de casos suspeitos de dengue. ⁽¹⁸⁾

São José do Rio Preto notificou seu primeiro caso autóctone de dengue, em 1990, com a introdução do sorotipo DENV1. Os sorotipos DENV2 e DENV3 foram introduzidos no município em 1998 e 2005, respectivamente. Já o sorotipo DENV4 foi introduzido no ano de 2011. Entre os anos de 2015 e 2019, o município de SJRP registrou mais de 100 mil notificações de casos suspeitos de dengue; 2019 foi o ano com o maior número de notificações, mais de 42 mil casos notificados. ⁽¹⁸⁾

O Febre Amarela (YFV) é um *Flavivirus* (família *Flaviviridae*; apresenta genoma de aproximadamente 11 kb com RNA de polaridade positiva, composto por 3 proteínas

estruturais (capsídeo, envelope e membrana) e 7 proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5).⁽²⁵⁾

Apresenta-se como uma doença febril aguda, com sintomas iniciais caracterizados como “*flu-like*”, tais como, febre, dor de cabeça e dores pelo corpo. Em hospedeiros humanos pode se apresentar desde casos assintomáticos até como uma febre hemorrágica fatal.^(5,25) É endêmico em regiões da África e da América do Sul. Na África apresenta três ciclos de transmissão: 1) Ciclo Silvático - envolvendo mosquitos *Ae. africanus* e primatas não humanos; 2) Ciclo Intermediário - envolvendo mosquitos *Aedes spp.* e primatas não humanos e moradores de áreas rurais; e 3) Ciclo urbano - envolvendo mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. bromeliae* e moradores de áreas urbanas.⁽²⁵⁾ Na América do Sul, é endêmico na região Amazônica, apresentando somente um ciclo de transmissão, o ciclo silvático, que neste caso envolve mosquitos *Haemagogus* e *Sabethes* e primatas não humanos (PNH).^(25,26) No Brasil não há notificações de febre amarela urbana desde 1942, os casos humanos notificados desde então foram considerados como pertencentes ao ciclo silvático do vírus.^(22, 27)

De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, houve a circulação do YFV em epizootias entre julho e outubro de 2019 e entre os meses de janeiro e fevereiro de 2020. Estes últimos apresentaram a maior concentração de eventos confirmados, essa situação vem de encontro, ao que já acontece desde a re-emergência do YFV silvático no Brasil, em 2014. No estado de São Paulo foram confirmados quatro exemplares de primatas não humanos positivos para YFV, entre os meses de julho/2019 e maio/2020, sinalizando a circulação ativa do vírus no estado.^(18,28)

O Zika vírus (ZIKV) é um *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), isolado pela primeira vez, na Floresta Zika, em Uganda no ano de 1947, em macacos *Rhesus* sentinelas. Em 1948,

foi isolado em mosquitos *Aedes africanus*. Estudos posteriores mostraram a presença de anticorpos específicos para ZIKV em moradores da mesma área onde os mosquitos haviam sido capturados. ^(13,29-32) Inicialmente causou infecções esporádicas em países da África e Ásia, a primeira epidemia ocorreu, em 2007, na Ilha de Yap, Micronésia, seguida de uma grande epidemia na Polinésia Francesa entre os anos de 2013/2014, até que se espalhou pelo Pacífico e chegou nas Américas, em 2015. ^(13,31,33) A rápida dispersão pelo continente Americano deve-se ao fato da ausência de exposição anterior ao vírus e a falta de imunidade da população para o ZIKV. ^(13, 33)

O processo de replicação viral é similar aos demais flavivirus. ⁽³²⁾ O período de incubação viral, até o presente momento ainda não está claro, devendo ser de dois a sete dias; causando normalmente sintomas brandos, tais como: febre baixa, conjuntivite, exantema, dor de cabeça e dores musculares. ^(31,32)

Entre os anos de 2016 e 2019, o MS notificou mais de 250 mil casos suspeitos de ZIKV no Brasil. No estado de São Paulo foram notificados quase 16 mil casos de ZIKV, entre os anos de 2016 e 2019. ^(18,34) SJRP notificou no mesmo período, mais de dois mil casos suspeitos de ZIKV. ⁽¹⁸⁾ Segundo a OMS, 47 países apresentam transmissão vetorial autóctone de ZIKV, sendo que destes, 40 países encontram-se nas Américas, incluindo o Brasil. ⁽²⁹⁾

Ambos os vírus, CHIKV, DENV, YFV e ZIKV são transmitidos ao homem através da picada de fêmeas de mosquitos do gênero *Aedes* infectadas. ⁽¹⁶⁾ O principal vetor para febre amarela (urbana), dengue e zika são as fêmeas do mosquito *Ae. Aegypti*. No caso do Chikungunya o seu principal vetor são as fêmeas do mosquito *Ae. albopictus*, porém ambos podem transmitir os vírus. ^(35, 36) De acordo com Campbell e colaboradores, ⁽³⁵⁾ ambas as

espécies, *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*, poderão coexistir e dividir os mesmos habitats em um futuro próximo, dificultando assim o controle vetorial.

Os mosquitos *Ae. aegypti* podem ser encontrados em todos os estados brasileiros, principalmente, em áreas urbanas, devido ao seu comportamento antropofílico e sinatrópico é encontrado tanto no intra como no peri domicílio; e se reproduz em locais com água parada e limpa, preferencialmente, sem matéria orgânica. ^(22,37,38,39)

Enquanto os mosquitos *Ae. albopictus* foram identificados em vários municípios brasileiros, sempre no peri domicílio e em ambientes naturais ou modificados adjacentes. Com esta distribuição ampla pelo território brasileiro e sendo um dos principais responsáveis pela transmissão do CHIKV em vários países; o Brasil torna-se susceptível para propagação do CHIKV. ⁽²²⁾

O controle do vetor e o monitoramento dos casos suspeitos são as melhores maneiras de conter o avanço destas doenças. Atualmente para o controle do vetor são usadas diferentes metodologias, sendo que as mais empregadas são Índices de Breteau, Predial e de Recipientes, que levam em consideração as formas imaturas dos vetores. No entanto, estas metodologias não são capazes de estimar o risco de ocorrência da doença e nem os índices produtividade de mosquitos adultos em um local, por levarem em consideração somente as formas imaturas do vetor. ⁽⁴⁰⁻⁴³⁾

A utilização de armadilhas de captura de mosquitos adultos é uma alternativa viável para o controle do vetor, pois estas podem gerar informações relevantes sobre a realidade local e são uma alternativa importante, pois ajudam na visualização de áreas com risco aumentado para a ocorrência da doença. ⁽⁴⁴⁾ Estudos realizados para avaliar a eficácia destas

armadilhas mostram que elas são de fácil manipulação, e além disto se mostraram mais eficazes do que aspiradores manuais, e tão eficazes quanto iscas humanas. ⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾

Diferentes autores relacionam as variações climáticas com a ocorrência de epidemias em todo o mundo. No caso do CHIKV, DENV, YFV e ZIKV, o aumento na temperatura influencia diretamente, tanto na reprodução dos seus vetores quanto no período de incubação do vírus, que pode ser encurtado de acordo com as variações climáticas. ^(43,49,50) Donalísio & Glasser ⁽⁵⁰⁾ citam a ocorrência de grandes epidemias de dengue no Sudeste Asiático (1954-58) e nas Américas (1980-90) diretamente relacionadas à estação chuvosa e com temperaturas elevadas. Kobayashi e colaboradores ⁽⁵¹⁾ mostraram o relacionamento entre a expansão do *Ae. albopictus* e o aumento da temperatura anual acima de 11°C. Embora não seja fácil demonstrar a relação entre as variáveis climáticas e a ocorrência de casos, a utilização de programas de sensoriamento remoto, GPS, satélites e sistemas de informação geográfica (GIS) permitem a realização da predição da distribuição geográfica da doença associada às variações climáticas. ⁽⁴³⁾

Análise espacial em Epidemiologia tem por objetivo responder diferentes questões sobre a distribuição dos agentes infecciosos e a sua associação aos fatores ambientais locais. Podemos destacar algumas destas associações: 1) se a distribuição dos casos acontece aleatoriamente ou se existe um padrão de distribuição; 2) se a população tem ação direta ou indireta na disseminação do agente infeccioso; 3) se fatores ambientais estão relacionados na disseminação deste agente; 4) e qual o potencial de risco que este agente pode causar na localidade. ⁽⁵²⁾

O ZIKV está causando epidemias em, praticamente, todo o território Latino-Americano, e até o momento não existem medidas de controle efetivos. Em estudo realizado

no distrito de Tolima, Colômbia, podemos ver o impacto produzido pela alta incidência dos casos de ZIKV. No entanto, estes resultados não são capazes de mostrar detalhes sobre a distribuição geográfica da incidência de ZIKV na localidade. ⁽⁵³⁾ No mesmo estudo, os autores enfatizam a necessidade da utilização de mapas risco para áreas com co-circulação de ZIKV, CHIKV e DENV, pois com mapas de risco pode-se priorizar os trabalhos das autoridades de saúde para medidas de intervenção no controle de uma ou mais epidemias, bem como identificar as áreas de risco para o alerta tanto de moradores quanto de visitantes. ⁽⁵³⁾

Na vigilância do CHIKV, DENV, YFV, e ZIKV, a utilização de ferramentas GIS podem ajudar na identificação de fatores de risco associados à disseminação. Os dados geográficos são usados neste caso para a localização de áreas críticas e também a fatores relacionados à dinâmica de transmissão das doenças. Através destas ferramentas é possível observar a formação de *hotspots* de transmissão e direcionar os trabalhos das equipes de vigilância e controle. No caso do ZIKV, a utilização de ferramentas GIS podem, também, ajudar a elucidar a relação entre a ocorrência da doença e dos casos de microcefalia e/ou outras alterações neurológicas. ⁽⁵⁴⁻⁵⁸⁾

1.1 OBJETIVOS (GERAIS)

O objetivo deste estudo foi uma análise descritiva longitudinal da ocorrência de arbovírus em um bairro do município de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, que forneça importantes informações sobre a circulação viral e facilite a tomada de decisões das autoridades de saúde local, direcionando os trabalhos de suas equipes de campo para áreas mais críticas, gerando ações de controle eficazes.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Realizar a captura, identificação e triagem de mosquitos capturados pelas armadilhas BG-MosquititoTM instaladas em residências da área de estudo;
- ❖ Identificar por meio de técnicas moleculares, a circulação do CHIKV, DENV, YFV e ZIKV em mosquitos;
- ❖ Realizar um estudo espaço-temporal de CHIKV, DENV, YFV e ZIKV;
- ❖ Avaliar a relação entre o indicador entomológico e a ocorrência de casos de CHIKV, DENV, YFV e ZIKV na área;
- ❖ Fazer uma comparação entre o custo operacional para a realização de diferentes indicadores entomológicos, de adultos e de formas imaturas, neste caso - Índice de Breteau (metodologia padrão utilizada pela Vigilância Epidemiológica no Brasil) e Índice Predial;
- ❖ Avaliar a relação temporal entre o número de mosquitos adultos com os índices estegômicos e com variáveis climáticas;
- ❖ Geocodificar os mosquitos adultos levando-se em conta o espaço e tempo;
- ❖ Avaliar a relação, com ajuste para as auto correlações espaciais e temporais, entre o número de mosquitos adultos e os índices estegômicos (índice de Breteau (IB) e índice predial (IP)).

2. MATERIAS E MÉTODOS

✓ **PERÍODO DO ESTUDO**

O estudo foi conduzido entre outubro/2015 e agosto/2019, totalizando 47 meses, devido a sazonalidade do vetor, nós optamos pela divisão do período em quatro anos (ANO 1, ANO 2, ANO 3 e ANO 4), que são descritos a seguir:

- ❖ **ANO 1:** entre outubro/2015 e agosto/2016;
- ❖ **ANO 2:** entre setembro/2016 e agosto/2017;
- ❖ **ANO 3:** entre setembro/2017 e agosto/2018;
- ❖ **ANO 4:** entre setembro/2018 e agosto/2019.

✓ **ÁREA DO ESTUDO**

O projeto foi desenvolvido em uma área urbana do município de São José do Rio Preto (SJRP), que se localiza na região noroeste do estado de São Paulo (20°48'36"S e 49°22'59"W), Brasil; apresentou em 2019 uma população estimada em 460.671 habitantes, IDHM 0,797. ⁽⁵⁹⁾ O município é endêmico para dengue e vive hoje um processo endêmico – epidêmico da doença dividido em dois períodos anuais distintos: o primeiro entre os meses de setembro a dezembro quando ocorre o período de menor incidência com poucas notificações de novos casos de dengue, e o segundo período entre os meses de janeiro a abril quando ocorre o período epidêmico da doença, com um aumento progressivo dos casos. ⁽⁶⁰⁾

De acordo com a Secretária Municipal de Saúde, em 2019, foram notificados 42.960 casos suspeitos de dengue; destes 33.154 foram confirmados e 9.806 descartados, e um total de 19 óbitos causados pela doença. No mesmo ano, foram notificados 119 casos suspeitos de Chikungunya, sendo que destes 114 foram descartados e cinco confirmados. Em relação ao vírus Zika foram notificados, pela Secretária Municipal de Saúde, 522 casos suspeitos, destes cinco foram confirmados e 517 descartados. Não houve registros de óbitos por Chikungunya

ou Zika no município. Com relação aos casos de epizootias encontrados mortos com suspeita de infecção por febre amarela, no ano de 2019 foram encontrados 30 espécimes; destes nenhum foi positivo para a febre amarela. ⁽⁶¹⁾ O quadro abaixo mostra o padrão temporal de distribuição das principais arboviroses no município, durante os últimos cinco anos.



Figura 1: Informações epidemiológicas de Chikungunya, Dengue, Zika e Febre Amarela no município de SJRP entre os anos de 2015 e 2020.

O bairro selecionado para a realização deste estudo foi a Vila Toninho, que está localizado na porção sudeste do município de São José do Rio Preto – SP (SJRP); possui uma população estimada de 8.700 moradores, com faixa etária de 25 a 59 anos. ⁽⁵⁹⁾ É circundado por um lado pela Rodovia Estadual Washington Luís - SP-310 e por outro lado pelo Córrego dos Macacos. Nele está localizado no distrito de saúde IV, na área de abrangência da Unidade

Básica de Saúde da Família (UBSF) Vila Toninho – “Dr. Gilberto Lopes da Silva”, tendo também como referência o serviço da Unidade de Pronto Atendimento (UPA) Vila Toninho.



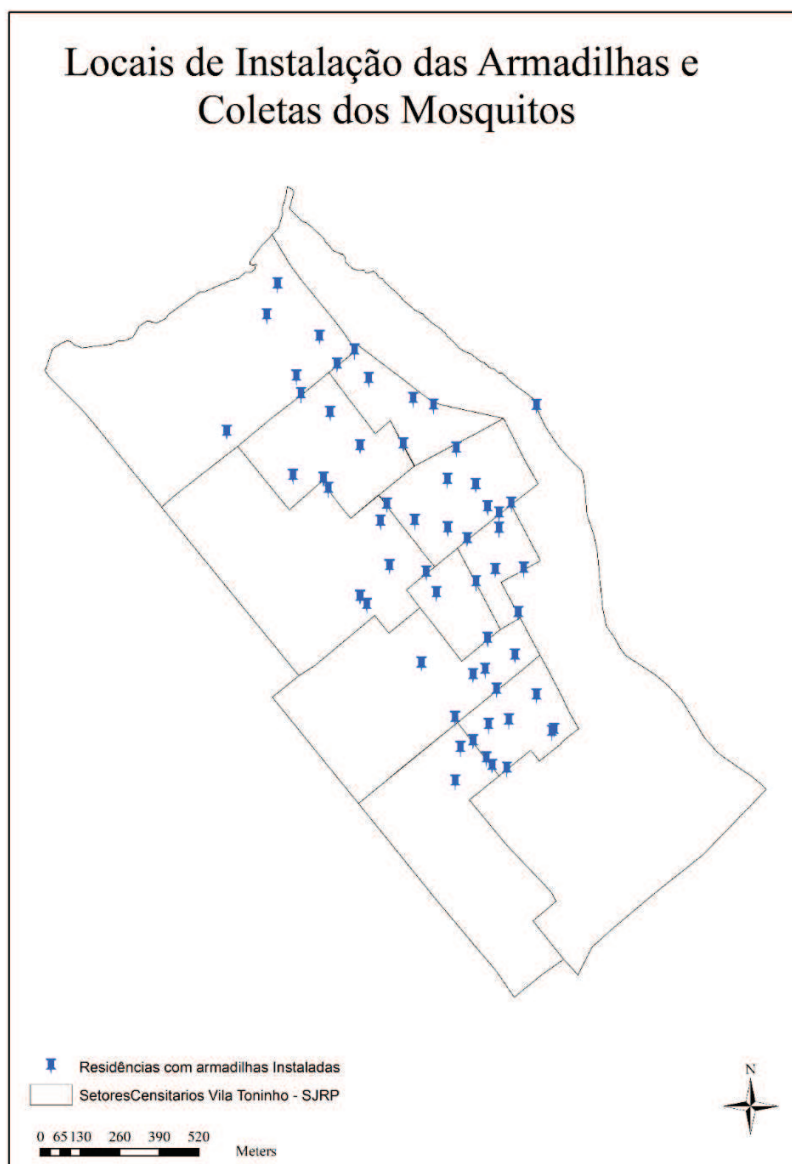
Figura 2: Imagem de Satélite do bairro Vila Toninho - São José do Rio Preto - São Paulo - Brasil. (Google Earth Pro - Data da Imagem: 25/03/2019, 20°50'48.37"S - 49°20'26.25"O, elevação 514m, altitude do ponto de visão 4.91 km).

✓ **INDICADORES ENTOMOLÓGICOS**

❖ **ÍNDICE NAF - NÚMERO DE *Aedes aegypti* FÊMEAS**

Para a realização da vigilância entomológica de mosquitos adultos, utilizamos o indicador Naf - Número de *Aedes aegypti* Fêmeas, proposto por Parra e colaboradores. ⁽⁶²⁾ Para isto, foram instaladas armadilhas do tipo BG-Mosquitito™ em residências pré-selecionadas que tinham no peri domicilio locais cobertos e protegidos do sol e da chuva, próximos a vasos ou folhagens, penduradas perpendicular ao chão, a aproximadamente 1,5 metros de altura. Utilizamos 30 armadilhas, que permaneceram por 24 horas em cada local.

As instalações ocorreram sempre na última semana de cada mês, sendo que as armadilhas foram instaladas as segundas e quintas-feiras e retiradas as terças e sextas-feiras. Para calcular o Naf mensalmente foi utilizada a seguinte fórmula:



$$\text{Naf} = \frac{\text{número de fêmeas de } Aedes \text{ aegypti} \text{ coletadas} \times 7}{9} \times 100$$

Figura 3: Geocodificação dos endereços das residências selecionadas para a instalação das armadilhas e coleta dos mosquitos.

❖ **Composição das armadilhas do tipo Mosquitito™.**

A armadilha BG-Mosquitito™⁽⁶³⁾ é composta pelo corpo da armadilha, um funil de sucção com ventilador, uma substância odorífica: Biogents® liberador, um fio elétrico de oito metros com adaptador e um fio de 2,5 metros para pendurar a armadilha. Ela é mantida por uma fonte de alimentação de 12 volts. É dobrável; tem um tamanho de pacote de 20X20X19 cm.



Figura 4: Armadilha do tipo BG- Mosquitito™ e seus componentes.

❖ **Identificação e Armazenamento dos Mosquitos**

Após a retirada das armadilhas, os mosquitos coletados foram encaminhados ao Laboratório de Vetores da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (SUCEN/FAMERP), para identificação até a categoria de espécie, utilizando-se chaves taxonômicas contidas em Forattini,⁽⁶⁴⁾ e Consoli & Oliveira.⁽⁶⁵⁾ Os dados foram anotados em boletim apropriado e digitados no Programa Microsoft Office Excel. Os exemplares foram separados em *pools* com no máximo dez espécimes, acondicionados em tubo de polipropileno 1.5µl e identificados segundo local, espécie, sexo e data de coleta, e encaminhados ao Laboratório de Virologia (LPV/FAMERP), onde foram armazenados a

-80°C e posteriormente foram testados através de técnicas moleculares para a identificação da presença dos arbovírus CHIKV, DENV 1-4, YFV E ZIKV.

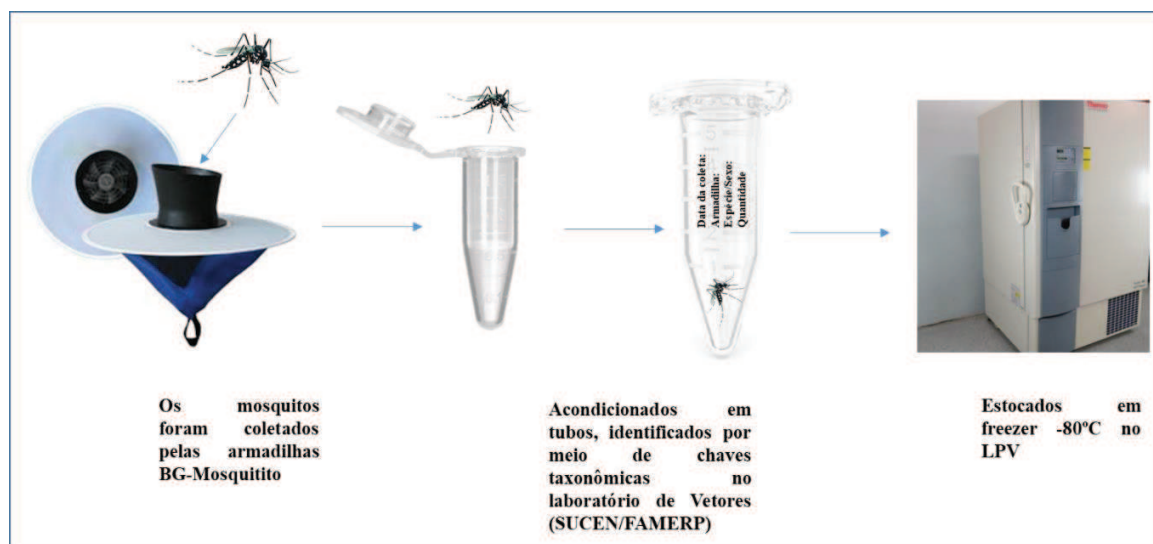


Figura 5: Esquema das atividades realizadas para identificação e estocagem dos espécimes coletados durante o estudo.

❖ ÍNDICE DE BRETEAU (IB), ÍNDICE PREDIAL (IP) E ÍNDICE DE RECIPIENTES (IR)

Os indicadores entomológicos de formas imaturas ou índices estegômicos, Índice de Breteau (IB), ⁽⁶⁶⁾ Índice Predial (IP) e Índice de Recipientes (IR) foram realizados durante o período do estudo, sempre nas três primeiras semanas de cada mês. As quadras inspecionadas foram sorteadas mensalmente; para a cobertura total da área foram necessárias uma média de 780 visitas em residências a cada mês. O mapa abaixo mostra os endereços visitados durante o último mês do estudo.



Figura 6: Mapa temático com a geolocalização das casas inspecionadas para a realização dos indicadores entomológicos de formas imaturas (IB, IP e IR), durante o mês de agosto/2019 Vila Toninho, SJRP.

As larvas coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Vetores (SUCEN-FAMERP) para a identificação até a categoria de espécie, utilizando-se chaves taxonômicas contidas em Forattini, ⁽⁶⁴⁾ e Consoli & Oliveira. ⁽⁶⁵⁾ As informações foram anotadas em boletim apropriado e digitados no Programa Microsoft Office Excel, para posterior cálculo dos indicadores estegômicos.

Para o cálculo dos indicadores de formas imaturas mensalmente, foram utilizadas as seguintes equações:

$$IB = \frac{\text{número de recipientes positivos}}{\text{número de imóveis pesquisados}} \times 100$$

$$IP = \frac{\text{número de imóveis positivos}}{\text{número de imóveis pesquisados}} \times 100$$

$$IR = \frac{\text{número de recipientes tipo "X" positivos}}{\text{número total de recipientes positivos}} \times 10$$

Nas quais, “X” é o tipo do recipiente; foram pesquisadas 14 classificações e/ou tipos diferentes de recipientes. Abaixo apresentamos os 14 tipos/classificação dos recipientes procurados como possíveis criadouros de mosquitos culicídeos:

- Tipo 1 (T1): Prato para vaso de planta;
- Tipo 2 (T2): Vaso de planta na água;
- Tipo 3 (T3): Recipiente Natural;
- Tipo 4 (T4): Pneu;
- Tipo 5 (T5): Caixa d’água ligada a rede

- Tipo 6 (T6): Depósito não ligado à rede;
- Tipo 7 (T7): Bebedouro;
- Tipo 8 (T8): Ralo;
- Tipo 9 (T9): Pote, frasco, garrafa, bacia e balde;
- Tipo 10 (T10): Peça de carro;
- Tipo 11 (T11): Lona;
- Tipo 12 (T12): Calha e laje;
- Tipo 13 (T13): Outros fixos;
- Tipo 14 (T14): Outros não fixos.

✓ **VARIAÇÕES CLIMÁTICAS**

Considerando-se que os valores de infestação vetorial sofrem interferência das variações climáticas; neste estudo, levamos em consideração as variações de temperatura e precipitação como fatores preponderantes para as variações (aumento e diminuição) na infestação vetorial na área do estudo. Para isto, utilizamos as informações climáticas de temperatura média e precipitação média do município de SJRP que estão contidas no site Ciiagro online. ⁽⁶⁷⁾

✓ **ANÁLISES ESPACIAIS**

❖ **Geocodificação dos Endereços e Construção dos Mapas Temáticos**

Todos os endereços, tanto das residências em que foram instaladas as armadilhas quanto das residências inspecionadas, a procura de larvas do vetor foram geocodificadas no

programa TerraView 4.2.2 (INPE), para a criação *layers* ou camadas de cada uma das variantes, tais como: armadilha positiva ou negativa para a presença do vetor, Naf, IB, IP, armadilha positiva para CHIK, DENV 1-4, YFV e ZIKV e casos notificados das arboviroses na Vila Toninho, separadamente.

Com o auxílio do programa ArcGIS 10 (ESRI) foram criados mapas temáticos, que agruparam os *layers* das variantes descritas acima, ou seja, estes mapas contém o agrupamento de todas as informações relativas às arboviroses em mosquitos e humanos e as informações relativas às armadilhas, durante um dado período de tempo. Com estes mapas é possível a visualização da formação de possíveis *clusters* ou aglomerados das doenças. Além de podermos verificar quais áreas do bairro apresentam aglomerados de casos (*hotspots*) de uma ou mais doenças estudadas e as áreas com maiores índices de infestação vetorial, seja de formas imaturas ou adultas.

❖ **Índice de ocorrência de Chikungunya, Dengue, Febre Amarela e Zika**

Os aglomerados de casos de Chikungunya, Dengue, Febre Amarela e Zika podem ser visualizados em mapas temáticos que indicam os locais com maior ocorrência de cada uma das doenças em questão. Aqui, consideramos a ocorrência de CHIKV e/ou DENV e/ou YFV e/ou ZIKV como uma variável preditora e/ou independente que também será testada espacialmente (área de estudo).⁽⁶⁸⁾

✓ **ANÁLISE DOS DADOS**

As modelagens dos mosquitos adultos, segundo armadilhas e trimestres foram realizadas considerando um modelo com correlação espaço-temporal do tipo AR1, onde a

variável dependente foi o número de mosquitos adultos (Adultos), considerando-se uma distribuição de probabilidade de *Poisson*. Inicialmente, foi considerado apenas um modelo de intercepto e com efeitos aleatórios espaço-temporais, conforme apresentado nas expressões abaixo:

$$Adultos_{ti} = Poisson(\mu_{ti})$$

$$\log(\mu_{ti}) = \beta_1 + v_{ti}$$

$$v_{ti} = \phi \times v_{t-1,i} + u_{ti}$$

μ_{ti} = número médio de mosquitos

β_1 = Intercepto

t = 1 a 13 (trimestres, cd um representando uma estação do ano)

i = 1 a 59 (representando cada uma das armadilhas)

v_{ti} – efeitos aleatórios espaciais correlacionados temporalmente

u_{ti} – efeitos aleatórios espacialmente correlacionados

ϕ - Parâmetro autorregressivo

O modelo na forma exponenciada é apresentado a seguir, onde nota-se que a exponencial de β_1 representa a média de adultos e os exponenciais de v_{ti} representam os efeitos aleatórios espaço-temporais

$$\mu_{ti} = e^{\beta_1 + v_{ti}}$$

$$\mu_{ti} = e^{v_{ti}} \times e^{\beta_1}$$

A seguir, foram realizadas as modelagens considerando-se como covariáveis os índices estegômicos, só que considerados separadamente, em função dessas duas variáveis serem colineares (terem alta correlação entre si). Os números de mosquitos e índices

estegômicos foram agrupados por trimestres representativos das quatro estações do ano em função da sazonalidade do vetor, que apresenta maior infestação nos meses de verão (dezembro a fevereiro). Entretanto, as coletas de mosquitos adultos e larvas foram realizadas mensalmente, sendo que nas três primeiras semanas de cada mês foram realizadas as coletas larvárias e na quarta semana de cada mês, as coletas de adultos. Desse modo, já foi levada em conta, no desenho, do estudo, a defasagem entre as formas larvárias e adulta do vetor.

Para que fosse avaliada a associação entre número de adultos e índices estegômicos, além da consideração da defasagem no delineamento, foram criados buffers de 150m em torno de cada armadilha e considerados os imóveis trabalhados e os positivos para larvas do vetor dentro de cada buffer. A distância de 150m foi definida a partir do raio de voo do mosquito ⁽³⁷⁾. Foram calculados para cada buffer e trimestre, os índices de Breteau (IB) e Predial (IP), conforme fórmulas apresentadas a seguir. Os valores de IB e IP de cada buffer e trimestre foram considerados nas modelagens conjuntamente com os respectivos números de mosquitos adultos, também, segundo buffers e trimestres.

$$IB = \frac{\text{número de recipientes com larvas ou pupas de } Aedes \text{ aegypti}}{\text{número de imóveis pesquisados}} \times 100$$

$$IP = \frac{\text{número de imóveis com larvas ou pupas de } Aedes \text{ aegypti}}{\text{número de imóveis pesquisados}} \times 100$$

Após a obtenção dos valores dos índices estegômicos, procedeu-se a sua inclusão nos modelos. A primeira expressão, abaixo, representa o modelo com o IB e a segunda, o modelo com o IP. Em ambas, foram considerados os efeitos aleatórios espaço temporais:

$$\log(\mu_{ti}) = \beta_1 + \beta_2 \times IB_{ti} + v_{ti}$$

$$\log(\mu_{ti}) = \beta_1 + \beta_2 \times IP_{ti} + v_{ti}$$

Nessas modelagens, os valores dos IB e IP foram padronizados (subtração das respectivas médias e divisão pelos respectivos desvios padrões); de modo que os exponenciais dos coeficientes de regressão dessas duas covariáveis puderam interpretados com variações no número de mosquitos adultos correspondentes à variação de um desvio padrão do IB e IP.

Os efeitos aleatórios espaciais correlacionados temporalmente (v_{ti}) foram compostos por uma componente temporal e por uma componente espacial, conforme já apresentado. A componente espacial considerou a dependência espacial entre os locais de instalação das armadilhas. Foi modelada por W , a realização do campo Gaussiano latente estacionário. W foi obtida a partir das distâncias Euclidianas entre os locais de instalação das armadilhas e considerando-se uma função do tipo Matérn, ⁽⁶⁹⁾ e equações diferenciais parciais estocásticas e foi representada por um campo aleatório do tipo Markoviano Gaussiano, ⁽⁷⁰⁾ construído sobre uma malha de triângulos (mesh).

As modelagens espaço-temporais foram feitas em um contexto Bayesiano, utilizando-se uma abordagem geoestatística e aproximações de Laplace aninhadas e integradas (INLA – integrated nested Laplace approximations). ⁽⁷¹⁾ Para realizar as modelagens foi utilizado o software R ⁽⁷²⁾ e o pacote R-INLA. ⁽⁷²⁾

Os efeitos aleatórios espaciais foram obtidos para todos os vértices da mesh, segundo os trimestres analisados. No sentido de se obter uma representação desses efeitos em toda a área de estudo, utilizou-se o algoritmo IDW (inverso da distância) para interpolar,

para cada trimestre, os valores dos efeitos aleatórios para uma grid de 10.000 pontos. Após a realização das estimativas, cada grid foi recortada pela borda da área de estudo. Os efeitos aleatórios espaciais representaram, em cada localidade específica da área de estudo e em cada trimestre, o quando o número de *Ae. aegypti* fêmeas foram maiores (no casos de valores acima da unidade) ou menores (no casos de valores abaixo da unidade) do que o número médio estimado em todo o período de estudo.

✓ **CUSTO OPERACIONAL PARA A REALIZAÇÃO DA VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA**

Durante o estudo, a área do bairro Vila Toninho, SJRP, foi dividida em duas áreas de trabalho - área ROSA e área VERDE; essa divisão ocorreu para otimização dos trabalhos de campo. Também dividimos o pessoal de campo em duas equipes, que levaram os mesmos nomes das áreas das quais ficaram responsáveis.

Para que pudéssemos realizar a vigilância entomológica mensal do bairro, nossas equipes de campo foram orientadas a trabalhar as três primeiras semanas de cada mês para o levantamento larvário, índices estegômicos, nas quadras selecionadas de cada área. E sempre na última semana do mês, foi realizado o levantamento dos vetores adultos, índice Naf, através da instalação das armadilhas BG-MosquititoTM nas residências pré-selecionadas para o estudo.

✓ **CASOS HUMANOS SUSPEITOS**

Durante o período do estudo, as informações relativas aos casos suspeitos de arboviroses foram obtidas por meio de um banco de dados do SINAN-Dengue de São José do Rio Preto – SP, cedido pela vigilância epidemiológica do município de SJRP. As informações relativas aos casos suspeitos de CHIKV, DENV1-4, YFV e ZIKV foram

encaminhadas, em forma de banco de dados digitados em planilha do Programa Microsoft Office Excel, ao Laboratório de Virologia - LPV/FAMERP. Foram encaminhadas as informações relativas aos anos de 2015, 2016 e 2017 de todos os moradores da Vila Toninho que foram notificados, sendo considerados confirmados ou descartados, para cada uma das arboviroses em questão.

No banco de dados consta informações relativas ao paciente, tais como: sexo, faixa etária, endereço, data do início dos sintomas, etc. Como também informações relativas aos critérios utilizados para a confirmação ou descarte do caso:

- 1) Critério 1: resultado obtido através de resultados laboratoriais;
- 2) Critério 2: resultado obtido através de critério clinico-epidemiológico.

Estas informações foram utilizadas para a construção dos mapas temáticos com as informações relativa a cada uma das arboviroses (CHIKV, DENV, YFV, ZIKV).

✓ **TAXA DE INFEÇÃO VIRAL MÍNIMA EM MOSQUITOS *Ae. aegypti* - MINIMUM INFECTION RATE (MIR)**

A taxa de infecção viral mínima foi determinada pelo cálculo da Taxa de Infecção Mínima (Minimum Infection Rate - MIR). Este índice é calculado pela divisão do número de *pools* infectados por espécie pelo número total de mosquitos testados para cada espécie multiplicado por 1000, ^(73,74) podendo ser expresso pela equação abaixo:

$$\text{MIR} = \frac{\text{número de } pools \text{ infectados por espécie}}{\text{número total de mosquitos testados por espécie}} \times 1000$$

Neste estudo, foram calculadas as taxas de infecção mínima (MIR) de mosquitos *Ae. aegypti* para cada um dos vírus estudados CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV. Não foi possível realizar o cálculo do MIR para mosquitos *Ae. albopictus* devido à baixa quantidade de exemplares coletados; para a realização deste cálculo é necessário a coleta de pelo menos 1000 exemplares da espécie que se deseja verificar a taxa de infecção mínima. ⁽⁷⁴⁾

✓ ANÁLISES MOLECULARES

Todas as amostras (*pools*) de mosquitos coletados entre os anos de 2015 e 2018, do gênero *Aedes*, tiveram seu material genético extraído e foram realizados testes moleculares para a identificação da circulação dos vírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV. Por problemas operacionais, os mosquitos coletados no ano de 2019 não foram submetidos aos testes moleculares.

❖ Extração do RNA Viral

Utilizamos a metodologia descrita por Machado *et al.* ⁽⁷⁵⁾, para a extração do RNA viral. Os *pools* de mosquitos foram macerados com pistilo de plástico autoclavado, inicialmente com 50µL de PBS 1X com posterior acréscimo de 850µL. O macerado foi homogeneizado e centrifugado a 4 °C por 4 minutos a 2,300g. Uma alíquota de 400µL foi utilizada para a extração, o restante armazenado em freezer - 80°C, houve o acréscimo de 400µL de Trizol (Life Technologies - USA) e 200µL de clorofórmio. A solução foi misturada por inversão 30 vezes e incubada em temperatura ambiente por três minutos. Seguida de uma centrifugação à 4°C por 15 minutos a 9,300 g. Onde a fase aquosa contendo o RNA viral (em torno de 300µL) foi recuperada e transferida para um tubo novo de 1,5 ml com o acréscimo

de 500µL de 2-propanol e misturado por inversão 30 vezes. Incubado por 10 minutos em temperatura ambiente. Centrifugado por 15 minutos a 9.300g à 4°C. O sobrenadante foi removido, adicionado 1 ml de Etanol 75% gelado e centrifugado por cinco minutos a 3300 g a 4°C. Descarte do sobrenadante. Temperatura ambiente *overnight* ou até secar totalmente. Re-suspender em 30µL de água RNase-free.

❖ **Análises moleculares para ZIKV**

Descrita por Lanciotti *et al.* ⁽⁷⁶⁾, a detecção do ZIKV é realizada com PCR em tempo real utilizando TaqMan® (RT-qPCR), usando GoTaq® Probe 1-Step RT-qPCR System (Promega, Madison, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram interpretados considerando como Ct (Cycle threshold) ≤ 38.5 = positivo; Ct > 38.5 ou indeterminado considerado como negativo.

❖ **Análises moleculares para DENV e YFV**

Descrita por Bronzoni *et al.* ⁽⁷⁷⁾ Para a transcrição reversa utilizaremos 4,0µL de Buffer 5X (250 mM HCl, 375 mM KCl e 15 mM MgCl₂); 1,5µL de DTT (0,1M); 1,0µL de dNTP (250µM); 1,0µL de gênero específicos para *Flavivirus* (15 pMOL); 1,0µL de Transcriptase Reversa (200 U- Superscript; Life Technologies – USA); 0,5µL de Inibidor de RNase (20U - RNase OUT - Life Technologies – USA); 8,0µL de RNA; E água para completar o volume final de 20µL. Ciclagem da RT: 1 ciclo de 50 minutos a 50° C e 15 minutos a 70° C. Para a segunda reação multiplex utilizaremos uma mistura que contém 5,0 µL de Buffer 10 X (200mM HCl, 500mM KCl); 2,0µL de MgCl₂ (50mM); 1,0µL de dNTP (250µM); 1,0µL de gênero específicos para *Flavivirus* (15 pMOL); 0,2µL de Taq Polimerase (1U-Platinum Taq DNA Polymerase - Life Technologies – USA); 8,0µL de cDNA proveniente da reação de transcrição reversa. Água para completar um volume final de 50µL.

Ciclagem da multiplex: 1 ciclo de 1 minuto a 94° C; 30 ciclos de 1 minuto a 94° C, 1 minuto a 53° C, 2 minutos a 72° C; 1 ciclo de 5 minutos a 72°C. Para a terceira reação de Nested PCR utilizaremos uma mistura que contem 5,0 µL de Buffer 10 X (200mM HCl, 500mM KCl); 2,0µL de MgCl₂ (50mM); 1,0µL de dNTP (250µM); 1,0µL de primer FG1(15 pMOL); 1,0µL de primer para DENV-1 (15 pMOL); 1,0µL de primer para DENV-2 (15 pMOL); 1,0µL de primer para DENV-3 (15 pMOL); 1,0µL de primer para DENV-4 (15 pMOL); 0,2µL de Taq Polimerase (1U-Platinum Taq DNA Polymerase - Life Technologies – USA); 1,0µL de cDNA proveniente do passo anterior. Ciclagem do Nested: 1 ciclo de 1 minuto a 94° C; 25 ciclos de 1 minuto a 94° C, 1 minuto a 53° C, 2 minutos a 72° C; 1 ciclo de 5 minutos a 72°C. Os resultados das análises moleculares dos pools de mosquitos serão visualizados em gel de poliacrilamida 8%.

❖ **Análises moleculares para CHIKV**

O PCR em tempo real para CHIKV foi realizado de acordo com Lanciotti *et al* ⁽⁷⁸⁾ 5 µl RNA viral foi adicionado em 6.25 µl 2X RT Buffer, 0.5 µl Forward Primer (10µM), 0.5 µl Reverse Primer (10µM), 0.15 µl Probe (10µM), 0.5 µl 25X RT enzima e água para um volume final de 12.5µl. A mistura foi submetida ao seguinte ciclo de amplificação: 45°C for 10 min; 95°C for 1o min, and 40 ciclos to 95°C for 15seg, 60°C for 1 min.

❖ **Isolamento Viral**

As amostras NS1 positivas para YFV, ZIKV, DENV e CHIKV foram isoladas em linhagem celular C6/36 (clone do mosquito *Aedes albopictus*), utilizando-se para isto a metodologia descrita por Medina *et al.* ⁽²⁰⁾; considerada padrão para este caso. A observação das linhagens celulares foi diária, em microscópio óptico invertido, podendo variar entre sete e dez dias, até a visualização do efeito citopático (ECP), tais como, morte celular e formação

de sincício. A confirmação do isolamento por RT-PCR foi realizada após três passagens em linhagem C6/36.

Para a confirmação do isolamento viral foram realizados teste moleculares de RT-PCR (conforme descrito no item anterior).

❖ **Sequenciamento das amostras positivas**

Todas as amostras positivas para YFV tiveram seu material genético sequenciado; para isto, foram realizadas uma PCR conforme descrito acima para a confirmação da banda em gel de agarose. Purificação do produto de PCR para a reação de sequenciamento (Big dye): 40µl do produto da PCR, 4 µl de acetato de sódio 3M, 120 µl de etanol 100% gelado; incubação por 20 minutos em freezer -80°C; centrifugação por 20 minutos/ 4°C / 13.200 RPM; descarte do sobrenadante; 120 µl de etanol 70% gelado; centrifugação por 10 minutos/ 4°C / 13.200 RPM; descarte do sobrenadante; secagem completa da amostra; re-suspensão em 20 µl água ultrapura. A reação de sequenciamento foi preparada para um volume final de 20,0 µL. Foram utilizados 2,0 µL de BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), 4,0 µL de tampão BigDye® Terminator v1.1 & v3.1 5X Sequencing Buffer (Applied Biosystems), 1,0 µL do oligonucleotídeo iniciador na concentração final de 3,2 pmol e 2,0 µL do produto purificado (aproximadamente 200 ng de DNA do produto a ser sequenciado) e 11 µL de água ultrapura. Ciclagem: 1 ciclo de 2 minuto a 96° C; 25 ciclos de 30 segundos a 94° C, 15 segundos a 50° C, 4 minutos a 60° C. Precipitação da reação de sequenciamento: 2 µl EDTA 125 mm; 2µl Acetato de Sódio 3M; 50µl de Etanol 100% gelado; 15 minutos em temperatura ambiente; Centrifugação por 20 minutos/ 4°C / 13.200 RPM; Remoção do Sobrenadante; 100µl de Etanol 70% gelado; Centrifugação por 15

minutos/ 4°C / 13.200 RPM; Remoção do sobrenadante com cuidado; secagem total de pellet; re-suspensão em 10µl de formamida para o sequenciamento.

Posteriormente a purificação e precipitação os produtos foram ressuspensos em 10 µL de formamida Hi-Di (Applied Biosystems). As amostras foram, então, desnaturadas a 95°C por cinco minutos e incubadas em gelo por dois minutos. O sequenciamento foi realizado pelo método de dideoxi descrito por Sanger e colaboradores ⁽⁷⁹⁾ em sequenciador automático capilar 3100 Genetic Analyzers (Applied Biosystems). Os resultados foram analisados no Accelrys Gene® Software v.2.0 para verificar a qualidade das sequências e analisados no blast ⁽⁸⁰⁾ para verificação de sequências similares que possam estar anexadas ao site.

✓ **IMUNOFLUORESCENCIA INDIRETA DAS AMOSTRAS DE YFV**

Para a realização da imunofluorescência das amostras positivas para YFV, foram preparadas placas de 24 poços com células Vero E6, seguidas da infecção das células com 5 MOI viral, a infecção foi realizada como descrita anteriormente. Após o período de infecção, houve a retirada do inoculo sendo substituído por meio MEM 1% de soro fetal bovino com 5µg/ml de composto que foi deixado em incubação por 24 horas a 5% de CO₂ a 37°C. No dia seguinte houve a retirada do sobrenadante e realizada a fixação das células com paraformaldeído 4%, seguida de incubação em temperatura ambiente por 20 minutos, duas lavagens em PBS (1X) e acréscimo de Triton X-100 0.5% em PBS, com incubação por 30 minutos em temperatura ambiente seguido de três lavagens com PBS (1X). Soro de bode 10% para bloqueio e incubação por 30 minutos em temperatura ambiente seguida por duas lavagens com PBS (1X). Inclusão do anticorpo primário para YFV diluído em soro de bode 10% PBS e incubação overnight a 4°C em câmara úmida. No dia seguinte, inicia-se com três

lavagens por 5 minutos sob agitação com PBS 1X. Anticorpo secundário (1:1000) em PBS 1X com 10% de soro de bode, incubação por 1 hora a 37°C em câmara úmida protegida da luz, seguido de três lavagens por 5 minutos sob agitação com PBS 1X e uma lavagem com água para o adição do Dapi com incubação por 5 minutos em temperatura ambiente, seguida de uma lavagem com água e montagem das lâminas para leitura com mowiol.

3. RESULTADOS

✓ COLETA DOS MOSQUITOS

Foram realizadas 2.830 visitas para instalações de armadilhas e coleta de mosquitos adultos. Durante as instalações foram coletados 7.960 culicídeos, divididos em 2.611 *pools*, sendo 626 *Ae. aegypti* machos (350 *pools*), 1.169 *Ae. aegypti* fêmeas (701 *pools*), 2 *Ae. albopictus* machos (2 *pools*), 12 *Ae. albopictus* fêmeas (11 *pools*), 2.954 *Culex sp.* machos (628 *pools*) e 3.197 *Culex sp.* fêmeas (919 *pools*).

Tabela 1: Quantidade e porcentagem de mosquitos coletados durante o estudo, separados por espécie e sexo.

<i>Espécie</i>	<i>Ae. aegypti</i> macho	<i>Ae. aegypti</i> fêmea	<i>Ae. albopictus</i> macho	<i>Ae. albopictus</i> fêmea	<i>Culex sp.</i> macho	<i>Culex sp.</i> fêmea
Quantidade	626	1169	2	12	2954	3197
de mosquitos						
% de mosquitos	7,86%	14,69%	0,03%	0,15%	37,11%	40,16%

A Figura 7 apresenta a distribuição temporal da infestação vetorial na Vila Toninho, SJRP, dividida por mês e ano de coleta. A Tabela constante no apêndice 1 mostra a quantidade de mosquitos coletados mensalmente, separados por espécie, durante o período do estudo.



Figura 7: Distribuição temporal dos culicídeos coletados durante o estudo na Vila Toninho, SJRP, separados por espécie e por ano de coleta.

Os mapas temáticos abaixo mostram a distribuição espaço-temporal da infestação por mosquitos *Ae. aegypti* fêmea no bairro Vila Toninho, SJRP, durante o período do estudo. E também apresenta os resultados do Naf Global, Precisão e Intervalo de Confiança, obtidos mensalmente.

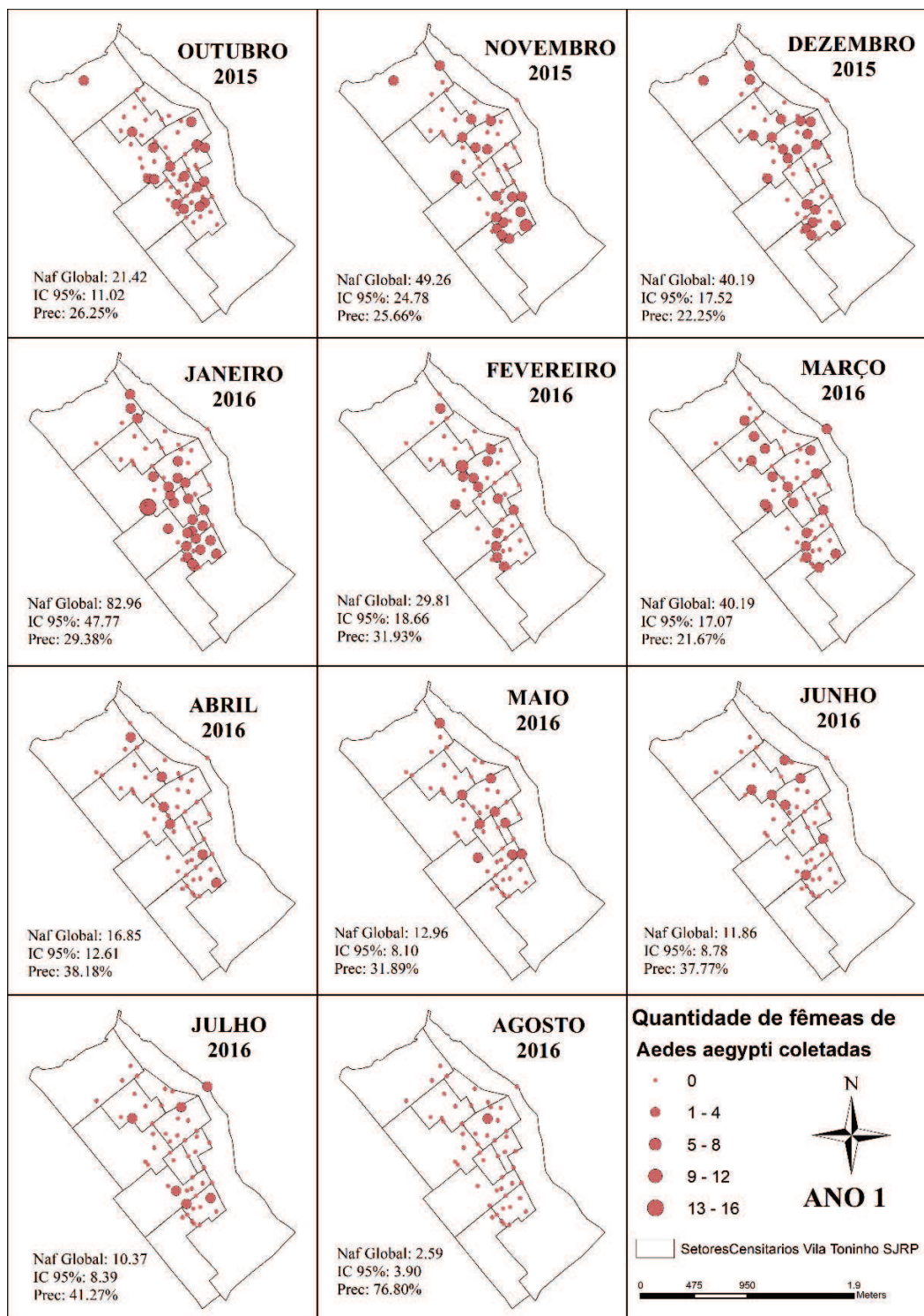


Figura 8: ANO 1 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o primeiro ano do estudo (2015/16).

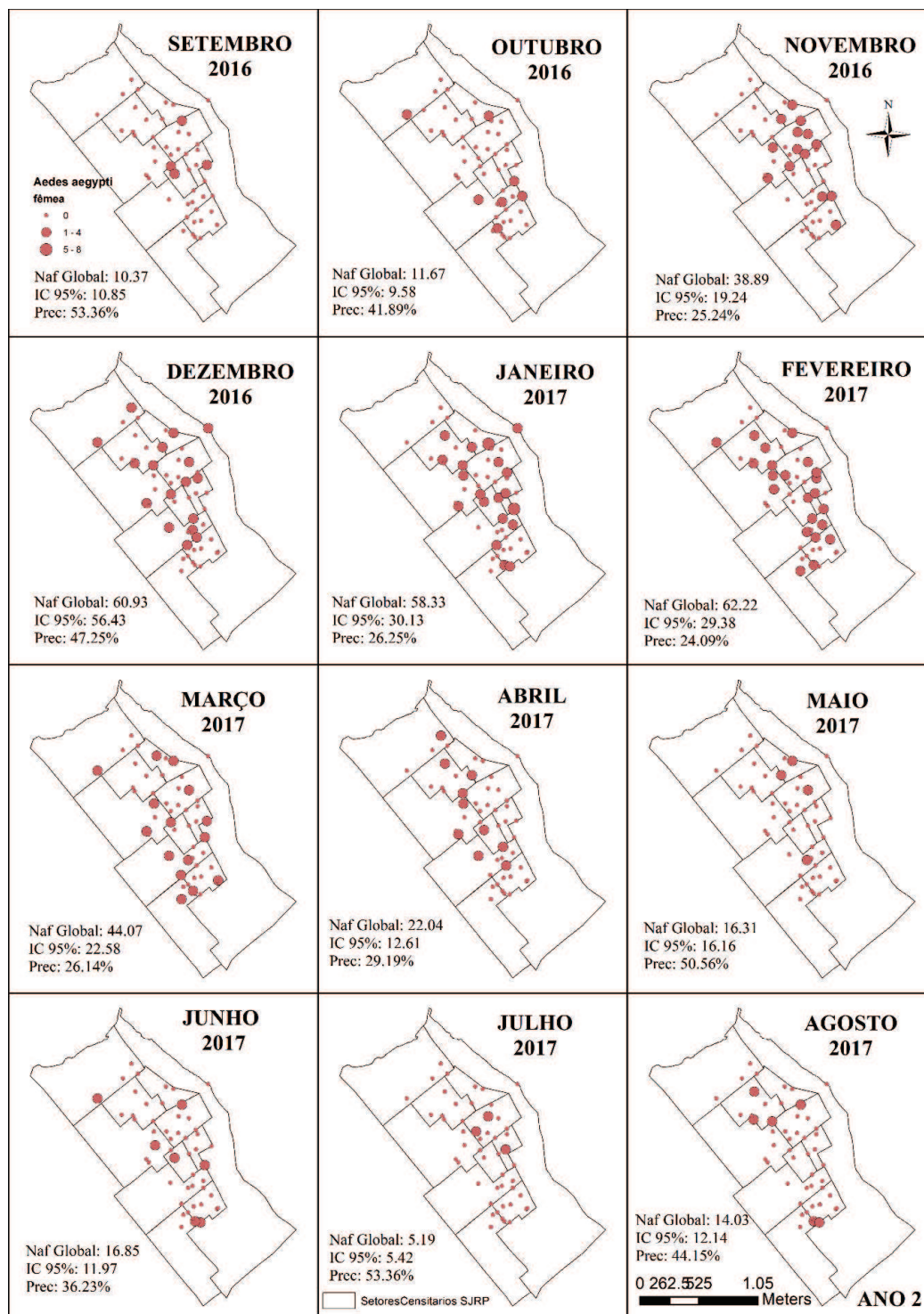


Figura 9: ANO 2 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o segundo ano do estudo (2016/17).

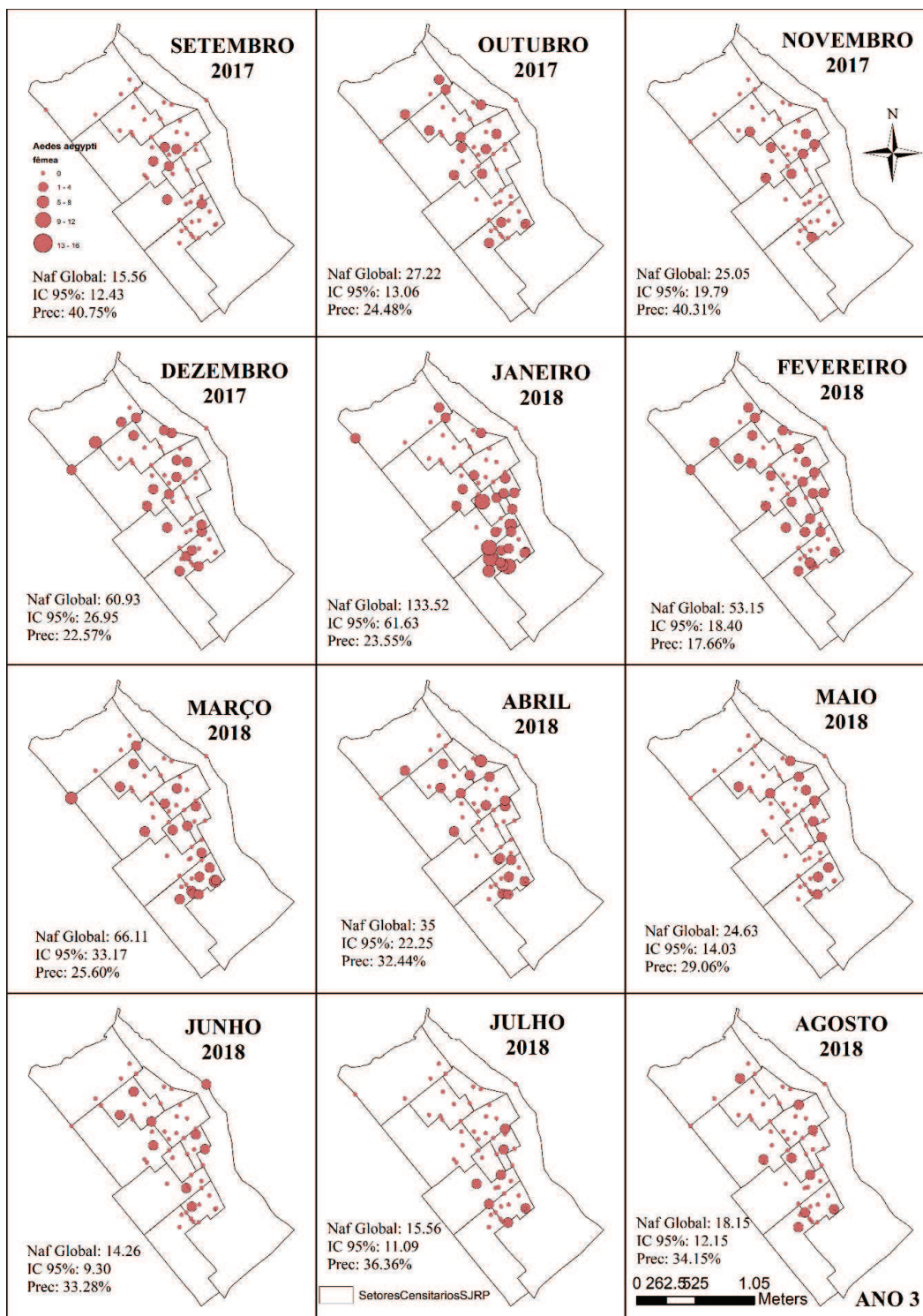


Figura 10: ANO 3 - Infestação vetorial de mosquitos adultos durante o terceiro ano do estudo (2017/18).

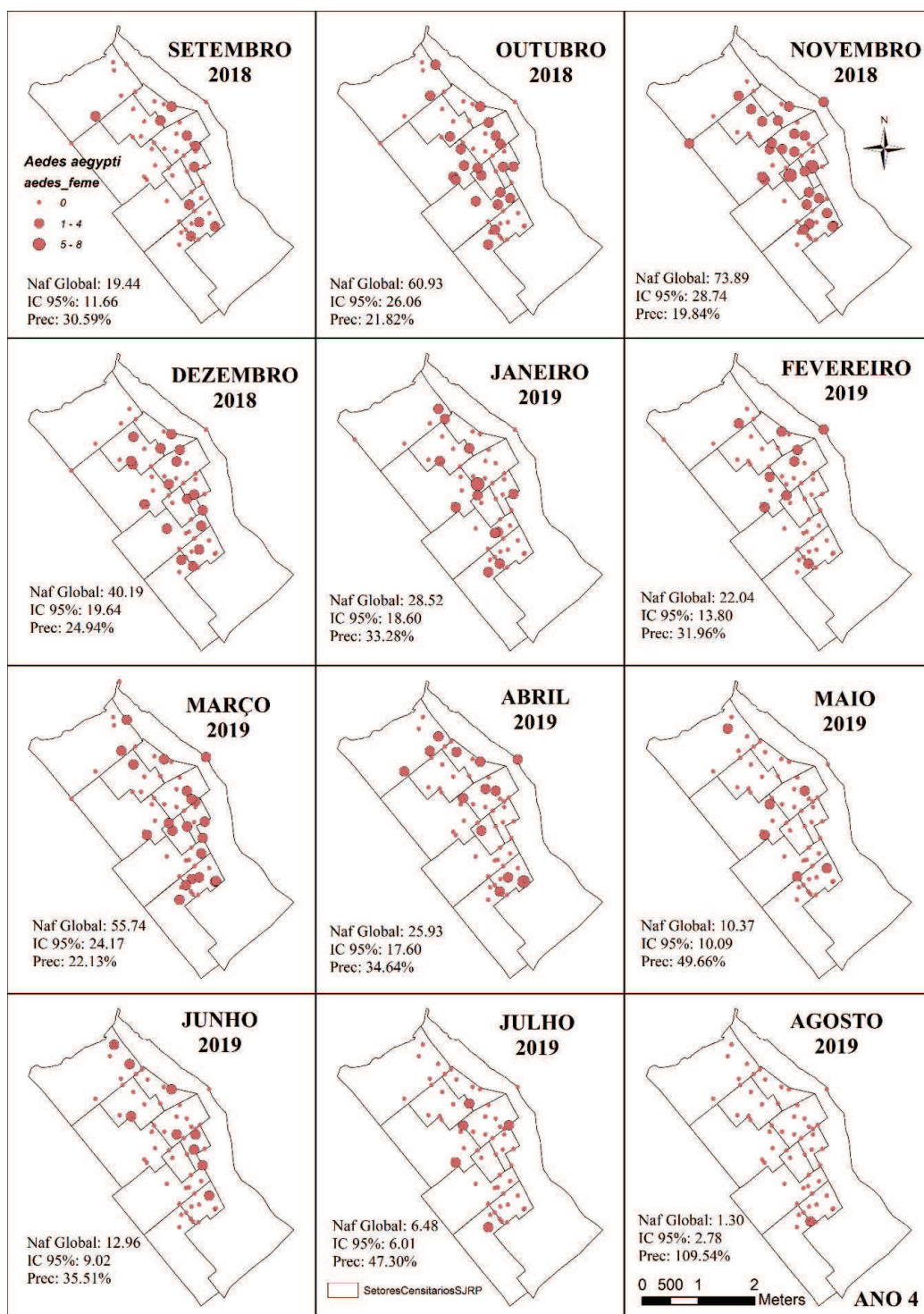


Figura 11: ANO 4 - Infestação Vetorial de Mosquitos Adultos durante o quarto ano do estudo (2018/19).

✓ **NAF - NÚMERO DE *Aedes aegypti* FÊMEAS**

Foram calculados mensalmente os valores do Naf Global, utilizando-se o número de fêmeas de mosquitos *Ae. aegypti* coletados durante o período do estudo. Os maiores valores do indicador foram encontrados nos meses de janeiro/2018 (133.52), seguidos pelos meses de janeiro/2016 (82.96), novembro/2018 (73.89) e fevereiro/2017 (62.22). Já os menores valores foram encontrados nos meses de agosto/2019 (1.30), seguidos por agosto/2016 (2.59), julho/2017 (5.19) e julho/2019 (6.48).

Juntamente com os resultados do Naf Global também foi calculado o Intervalo de Confiança, Desvio Padrão e Precisão (%) dos resultados obtidos. Todos estes valores são apresentados na Tabela que consta no Apêndice 2, todos os resultados são apresentados separados nos quatro períodos (anos) do estudo. A Tabela 2 apresenta os valores do índice Naf global obtidos durante o estudo.

Tabela 2: Valores mensais do Índice Naf Global obtidos durante o estudo.

NAF GLOBAL	ANO 1	set/15	Out/15	Nov/15	Dez/15	Jan/16	Fev/16	Mar/16	Abr/16	Mai/16	Jun/16	Jul/16	Ago/16
		NR	21.42	49.26	40.19	82.96	29.81	40.19	16.85	12.96	11.86	10.37	2.59
	ANO 2	set/16	Out/16	Nov/16	Dez/16	Jan/17	Fev/17	Mar/17	Abr/17	Mai/17	Jun/17	Jul/17	Ago/17
		10.37	11.67	38.89	60.93	58.33	62.22	44.07	22.04	16.31	16.85	5.19	14.03
	ANO 3	Set/17	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18	Mai/18	Jun/18	Jul/18	Ago/18
		15.56	27.22	25.05	60.93	133.52	53.15	66.11	35.00	24.63	14.26	15.56	18.15
	ANO 4	Set/18	Out/18	Nov/18	Dez/18	Jan/19	Fev/19	Mar/19	Abr/19	Mai/19	Jun/19	Jul/19	Ago/19
		19.44	60.93	73.89	40.19	28.52	22.04	55.74	25.93	10.37	12.96	6.48	1.30

✓ **ÍNDICE DE BRETEAU (IB), ÍNDICE PREDIAL (IP) E ÍNDICE DE RECIPIENTES (IR)**

Foram realizadas 36.205 visitas durante o período do estudo, à procura de possíveis criadouros de larvas de mosquitos culicídeos. Durante as visitas, foram encontradas 11.128 residências com possíveis criadouros, destes 10.978 continham água, 700 apresentavam recipientes positivos para a presença de larvas, sendo 630 com larvas de *Ae. aegypti*, 14 com larvas de *Ae. albopictus* e 56 com larvas de outros culicídeos.

Os mapas abaixo mostram a distribuição espaço-temporal da infestação por larvas do mosquito *Ae. aegypti* no bairro Vila Toninho, SJRP, durante o período do estudo. E também, apresentam os resultados do Índice de Breteau e Índice Predial obtidos mensalmente.

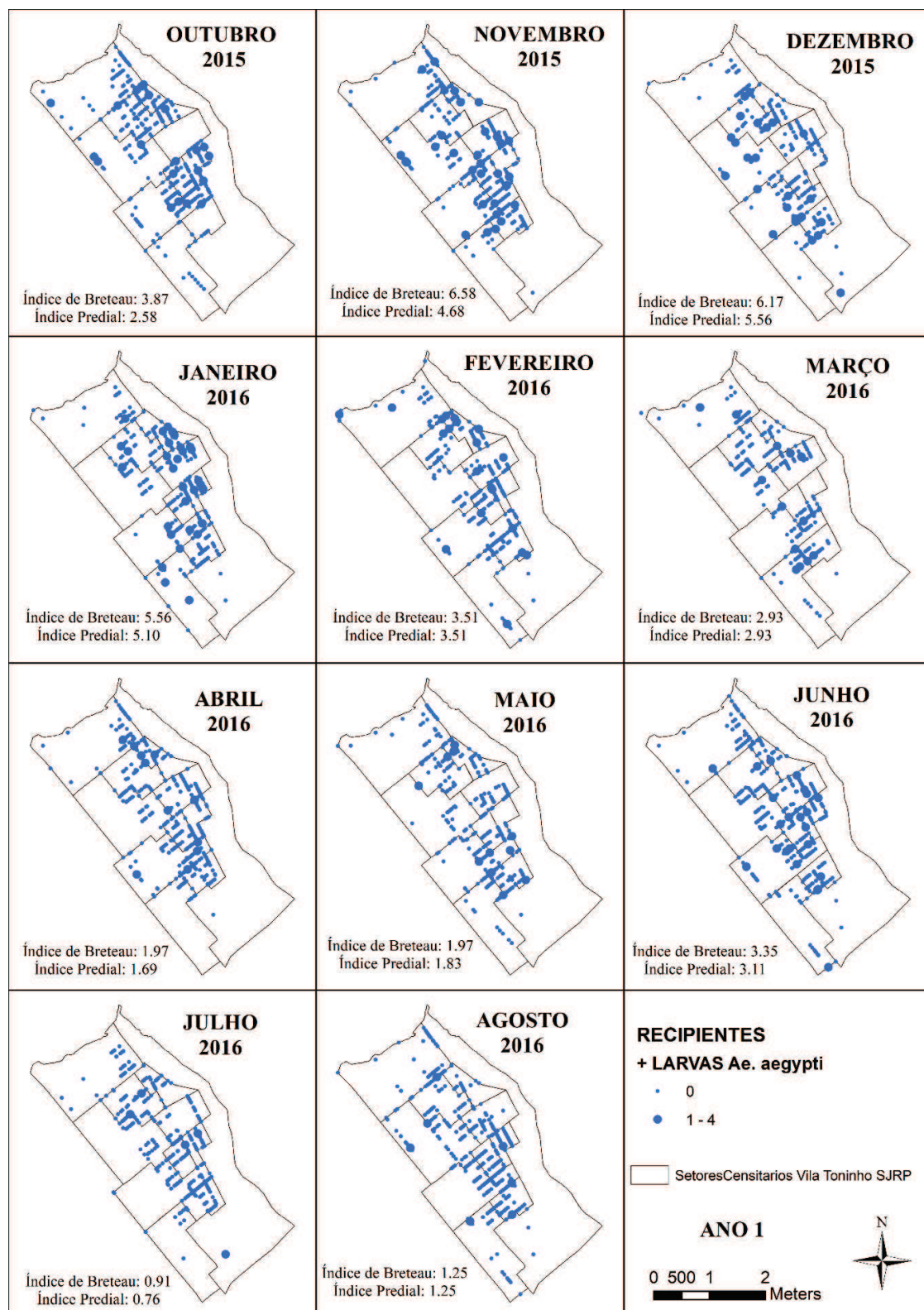


Figura 12: ANO 1 - Infestação Vetorial de larvas durante o primeiro ano do estudo (2015/2016).



Figura 13: ANO 2 - Infestação Vetorial de larvas durante o segundo ano do estudo (2016/2017).

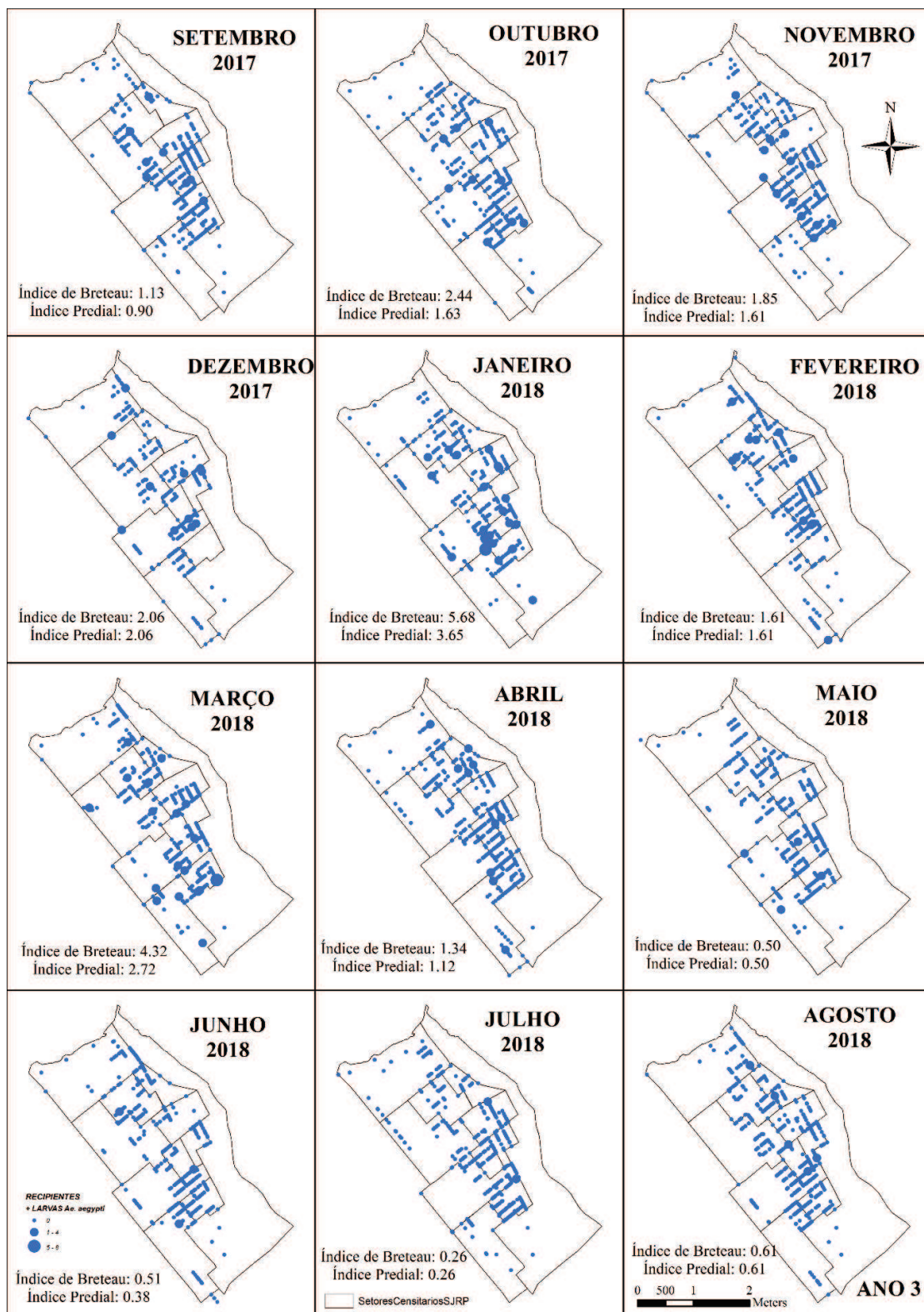


Figura 14: ANO 3 - Infestação Vetorial de larvas durante o terceiro ano do estudo (2017/2018).

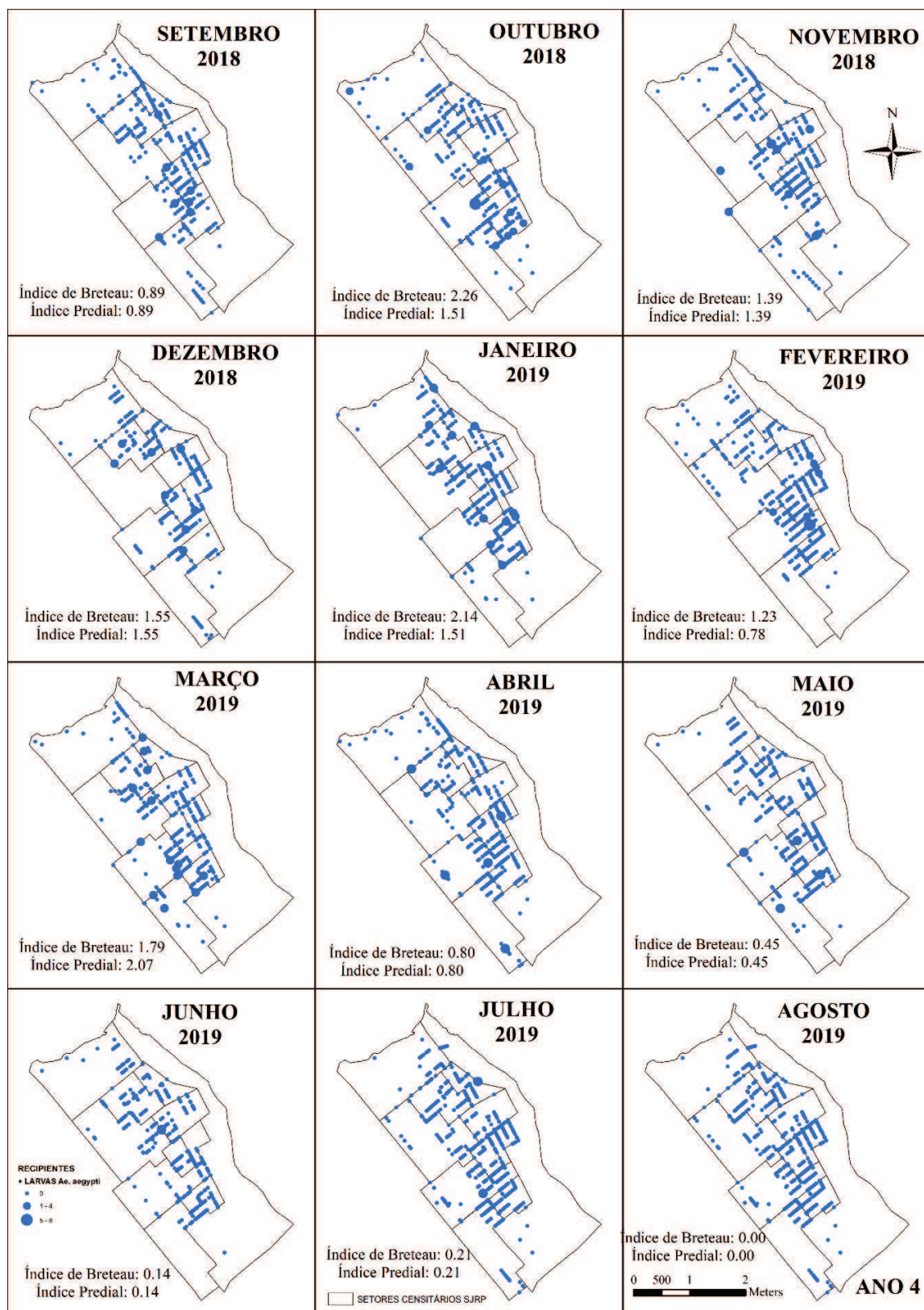


Figura 15: ANO 4 - Infestação Vetorial de larvas durante o quarto ano do estudo (2018/2019).

Foram calculados os índices IB, IP e IR para cada um dos meses do estudo. Com relação aos resultados obtidos para o IB, os maiores valores encontrados correspondem aos meses de novembro/2015 (6.58), dezembro/2015 (6.17), dezembro/2016 (5.83) e janeiro/2016 (5.56). Os menores valores encontrados correspondem aos meses de agosto/2019 (0.0), junho/2019 (0.14), julho/2019 (0.21) e julho/2018 (0.26).

Os maiores valores obtidos para o IP foram encontrados nos meses de dezembro/2015 (5.56), janeiro/2016 (5.10), novembro/2015 (4.68) e dezembro/2016 (4.46) e os menores valores foram encontrados nos meses de agosto/2019 (0.0), junho/2019 (0.14), julho/2019 (0.21) e julho/2018 (0.26).

Podemos ver que em ambos os índices, IB e IP, os maiores e menores valores obtidos foram encontrados nos mesmos meses (novembro a janeiro - meses com os maiores índices e junho a agosto - meses com os menores índices). Todos os resultados obtidos com o cálculo de IB e IP são apresentados nas Tabelas 3 e 4, separados por ano do estudo e tipo de indicador entomológico.

Tabela 3: Resultados do Índice de Breteau (IB) obtidos durante o estudo.

ÍNDICE DE BRETEAU	ANO 1	Set/15	Out/15	Nov/15	Dez/15	Jan/16	Fev/16	Mar/16	Abr/16	Mai/16	Jun/16	Jul/16	Ago/16
		NR	3.87	6.58	6.17	5.56	3.51	2.93	1.97	1.97	3.35	0.91	1.25
	ANO 2	Set/16	Out/16	Nov/16	Dez/16	Jan/17	Fev/17	Mar/17	Abr/17	Mai/17	Jun/17	Jul/17	Ago/17
		0.88	1.85	2.10	5.83	4.98	3.13	3.38	2.79	3.04	2.31	0.59	1.16
	ANO 3	Set/17	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18	Mai/18	Jun/18	Jul/18	Ago/18
		1.15	2.44	1.85	2.06	5.68	1.61	4.32	1.34	0.50	0.51	0.26	0.61
	ANO 4	Set/18	Out/18	Nov/18	Dez/18	Jan/19	Fev/19	Mar/19	Abr/19	Mai/19	Jun/19	Jul/19	Ago/19
		0.89	2.26	1.39	1.55	2.14	1.23	1.79	0.80	0.45	0.14	0.21	0.00

Tabela 4: Resultados do Índice Predial (IP) obtidos durante o estudo.

ÍNDICE PREDIAL	ANO 1	Set/15	Out/15	Nov/15	Dez/15	Jan/16	Fev/16	Mar/16	Abr/16	Mai/16	Jun/16	Jul/16	Ago/16
		NR	2.58	4.68	5.56	5.10	3.51	2.93	1.69	1.83	3.11	0.76	1.25
	ANO 2	Set/16	Out/16	Nov/16	Dez/16	Jan/17	Fev/17	Mar/17	Abr/17	Mai/17	Jun/17	Jul/17	Ago/17
		0.88	1.45	1.45	4.46	3.20	2.34	2.22	2.35	2.62	1.90	0.59	0.77
	ANO 3	Set/17	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18	Mar/18	Abr/18	Mai/18	Jun/18	Jul/18	Ago/18
	0.90	1.63	1.61	2.06	3.65	1.61	2.72	1.12	0.50	0.38	0.26	0.61	
ANO 4	Set/18	Out/18	Nov/18	Dez/18	Jan/19	Fev/19	Mar/19	Abr/19	Mai/19	Jun/19	Jul/19	Ago/19	
	0.89	1.51	1.39	1.55	1.51	0.78	2.07	0.80	0.45	0.14	0.21	0.00	

Foram encontrados todos os 14 tipos de recipientes, classificados como possíveis criadouros do mosquito *Ae. aegypti*, procurados durante o estudo. O recipiente mais frequente foi o T9 (qualquer pote, frasco, garrafa, bacia ou balde) encontrado 326 vezes. O segundo mais frequente foi o T7 (bebedouro de animais) encontrado 63 vezes e pelo T13 (outros fixos, que é considerado como todo reservatório que possa acumular água e que é fixo no local em que foi encontrado) encontrado 53 vezes. E o menos frequente foi o T5 (caixa d'água ligada a rede) encontrado três vezes. A seguir apresentamos a Tabela 5 mostrando a quantidade de vezes que cada um dos tipos de recipientes foram encontrados. No Apêndice 3 apresentamos os valores obtidos para o Índice de Recipientes; esse índice foi calculado para cada tipo de recipiente procurado separadamente e é apresentado por mês do estudo.

Tabela 5: Quantidade de vezes que cada um dos tipos de recipientes foi encontrado durante o estudo.

T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14
35	48	11	44	3	24	63	31	326	30	44	19	53	52

✓ **RELAÇÃO ENTRE OS INDICADORES LARVÁRIOS E DE MOSQUITOS ADULTOS**

Durante o estudo foram realizadas diferentes metodologias relacionadas a indicadores entomológicos; tanto o índice Naf quanto os índices estegômicos. Quando correlacionamos os valores obtidos percebemos que os meses de novembro/2015, janeiro/2016 e dezembro/2016 apresentaram um aumento dos valores em ambos os indicadores testados. Também encontramos correlação entre os meses com os menores valores dos indicadores, o que ocorreu nos meses de julho e agosto/2019.

Abaixo apresentamos a Figura 16, mostrando os valores encontrados para cada um dos indicadores testados. As barras representam os índices estegômicos e a linha representa o índice Naf.



Figura 16: Quadro com os resultados dos Indicadores Entomológicos mensais, índice Naf e índices estegômicos, trabalhados durante o estudo.

✓ VARIAÇÕES CLIMÁTICAS

A temperatura média no município de SJRP, no decorrer do estudo foi de aproximadamente 24°C e a precipitação média de aproximadamente 12 mm³ de chuva. Na Figura 17, apresentamos os gráficos com as variações climáticas do município de SJRP, obtidas a partir do site do Ciiagro online. Neles vemos as variações de temperatura e precipitação médias durante o estudo. Como utilizamos dados secundários obtido através de uma plataforma online, não tivemos acesso às informações relativas ao período completo do Ano 4.



Figura 17: Variações climáticas do município de SJRP, entre os anos de 2015 e 2019, obtidas do site CIIAGRO online.

A partir das informações climáticas, fizemos a correlação entre as variações de clima com os resultados dos indicadores entomológicos, índice Naf e índices estegômicos, as

Figuras 18, 19 e 20 mostram os gráficos com a correlação entre as variações climáticas e os indicadores entomológicos.

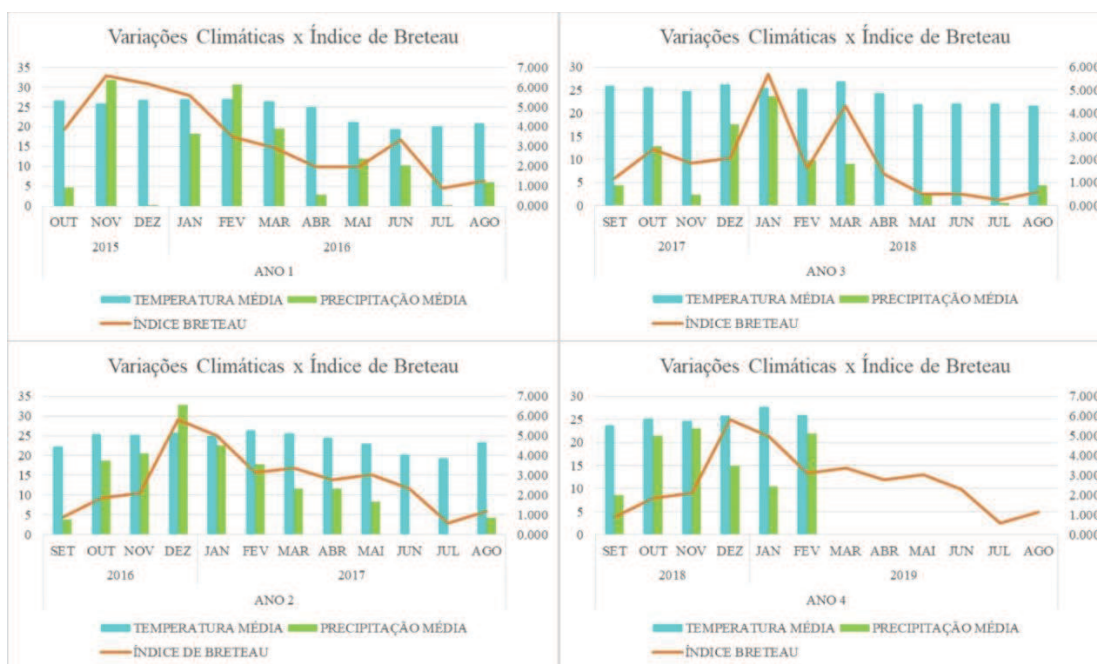


Figura 18: Correlação entre as variáveis climáticas e IB, Vila Toninho SJRP.



Figura 19: Correlação entre as variáveis climáticas e o IP, Vila Toninho SJRP.

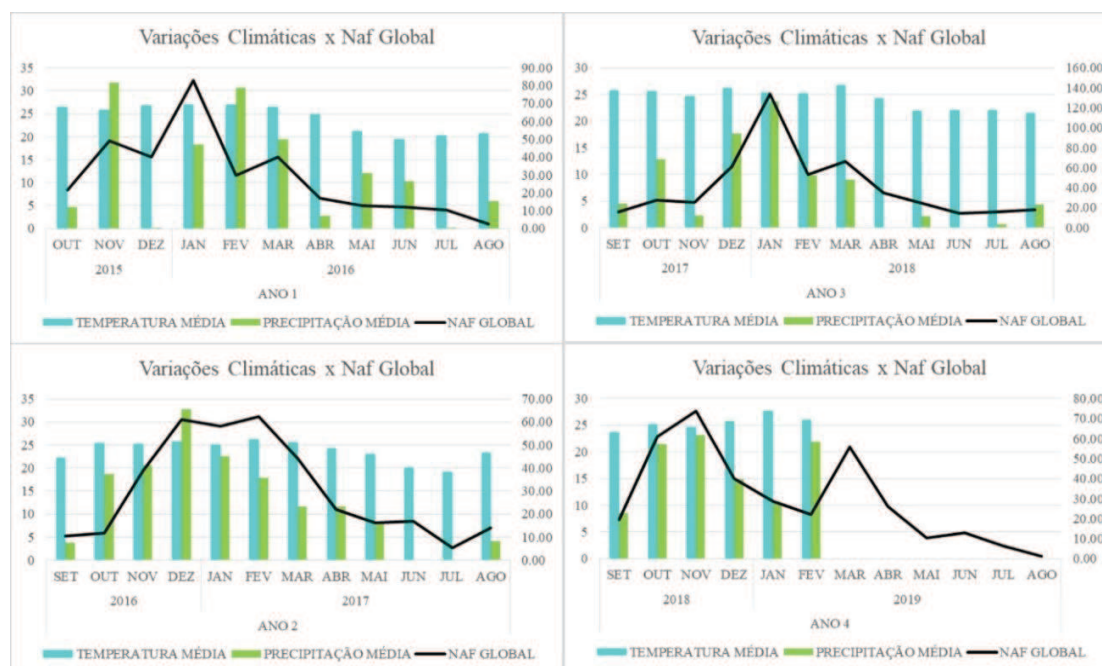


Figura 20: Correlação entre as variáveis climáticas e o Naf Global, Vila Toninho, SJRP.

Quando comparamos as variáveis climáticas com os indicadores entomológicos podemos perceber que o aumento da temperatura e precipitação está diretamente relacionado ao aumento da infestação vetorial, tanto em larvas como em adultos.

No município de SJRP, essa correlação entre as variáveis climáticas e o aumento de casos de arboviroses fica evidente nos anos em que ocorreram epidemias. Elas sempre ocorrem nos meses mais quentes e úmidos do ano, tendo um aumento expressivo dos casos entre o final da primavera e início do verão e diminuindo a quantidade de casos com o início do outono (meses mais frios e secos).

O mesmo pode ser visto quando acompanhamos a infestação vetorial; os meses com maiores valores de indicadores entomológicos, acontecem nos meses da primavera/verão (quentes e úmidos) e tendem a diminuir nos meses do outono/inverno (frios/secos).

✓ ANÁLISE DOS DADOS

Abaixo apresentamos a Figura 21 mostrando as variações climáticas (precipitação e temperatura média) entre os meses de outubro de 2015 e fevereiro de 2019, que são representadas no gráfico pelas barras e os valores dos indicadores entomológicos no mesmo período, estes valores são apresentados no Gráfico pelas linhas. Podemos perceber que os indicadores variam de acordo com as variações climáticas, ou seja, os mesmos são diretamente influenciados pela temperatura e períodos de chuva e seca.

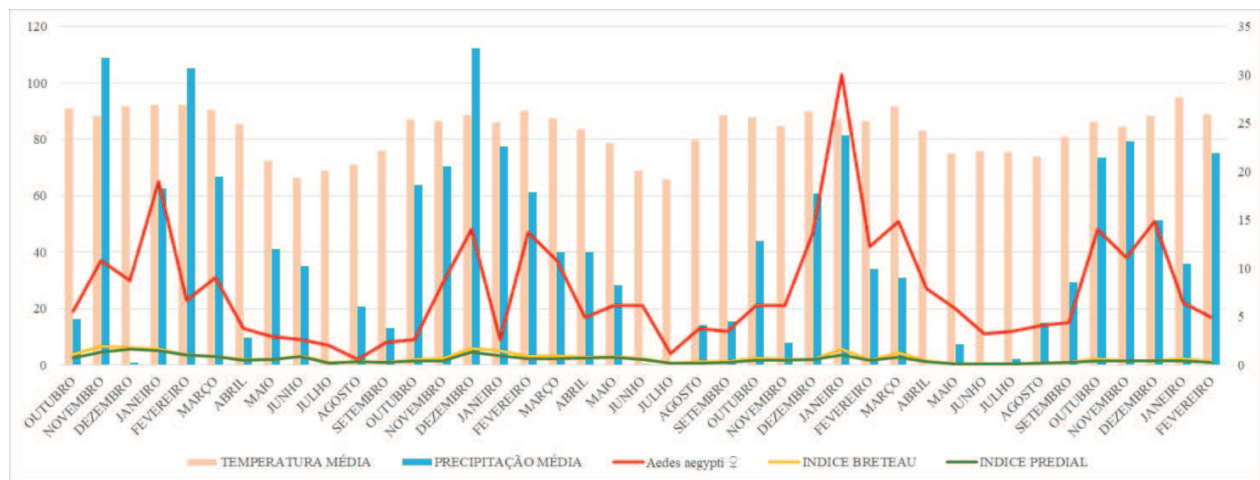


Figura 21: Relação entre as variáveis climáticas e os indicadores entomológicos, no bairro Vila Toninho, SJRP, entre Outubro/2015 e Fevereiro/2019.

Apresentamos a seguir os mapas temáticos oriundos das análises de dados deste estudo, que visou verificar a relação entre os indicadores entomológicos e as variáveis climáticas; por isso os mapas a seguir estão divididos por estações do ano. E fica evidente nestas figuras que o clima tem influência sobre a flutuação dos valores dos indicadores entomológicos.

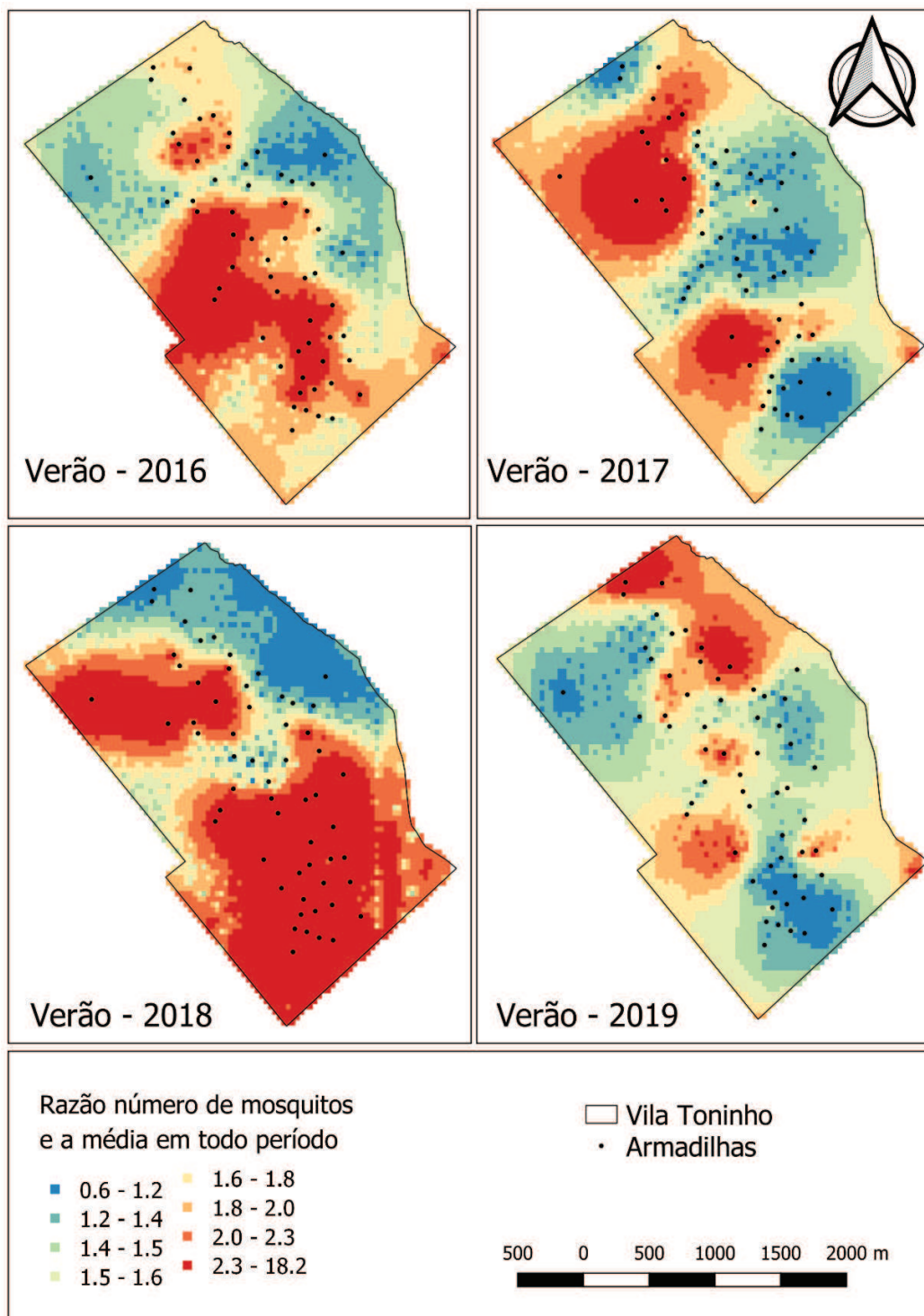


Figura 22: Mapa temático dos verões, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP.

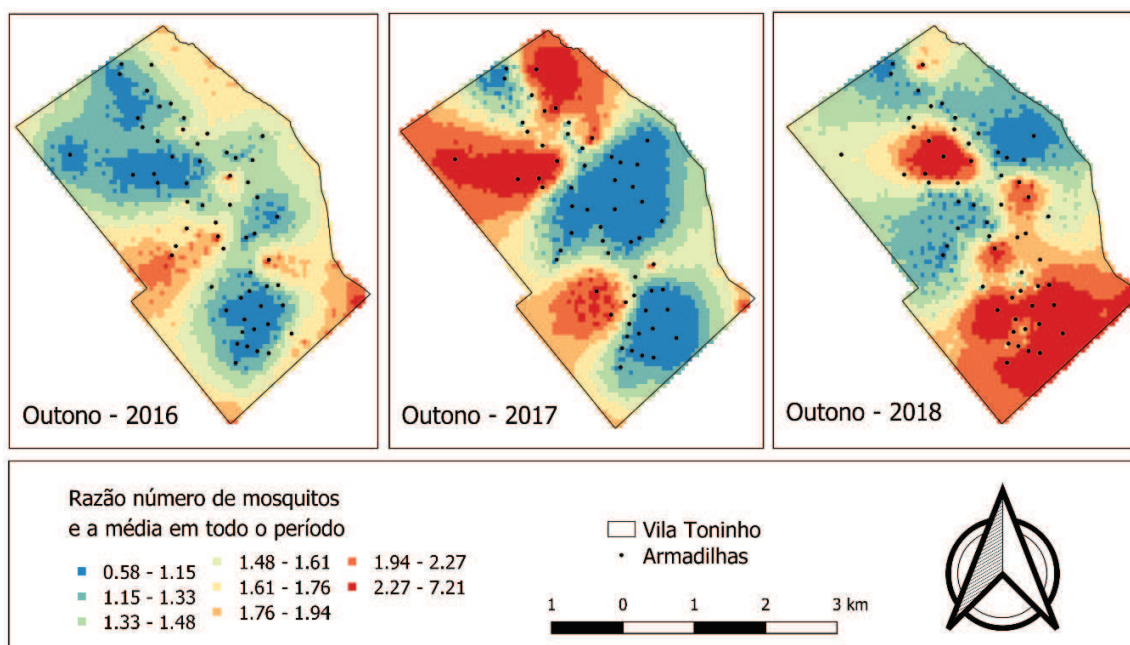


Figura 23: Mapa temático dos outonos, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP.

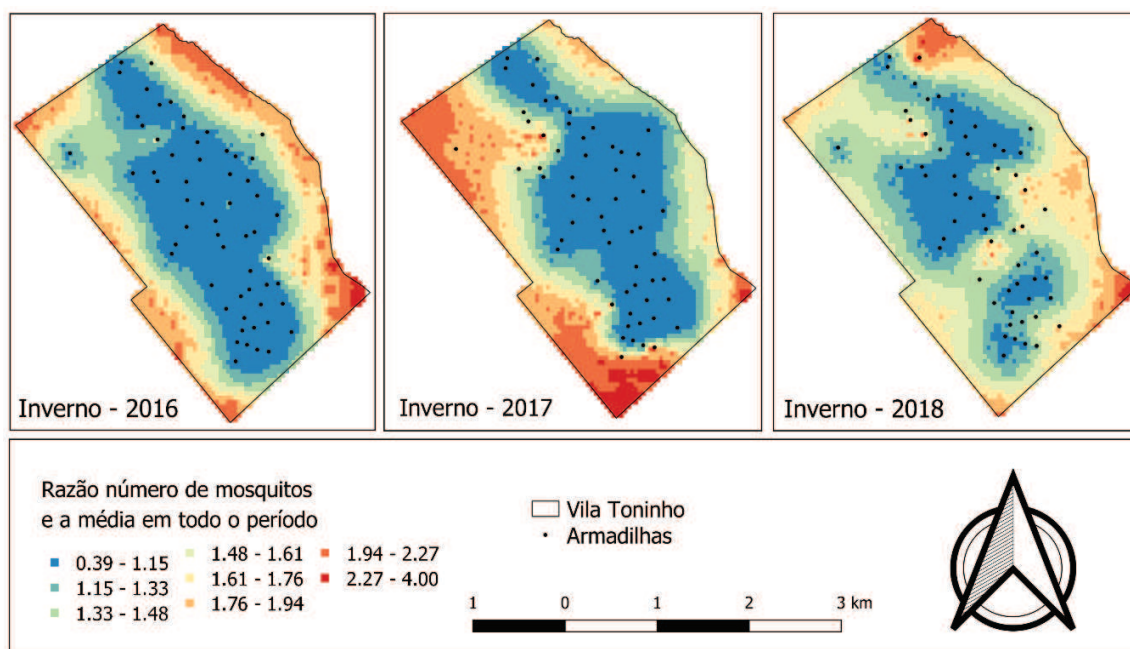


Figura 24: Mapa temático dos invernos, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP

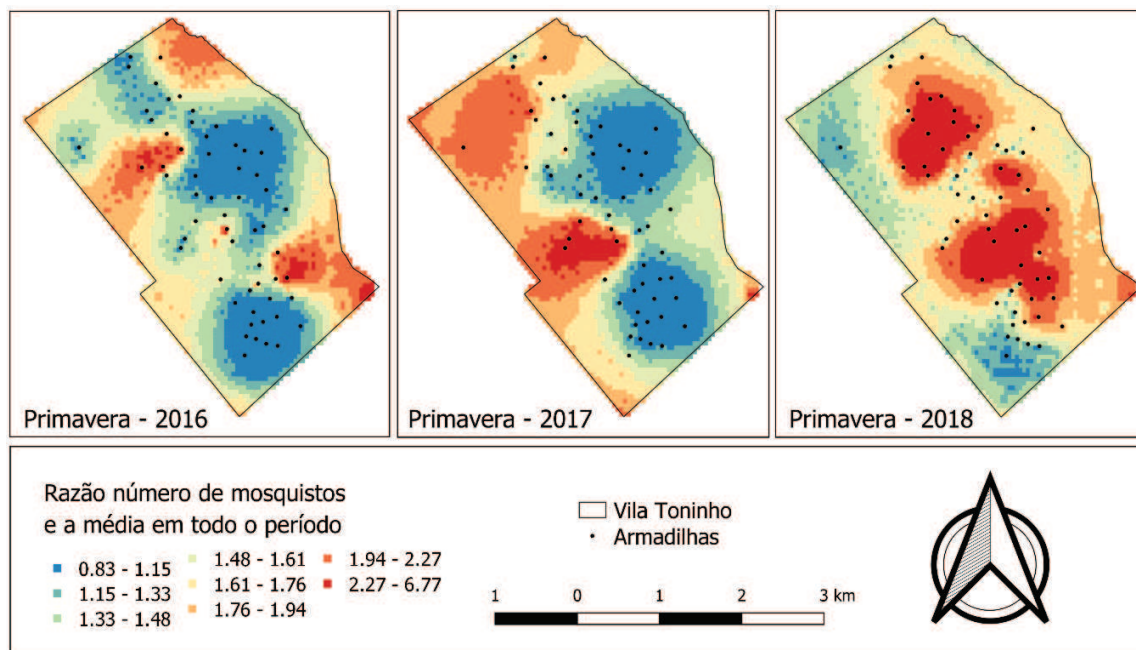


Figura 25: Mapa temático das primaveras, apresentando a razão do número de mosquitos e a média em todo o período, Vila Toninho, SJRP

Tabela 6: Médias posteriores dos efeitos fixos exponenciados para o IB e IP

Variável	Média	Intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior (0.025)	Limite superior (0.975)
IB	1.10	0.98	1.23
IP	1.05	0.93	1.17

A Tabela 6 apresenta a variação de um desvio padrão no IB e no IP resultaria em um aumento no número de mosquitos, de 10 e 5%, respectivamente, Entretanto, como os resultados não foram significantes, concluímos que índices estegômicos não se associaram, como seria esperado, ao número de mosquitos adultos.

✓ **CUSTO OPERACIONAL PARA A REALIZAÇÃO DOS INDICADORES ENTOMOLÓGICOS LARVÁRIOS E ADULTO**

Para que pudéssemos calcular os indicadores entomológicos, tanto o índice Naf quanto os índices estegômicos, nosso pessoal de campo foi dividido em duas equipes de trabalho, que continham quatro pessoas cada - um motorista e três agentes de campo. Para a realização da busca ativa de criadouros com formas imaturas do vetor, realização dos índices estegômicos, nossas equipes de campo, trabalharam completas e executavam o trabalho durante as três primeiras semanas de cada mês. Já para a realização da instalação das armadilhas para a captura de mosquitos adultos, para a realização do índice Naf, nossas equipes trabalharam com a equipe reduzida, o motorista e um agente de campo, que instalava e retirava as armadilhas nas residências selecionadas, durante uma semana (sempre na última semana de cada mês). A Tabela 7, mostra de forma resumida as principais diferenças de custo operacional para a realização dos diferentes tipos de indicador entomológico.

Tabela 7: Diferença de custo operacional para a realização dos trabalhos de campo no estudo, para a obtenção dos indicadores entomológicos, tanto o índice Naf quanto os índices estegômicos.

TIPO DE INDICADOR	TEMPO MENSAL PARA REALIZAÇÃO	PESSOAL DE CAMPO		MÉDIA DE RESIDÊNCIAS TRABALHADAS (MÊS)
ÍNDICE ESTEGÔMICOS	3 semanas	2 equipes (Rosa e Verde)	Cada equipe composta por: 1 motorista e 3 agentes de campo	780
ÍNDICE NAF	1 semana	2 equipes (Rosa e Verde)	Cada equipe composta por: 1 motorista e 1 agente de campo	50

Como vemos na Tabela acima, conseguimos realizar o indicador entomológico de adultos, índice Naf, com as equipes de campo reduzidas e em um menor tempo, cobrindo a

mesma área geográfica. Portanto, podemos dizer que o custo operacional para a realização do indicador entomológico de adultos, índice Naf, é mais barato, pois gasta menos pessoal de campo e tempo.

✓ TAXA DE INFECÇÃO VIRAL MÍNIMA (MIR)

Foram calculadas as taxas de infecção viral mínima de mosquitos *Ae. aegypti* adultos para cada um dos vírus estudados. Os valores de MIR obtidos para cada um dos vírus estudados são apresentados abaixo:

- Taxa de infecção para CHIKV em mosquitos *Ae. aegypti* foi de MIR:14.35;
- Taxa de infecção para DENV 1-4 em mosquitos *Ae. aegypti* foi de MIR:23.41;
- Taxa de infecção para YFV em mosquitos *Ae. aegypti* foi de MIR:8.31;
- Taxa de infecção para ZIKV em mosquitos *Ae. aegypti* foi de MIR:80.06.

Como era esperado encontramos o maior valor de MIR relacionado ao ZIKV, isso se deve, à quantidade de mosquitos *Ae. aegypti* infectados por este vírus, coletados durante o período do estudo na Vila Toninho, SJRP.

❖ ANÁLISES MOLECULARES

751 *pools* de mosquitos do gênero *Aedes* (*aegypti* e *albopictus* - 502 *Ae. aegypti* fêmea; 238 *Ae. aegypti* macho e 11 *Ae. albopictus* fêmea) foram analisados através de técnicas de biologia molecular para a identificação da circulação dos vírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV. Destes 177 (33,57%) foram positivos para um dos vírus em questão, sendo 21 *pools* foram positivos para CHIKV (2,8%), 38 *pools* positivos para DENV 1-4 (5,06%) (9 DENV1; 1 DENV2; 2 DENV1/2; e 26 DENV4), 11 *pools* positivos para YFV (1,46%) e 107 *pools* positivos para ZIKV (14,25%) e 574 (76.43%) apresentaram resultado negativo

para a presença de todos os vírus estudados. Abaixo apresentamos a Tabela 8 discriminando todas as porcentagens de *pools* positivos e negativos para cada um dos vírus.

Tabela 8: Porcentagem de *pools* positivos para os vírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV em mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP.

VÍRUS	QUANTIDADE DE <i>POOLS</i> POSITIVOS				PORCENTAGEM DE	
					POSITIVOS	
CHIKV	21				2,80%	
		DENV1	DENV2	DENV1/2	DENV4	
DENV 1-4	38	9	1	2	26	5,06%
		(1,2%)	(0,13%)	(0,27%)	(3,46%)	
YFV	11				1,46%	
ZIKV	107				14,25%	
TOTAL DE POSITIVOS	177				23,57%	
TOTAL DE NEGATIVOS	574				76,43%	

Dentre as amostras positivas, entre os mosquitos *Ae. aegypti*, encontramos *pools* formados por fêmea e machos. Entre os mosquitos *Ae. albopictus* somente foram testados *pools* formados por fêmeas. A Tabela 9 apresenta a quantidade de *pools* positivos entre machos e fêmeas de *Ae. aegypti*.

Tabela 9: Quantidade de *pools* de fêmeas (♀) e machos (♂) positivos para cada um dos vírus estudados e suas respectivas porcentagem de positividade.

Vírus	♀ / ♂	Quantidade de positivos	Porcentagem de positivos (%)
CHIKV	♀	16	76.19
CHIKV	♂	5	23.81
DENV	♀	29	76.32
DENV	♂	9	23.68
YFV	♀	7	63.64
YFV	♂	4	36.36
ZIKV	♀	73	68.22
ZIKV	♂	34	31.78

Apresentamos os resultados das análises moleculares, número da amostra, quantidade de mosquitos, data e local de coleta em uma tabela inserida no apêndice. A seguir apresentamos os resultados detalhados de cada um dos vírus estudados.

❖ CHIKUNGUNYA VIRUS

No período do estudo foram encontrados 21 *pools* de mosquitos do gênero *Aedes* positivos para o CHIKV, destes 19 *pools* eram compostos por mosquitos *Ae. aegypti* (5 *pools* de machos e 14 *pools* de fêmeas) e 2 *pools* eram compostos por mosquitos *Ae. albopictus* (ambos fêmeas).

Para considerar uma amostra como sendo positiva para o vírus nós levamos em consideração o Ct obtido no PCR em tempo real; para ser considerada positiva, a amostra

tinha que apresentar $Ct \leq 37.5$. Abaixo apresentamos os Cts de todas as amostras consideradas positivas, eles variaram entre 11.482 e 36.864.

Tabela 10: Amostras positivas para CHIKV provenientes das amostras de mosquitos do gênero *Aedes* coletados na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2018.

Número	43	170	173	174	175	178	187	188	190	191	199
Amostra											
Data do Tubo	26/01/201	30/11/201	30/11/201	30/11/201	30/11/201	30/11/201	15/12/201	15/12/201	15/12/201	30/11/201	29/02/201
	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	6
Espécie	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>
	<i>albopictus</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>albopictus</i>	<i>aegypti</i>
CT - PCR em tempo real	31.065	32.054	35.796	36.192	35.922	33.811	31.334	35.712	17.447	11.482	12.848
Número	200	202	203	208	209	211	212	213	214	216	
Amostra											
Data do Tubo	15/12/201	18/12/201	18/12/201	15/12/201	15/12/201	15/12/201	15/12/201	15/12/201	26/01/201	20/01/2016	
	5	5	5	5	5	5	5	5	6		
Espécie	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae.</i>	<i>Ae. aegypti</i>
	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	<i>aegypti</i>	
CT - PCR em tempo real	36.864	34.29	15.291	36.155	18.035	35.035	36.551	36.697	36.223	33.558	

Com relação à sazonalidade das amostras positivas para CHIKV, todas as amostras positivas foram coletadas entre os meses de novembro/2015 a fevereiro/2016, depois deste período todas as amostras testadas apresentaram resultado negativo para a presença do CHIKV.

No mesmo período do estudo, também acompanhamos os casos notificados como suspeitos de Chikungunya. No ano de 2015, na Vila Toninho, SJRP, não houve nenhuma notificação de caso suspeito por CHIKV, entre 2016 e 2017, foram notificados três casos suspeitos de infecção por CHIKV, porém todos foram descartados e considerados como negativos para a presença do vírus.

Abaixo apresentamos o mapa temático, Figura 26, com a dispersão espaço-temporal do vírus CHIKV no bairro Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015/2016 que foram os anos que encontramos as amostras positivas para o vírus. No mapa temático é possível verificar que a ocorrência de mosquitos positivos para CHIKV no bairro ocorreu na maioria das amostras *pools* de mosquitos) em duas regiões específicas da Vila Toninho, SJRP, podendo assim serem considerados como *hotspots* para a ocorrência do vírus na área do estudo.

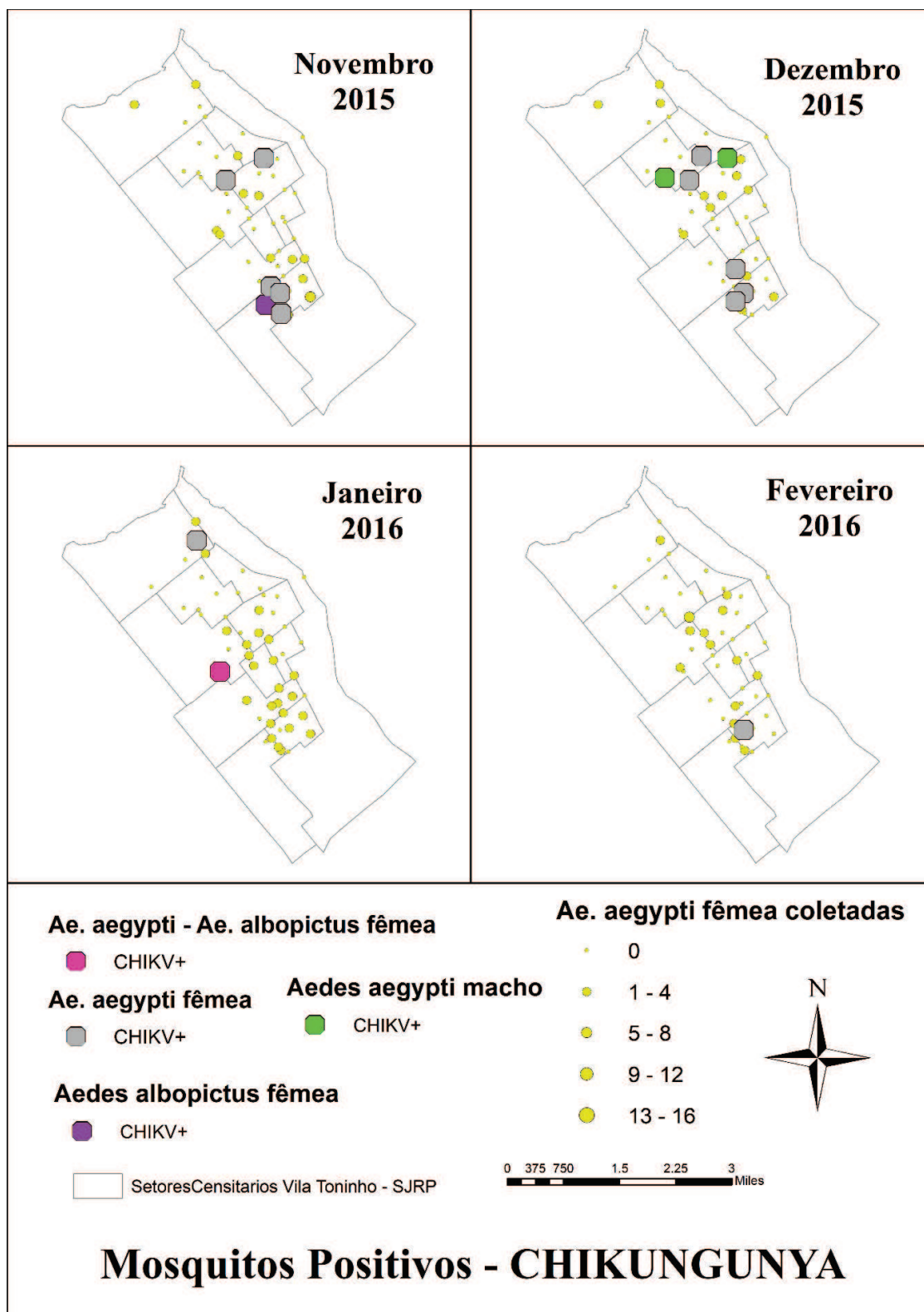


Figura 26: Mapa Temático dos mosquitos positivos para CHIKV, Vila Toninho, SJRP.

Considerando-se as amostras de mosquitos *Ae. aegypti* positivas para CHIKV, calculamos o MIR/*Ae. aegypti* para cada mês, entre os anos de 2015 e 2018. Na Tabela 11, abaixo, apresentamos os resultados obtidos. Podemos perceber que o mês de dezembro/2015 foi o que apresentou maior resultado MIR: 8.31; este resultado acompanha o mês com o maior número de *pools* positivos para CHIKV.

Tabela 11: Taxa de infecção (MIR) para CHIKV em mosquitos *Ae. aegypti* durante o período do estudo.

	Período	Total de Mosquitos Coletados	Total de Amostras (<i>pools</i>)	Total de Amostras Positivas	MIR	Proporção de Amostras Positivas
ANO 1 2015/2016	OUTUBRO	21	19	0	-	-
	NOVEMBRO	45	26	5	3.78	0.11
	DEZEMBRO	70	34	11	8.31	0.16
	JANEIRO	76	40	2	1.51	0.03
	FEVEREIRO	27	18	1	0.76	0.04
	MARÇO	45	34	0	-	-
	ABRIL	13	9	0	-	-
	MAIO	13	13	0	-	-
	JUNHO	11	10	0	-	-
	JULHO	9	9	0	-	-
	AGOSTO	2	2	0	-	-
	SETEMBRO	16	8	0	-	-
ANO 2 2016/2017	OUTUBRO	16	11	0	-	-
	NOVEMBRO	51	29	0	-	-
	DEZEMBRO	82	39	0	-	-
	JANEIRO	12	11	0	-	-
	FEVEREIRO	61	34	0	-	-
	MARÇO	70	31	0	-	-
	ABRIL	30	22	0	-	-
	MAIO	28	19	0	-	-
	JUNHO	24	19	0	-	-
	JULHO	6	6	0	-	-
	AGOSTO	20	11	0	-	-
	SETEMBRO	22	15	0	-	-
ANO 3 2017/2018	OUTUBRO	29	23	0	-	-
	NOVEMBRO	31	21	0	-	-
	DEZEMBRO	88	43	0	-	-
	JANEIRO	148	51	0	-	-
	FEVEREIRO	69	42	0	-	-
	MARÇO	73	37	0	-	-
	ABRIL	37	24	0	-	-
	MAIO	29	22	0	-	-
	JUNHO	14	13	0	-	-
	JULHO	18	12	0	-	-
	AGOSTO	18	14	0	-	-
		Total	1324	771	19	14.35

❖ DENGUE VÍRUS

Durante o estudo foram encontrados 38 *pools* de mosquitos do gênero *Aedes* positivos para um dos sorotipos do vírus da dengue (DENV1-4); destes 37 *pools* eram compostos por mosquitos *Ae. aegypti* (8 *pools* de machos e 29 *pools* de fêmeas) e 1 *pool* composto por *Ae. albopictus* (fêmea).

Dos 37 *pools* de mosquitos *Ae. aegypti*, 9 foram positivos para DENV1 (7 fêmeas e 2 machos), 1 positiva para DENV2 (macho), 2 positivos para DENV1/2 (ambas de machos) e 25 positivos para DENV4 (21 fêmeas e 4 machos). E o *pool* de *Ae. albopictus* foi positivo para DENV4.

As amostras positivas para DENV1, DENV2 e DENV1/2 foram encontradas em amostras coletadas entre os anos de 2015 e 2016. Já as amostras positivas para DENV4 foram encontradas em amostras coletadas entre os anos de 2016 e 2018. Nenhuma das amostras coletadas foi positiva para DENV3.

No período do estudo, o município de SJRP notificou aproximadamente 73 mil casos de dengue. Em 2015 mais de 22 mil casos foram notificados no município e na Vila Toninho foram registrados 519 casos confirmados para a doença. Em 2016, SJRP notificou aproximadamente 16 mil casos de dengue e a Vila Toninho registrou 318 casos da doença. 2017 foi o ano com o menor registro de casos da doença durante o período do estudo, notificando 598 casos, sendo que neste ano a Vila Toninho registrou 13 casos da doença. Em 2018, o município de SJRP notificou mais de um mil casos de dengue e em 2019 foram notificados a maior quantidade de casos positivos da doença sendo mais de 33 mil

notificações. Para os anos de 2018 e 2019, nós não conseguimos as informações de registros e notificações de casos de dengue na Vila Toninho.

Foram construídos mapas temáticos (figura 28) para a apresentação da dispersão espaço-temporal do DENV 1-4 na Vila Toninho, SJRP, durante o período do estudo. Neles podemos ver os locais com a maior concentração de mosquitos positivos e também podemos ver a dispersão dos casos humanos de dengue dentro do bairro (figura 27).

Com relação aos casos humanos, percebemos que a dispersão viral ocorre de maneira uniforme, por toda área do bairro. Essa uniformidade na dispersão é percebida, principalmente, no ano de 2015 e 2016, que são anos em que aconteceram as epidemias e que os números de casos sofreram um grande aumento.

Com relação aos mosquitos positivos para dengue coletados no bairro, podemos ver que existem locais no bairro, em que há uma maior ocorrência de mosquitos positivos. Estes locais podem ser considerados como possíveis “*hotspots*” para a transmissão viral.

Podemos perceber também uma correlação entre a ocorrência de mosquitos e casos positivos para dengue. Nos anos de 2015 e 2016, que foram anos com uma incidência alta de casos de dengue em moradores do bairro, também encontramos uma maior frequência de mosquitos positivos. Enquanto nos anos em que há uma diminuição progressiva dos casos de dengue na área, o mesmo ocorre com a positividade dos mosquitos.

Com relação aos mosquitos coletados no ano de 2019, não foi possível a testagem deles através das técnicas de biologia molecular, portanto, não temos os resultados para uma possível comparação entre os casos e os mosquitos.

Abaixo apresentamos os mapas temáticos dos casos de dengue notificados e divididos por ano de notificação e também os mapas temáticos dos mosquitos, este último dividido por mês de coleta. Como não tivemos acesso aos bancos de dados de 2018 e 2019, apresentamos as informações relativas aos casos notificados entre 2015 e 2017.

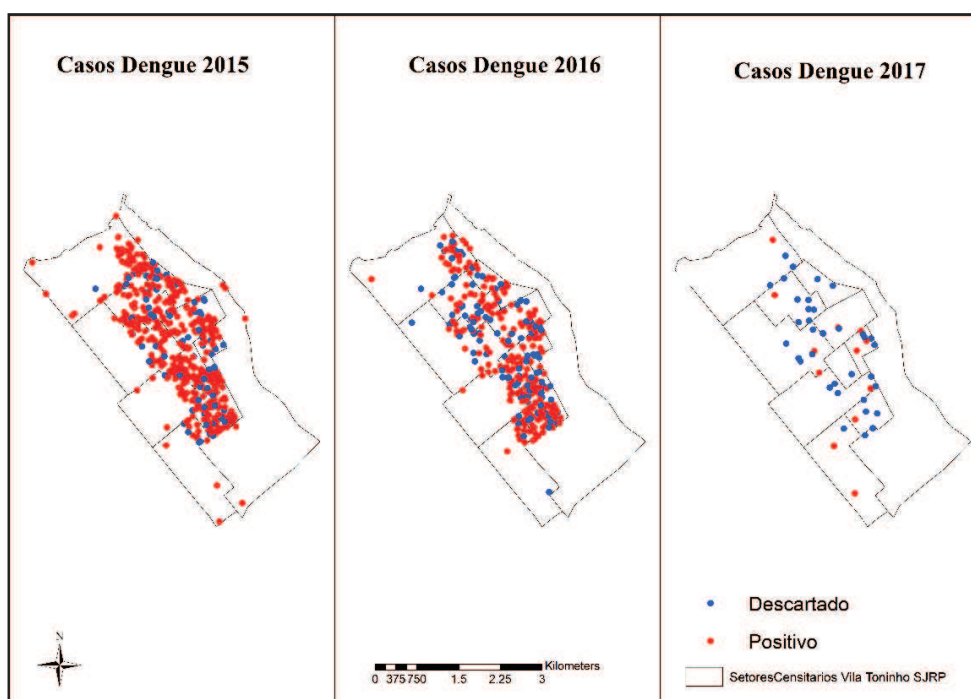


Figura 27: Casos de Suspeitos e Confirmados de Dengue, notificados na Vila Toninho, SJRP entre 2015 e 2017.

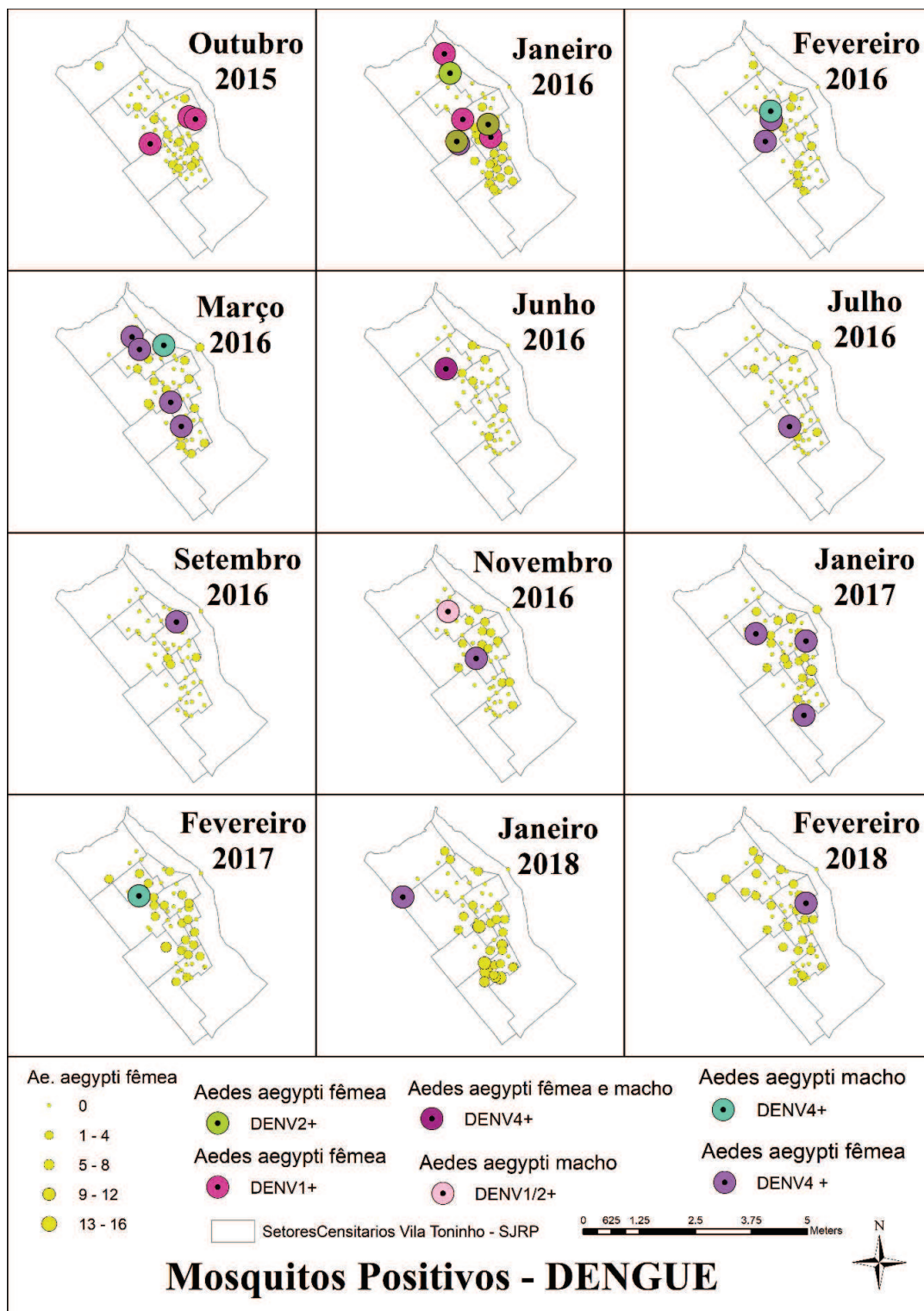


Figura 28: Mapa Temático mosquitos positivos para DENV (1-4), Vila Toninho, SJRP

Calculamos o MIR/*Ae. aegypti* para DENV para cada um dos meses do estudo (entre 2015 e 2016), os valores de MIR obtidos variaram entre 0.76 e 5.29. O maior valor da taxa de infecção DENV em mosquitos *Ae. aegypti* foi obtido no mês de janeiro/2016, acompanhando os resultados dos *pools* positivos.

Tabela 12: Taxa de infecção (MIR) para DENV 1-4 em mosquitos *Ae. aegypti* durante o período do estudo.

	Período	Mosquitos Coletados	Amostras (pools)*	Amostras Positivas**	Sorotipo DENV ***	MIR	Proporção de Amostras Positivas
ANO 1 2015/2016	OUTUBRO	21	19	3	DENV1 (3)	2.27	0.14
	NOVEMBRO	45	26	0	-	-	-
	DEZEMBRO	70	34	0	-	-	-
	JANEIRO	76	40	7	DENV1 (5) DENV2 (1) DENV4 (1)	5.29	0.09
	FEVEREIRO	27	18	3	DENV4 (3)	2.27	0.11
	MARÇO	45	34	5	DENV4 (5)	3.78	0.11
	ABRIL	13	9	1	DENV4 (1)	0.76	0.08
	MAIO	13	13	0	-	-	-
	JUNHO	11	10	1	DENV4 (1)	0.76	0.09
	JULHO	9	9	0	-	-	-
	AGOSTO	2	2	1	DENV1 (1)	0.76	0.50
	SETEMBRO	16	8	1	DENV4 (1)	0.76	0.06
	ANO 2 2016/2017	OUTUBRO	16	11	0	-	-
NOVEMBRO		51	29	3	DENV1/2 (2) DENV4 (1)	2.27	0.06
DEZEMBRO		82	39	0	-	-	-
JANEIRO		12	11	3	DENV4 (3)	2.27	0.25
FEVEREIRO		61	34	1	DENV4 (1)	0.76	0.02
MARÇO		70	31	0	-	-	-
ABRIL		30	22	0	-	-	-
MAIO		28	19	0	-	-	-
JUNHO		24	19	0	-	-	-
JULHO		6	6	0	-	-	-
AGOSTO		20	11	0	-	-	-
SETEMBRO		22	15	0	-	-	-
ANO 3 2017/2018		OUTUBRO	29	23	0	-	-
	NOVEMBRO	31	21	0	-	-	-
	DEZEMBRO	88	43	0	-	-	-
	JANEIRO	148	51	1	DENV4 (1)	0.76	0.01
	FEVEREIRO	69	42	1	DENV4 (1)	0.76	0.01
	MARÇO	73	37	0	-	-	-
	ABRIL	37	24	0	-	-	-
	MAIO	29	22	0	-	-	-
	JUNHO	14	13	0	-	-	-
	JULHO	18	12	0	-	-	-
	AGOSTO	18	14	0	-	-	-
	Total	1324	771	31	-	23.41	0.02

*Total de amostras (pools) testados através de técnicas de biologia molecular para a presença do DENV; **Quantidade de amostras (pools) positivos para DENV; ***Sorotipo do DENV encontrado em cada amostra positiva, os valores apresentados entre parênteses é a quantidade de pools positivos para determinado sorotipo.

❖ FEBRE AMARELA

Onze amostras (*pools*) de mosquitos *Ae. aegypti* coletados durante o estudo, foram positivas para YFV; destes 7 *pools* eram compostos por fêmeas e 4 *pools* por machos. Os mosquitos foram coletados em dezembro/2015, janeiro/2016, maio/2017, fevereiro/2018 e março/2018.

No mesmo período, não foi registrada nenhuma notificação de casos suspeito de febre amarela em moradores de SJRP. Com relação, às epizootias foram encontrados três exemplares positivos para YFV entre os anos de 2015 e 2019 (2016 - 1/3 e 2018 - 2/3).

Todas as amostras positivas para YFV foram isoladas em células C636 e Vero E6, submetidas ao sequenciamento do RNA viral pelo método de Sanger. Também foram realizadas a técnica de imunofluorescência e o PCR para diferenciação da cepa silvestre e vacinal de YFV.

➤ SEQUENCIAMENTO DAS AMOSTRAS POSITIVAS PARA YFV

Todas as amostras positivas para YFV foram sequenciadas para confirmação da infecção; o sequenciamento funcionou em sete das 11 amostras (452, 686, 688, 690, 693, 694 e 712). As seqüências obtidas são apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13: Sequências obtidas pelo método de Sanger, a partir das amostras 452, 686, 688, 690, 693 e 712 positivas para YFV, oriundas de mosquitos *Ae. aegypti* coletados na Vila Toninho, SJRP, entre 2015 e 2018.

Amostra	Primer	Sequência	Sequência Similar - GenBank ID
452	FGI	GCCTGGGAGCCTGCAGCAGTGCATTTACTGTGAACCAACATCCCGCCTCTGATGAGGAGAAATGAGGCCGAAACTGGGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGTCATCCTCCTATTTGGGACACGAGTGTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACA AAGAGGCCATAGAAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAACTCTGAGTACATGACCTCTGGTCTTCTGAAAATATTCCTCTGT	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 95.50% GenBank: MK166780.1
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 95.05% GenBank: MK166779.1
452	YFV	TAAACTTCTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGTCCAAAAGGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTTTTCGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTATTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTGAGGACATCTCATGTGTGGAGTCTTGAGGAAATCTCAAGTGTGGAGGTCITGAAGACA	Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds 94.91% GenBank: AF052441.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 94.44% GenBank: MN119486.1
686	YFV	TTCCTTAAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGCTCACAATGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 97.01% GenBank: MK166780.1
			Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds 95.77% GenBank: AF052441.1
686	YFV	TTCCTTAAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGCTCACAATGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 95.31% GenBank: MN119486.1
			Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds 95.77% GenBank: AF052441.1
688	FGI	GTCTGAGAGCCCGGGCATGTACATTTACTGTGACCAACATCCCCTCTGATGAGGAGATCTTGGACCAACTGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGCTTCTCCCAATTGGGACACGCAAGTGTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAAGGCCATAGAAAGAAAGGGTTTCTCAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTGGTCTTCTGAAA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 93.27% GenBank: MK166779.1
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 100% GenBank: MK166779.1
688	YFV	ATACCCCTCTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGTCCAAATGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds 98.63% GenBank: AF052441.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 98.17% GenBank: MN119486.1
690	FGI	GGCCTTGGGAGCCGAGGCAATGTACATTTACTGTGACCAACATCCCCTCTGATGAGGAGAAATGAGCGCTCCAACTGGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGTCATCTCCCAATTGGGACACGCAAGTGTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAAGAGGCCATAGAAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTGGTCTTCTGAAA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 98.64% GenBank: MK166780.1
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 98.19% GenBank: MK166779.1
690	YFV	AATCCATCTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGAGCATCAATTTGTGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTCTCTCAATAAGGAAGCCTCATCTCTCATCAAGAGGCGGGATGTTGGTITAGAATAAACTTATGCTTCTCCAAACAAAAAAATCTAAGTGTGGAGTTCCTTGA GAAAAAA	YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 87.35% GenBank: MN119486.1
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 87.35% GenBank: MK166780.1
693	FGI	TAAACCTTCTTTCCTCTCTGGAAGGTCAAATTTACTGTGAAACCCAAACATCCCCGCTCTGATGAGGAGACTCTTAAAAAAGAGTGAAGGAGTACGCTGGAGGCTGACGCTCTCCCTTTCCTCAATGGGACACGCAAGTGTGAGACAGACAGGACCCCTTGGTCAAGAGACCAATAAAGAAAGTTTTTATAAAAAATGATAATGACTTTGGCTCTGAAA	Yellow fever virus strain FNV-IP, complete genome GenBank: MH44795.1 83.53%
			Yellow fever virus strain FNV-Yale, complete genome GenBank: MH44797.1 83.53%
693	YFV	AATGGCCGTGTAAGTCTTGTACTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGAACAATTTGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCTGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 96.45% GenBank: MK166780.1
			Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds 95.22% GenBank: AF052441.1
693	YFV	AATGGCCGTGTAAGTCTTGTACTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGAACAATTTGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCTGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 94.74% GenBank: MN119486.1
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 99.53% GenBank: MK166780.1
694	FGI	GTCTTGAACCCGAGCATGTACATTTACTGTGAAACCAACATCCCCTCTGATGAGGAGAAATGAGGCTCCAACTGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGTCATCTCCCAATTGGGACACGCAAGTGTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAA GAGGCCATAGAAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTTGGTCTTCTGAAA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 99.07% GenBank: MK166779.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 98.59% GenBank: MN119486.1
694	YFV	GAAATCTTCTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGAACCAATTTGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 99.05% GenBank: MK166780.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 97.30% GenBank: MN119486.1
694	YFV	GAAATCTTCTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGCGTGAACCAATTTGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTCCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGCGGGCTCCAGACACGTAGTACATCTCATGTGTGGAGTTCCTTGA	Yellow fever virus clone HONG5 polyprotein gene, partial cds GenBank: AF052441.1 97.75%
			Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 93.24% GenBank: MK166780.1
712	FGI	GTCTGGGGCCCGGAGCAATGTACATTTACTGTGAAACCAACATCCCCTCTGATGAGGAGAAACCTTCAAGTAAITCTGAAAAGTGACCCCTGGAGGCTGACGCTTCTCCCAATTGGGACACGCAAGTGTGAGACAGACAAGGGACCCCTGGACAAAGAGGCCATAGAAAGAAAGGGTTGAGAGGATAAAATCTGAGTACATGACCTCTTGGTCTTCTGAAA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 3005 non-structural protein 5 gene, partial cds 92.79% GenBank: MK166779.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 92.31% GenBank: MN119486.1
712	YFV	TTTTCTCTTCAACCCCTTCTCTATGGCCCTTTGTCCAGGGTCCCTTGTCTGTCTCAACACTGGCAAAAAATAAGGAGGATGACGTACGCTCCAGGGTCACTTTTCAGTTGGACGCTCATCTCTCATCAGGAGGCGGGATGTTGGTTCACAGTAAATGTGACATTGCTGTTTTCTCTCACTATAATCTCATGTGTGGAGTCTTAA	Yellow fever virus isolate UFJ YFV 2155 non-structural protein 5 gene, partial cds 90.43% GenBank: MK166780.1
			YFV replicon vector clone pCMV-YFV_GFP-NS1(mutGFP_NS4A), complete sequence 90.43% GenBank: MN119486.1

➤ **IMUNOFLORESCENCIA**

Das onze amostras positivas para a febre amarela, somente em uma, conseguimos obter êxito com a técnica de imunofluorescência (amostra: 452). As imagens obtidas com a leitura das lâminas são apresentadas nos quadros abaixo.

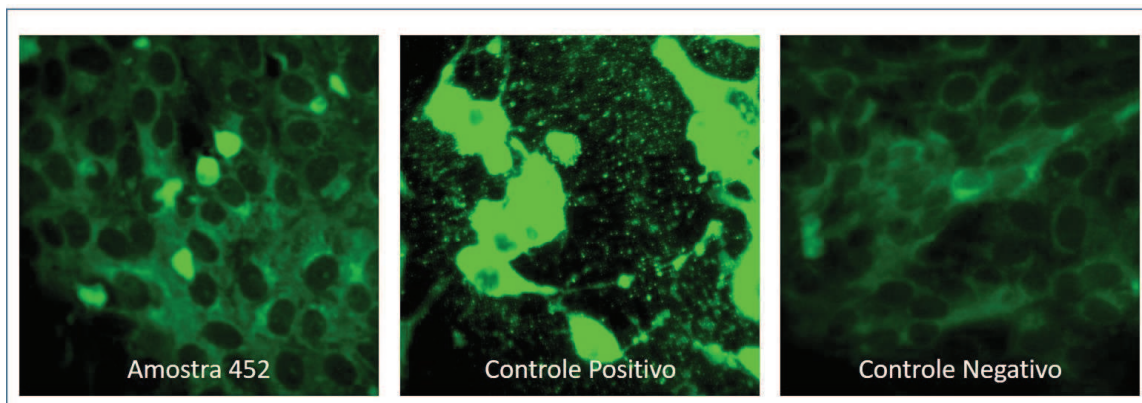


Figura 29: Resultados obtido pela técnica de imunofluorescência realizadas nas amostras positivas para febre amarela nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP.

➤ **PCR CEPA VACINAL/CEPA SILVESTRE DE FEBRE AMARELA**

A amostra 452 foi submetida ao PCR de diferenciação entre a cepa vacinal e silvestre de febre amarela. Tanto a amostra quanto o controle positivo, foram colocados em duplicata na reação para diminuição de possíveis erros de manuseio. Os resultados foram visualizados em gel de agarose 1%, a imagem do gel é apresentada abaixo, onde é possível ver as bandas do controle positivo e da amostra em alturas distintas.

Uma amostra para ser considerada positiva para cepa vacinal deve apresentar banda em gel de agarose na altura de aproximadamente 674 pb, enquanto para ser considerada como positiva para uma cepa silvestre, a amostra deve apresentar banda com altura de aproximadamente 500 pb. A amostra 452 como podemos verificar na Figura abaixo apresenta uma banda mesmo que “fraca” em uma altura de aproximadamente 400 a 500 pb, enquanto a banda do controle positivo, que é proveniente de uma amostra sabidamente positiva para

cepa vacinal de YFV, apresenta banda na altura de aproximadamente 600 a 700 pb. O que nos leva a crer que esta amostra é positiva para YFV silvestre.

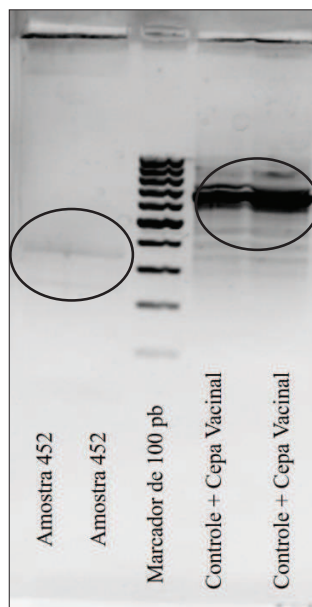


Figura 30: Gel de Agarose 1% com o resultado do PCR para diferenciação entre a cepa vacinal e a cepa silvestre para YFV.

➤ LOCALIZAÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DAS AMOSTRAS DE YFV

Os endereços das residências em que os mosquitos positivos para YFV foram coletados foram geocodificados e colocados em mapas temáticos para a visualização espaço temporal da dispersão viral no bairro Vila Toninho, SJRP. Os mapas temáticos são apresentados abaixo, nele podemos ver distribuição dos mosquitos positivos na área do estudo. Não foi possível geocodificar o endereço da amostra 611, por conta de erros no

preenchimento do boletim de campo, por este motivo, no mapa temático abaixo são apresentados apenas 10 pontos geocodificados das amostras.

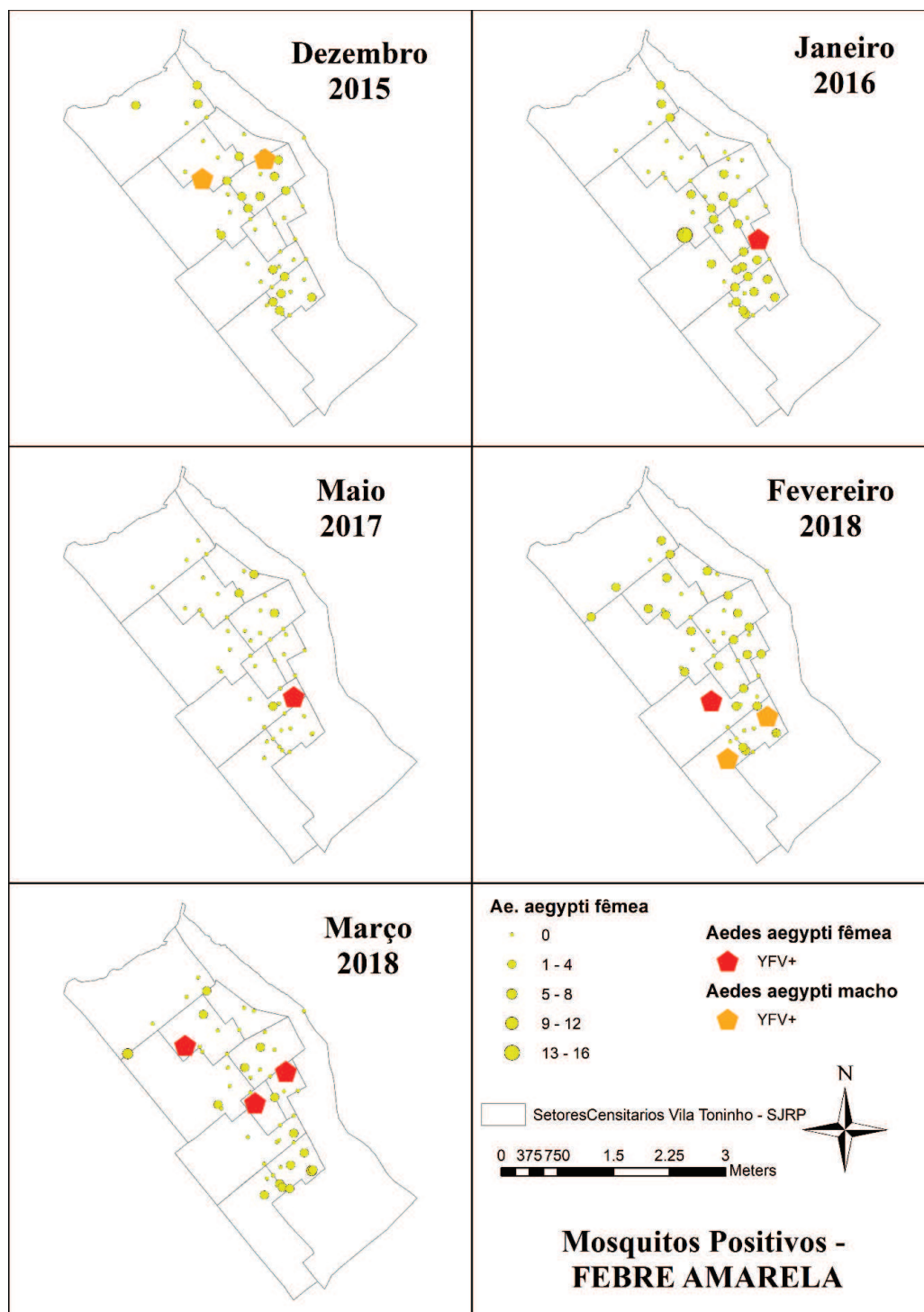


Figura 31: Mapa Temático mosquitos positivos para YFV, Vila Toninho, SJRP

➤ **MIR/YFV EM MOSQUITOS *Ae. aegypti***

Foram calculados os valores de MIR/YFV em mosquitos *Ae. aegypti*, para todos os meses com amostras (*pools*) positivas para o vírus. Abaixo apresentamos a Tabela 14 com todos os resultados obtidos. Percebemos que o maior valor de MIR encontrado corresponde ao mês com o maior número de *pools* positivos para o vírus - fevereiro/2018 MIR: 3.02.

Tabela 14: Taxa de infecção (MIR) para YFV em mosquitos *Ae. aegypti* durante o período do estudo.

	Período	Total de Mosquitos Coletados	Total de Amostras (pools)	Total de Amostras Positivas	MIR	Proporção de Amostras Positivas
ANO 1 2015/2016	OUTUBRO	21	19	0	-	-
	NOVEMBRO	45	26	0	-	-
	DEZEMBRO	70	34	2	1.51	0.02
	JANEIRO	76	40	1	0.76	0.01
	FEVEREIRO	27	18	0	-	-
	MARÇO	45	34	0	-	-
	ABRIL	13	9	0	-	-
	MAIO	13	13	0	-	-
	JUNHO	11	10	0	-	-
	JULHO	9	9	0	-	-
	AGOSTO	2	2	0	-	-
	SETEMBRO	16	8	0	-	-
ANO 2 2016/2017	OUTUBRO	16	11	0	-	-
	NOVEMBRO	51	29	0	-	-
	DEZEMBRO	82	39	0	-	-
	JANEIRO	12	11	0	-	-
	FEVEREIRO	61	34	0	-	-
	MARÇO	70	31	0	-	-
	ABRIL	30	22	0	-	-
	MAIO	28	19	1	0.76	0.04
	JUNHO	24	19	0	-	-
	JULHO	6	6	0	-	-
	AGOSTO	20	11	0	-	-
	SETEMBRO	22	15	0	-	-
ANO 3 2017/2018	OUTUBRO	29	23	0	-	-
	NOVEMBRO	31	21	0	-	-
	DEZEMBRO	88	43	0	-	-
	JANEIRO	148	51	0	-	-
	FEVEREIRO	69	42	4	3.02	0.06
	MARÇO	73	37	3	2.27	0.04
	ABRIL	37	24	0	-	-
	MAIO	29	22	0	-	-
	JUNHO	14	13	0	-	-
	JULHO	18	12	0	-	-
AGOSTO	18	14	0	-	-	
	Total	1324	771	11	8.31	0.01

❖ ZIKA VIRUS

Durante o estudo, o vírus que encontramos com maior frequência nos mosquitos coletados foi o ZIKV; um total de 107 *pools* positivos, provenientes de mosquitos do gênero *Aedes*, sendo 72 em mosquitos *Ae. aegypti* fêmeas, 34 em mosquitos *Ae. aegypti* macho e 1 *Ae. albopictus* fêmea. O ZIKV circulou na área durante todo o período do estudo, sendo encontrado entre os anos de 2015 e 2018.

Para que uma amostra fosse considerada como positiva, o Ct do PCR em tempo real deveria ser ≤ 37.5 . A Tabela 15 apresenta os valores de Cts das amostras consideradas positivas neste estudo.

Tabela 15: Cts obtidos do PCR em tempo real classificando as amostras como positivas para ZIKV.

Número Amostra	94	109	110	113	114	115	117	119	120	121
Data do Tubo	28/11/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016	14/12/2016
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	37.029	34.338	30.242	31.858	33.661	30.477	27.548	37.359	31.706	28.812
Número Amostra	122	124	151	160	161	163	164	169	204	206
Data do Tubo	14/12/2016	14/12/2016	22/02/2017	01/03/2017	01/03/2017	01/03/2017	01/03/2017	01/03/2017	18/12/2015	18/12/2015
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	32.274	32.361	35.173	36.889	36.479	31.87	36.77	11.225	37.509	37.286
Número Amostra	265	267	268	269	270	271	272	274	275	276
Data do Tubo	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	01/04/2016	26/04/2016
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	36.028	36.919	36.593	36.295	36.208	35.835	36.067	35.843	37.098	35.967
Número Amostra	277	279	280	281	282	283	284	289	295	302
Data do Tubo	26/04/2016	26/04/2016	26/04/2016	02/05/2016	02/05/2016	02/05/2016	02/05/2016	23/05/2016	17/05/2016	22/06/2016
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	36.987	37.139	36.389	35.495	37.419	36.004	35.715	36.768	37.332	36.901
Número Amostra	305	311	312	313	315	317	321	322	323	324
Data do Tubo	27/06/2016	27/07/2016	27/07/2016	27/07/2016	01/08/2016	01/08/2016	28/09/2016	28/09/2016	28/09/2016	28/09/2016
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	36.419	37.185	36.874	37.528	36.368	36.617	36.412	35.651	35.572	34.971
Número Amostra	325	326	329	330	331	332	333	334	335	336
Data do Tubo	28/09/2016	29/08/2016	19/10/2016	19/10/2016	19/10/2016	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	35.038	35.302	35.862	36.519	35.768	36.721	35.47	35.986	35.476	35.959
Número Amostra	337	338	339	340	342	345	346	347	351	353
Data do Tubo	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	24/01/2017	25/01/2017	25/01/2017
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	35.371	36.289	36.17	35.76	35.61	35.075	34.821	34.959	35.88	35.655
Número Amostra	429	460	465	467	468	469	471	475	476	501
Data do Tubo	26/04/2017	29/05/2017	28/06/2017	28/06/2017	28/06/2017	28/06/2017	03/07/2017	26/07/2017	26/07/2017	27/09/2017
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	37.366	37.112	36.45	35.952	35.235	36.569	36.698	37.017	36.813	32.359
Número Amostra	595	596	602	604	605	606	607	612	613	617
Data do Tubo	29/01/2018	29/01/2018	29/01/2018	29/01/2018	29/01/2018	29/01/2018	29/01/2018	21/02/2018	21/02/2018	21/02/2018
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	35.977	36.621	36.987	37.206	36.882	36.437	36.556	37.515	37.443	35.943
Número Amostra	618	619	622	623	625	684	698	699	701	702
Data do Tubo	21/02/2018	21/02/2018	21/02/2018	21/02/2018	21/02/2018	26/02/2018	13/03/2018	13/03/2018	13/03/2018	14/03/2018
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>
CT	37.035	37.31	37.05	36.672	36.859	36.37	36.918	36.927	36.397	36.946
Número Amostra	703	704	705	707	712	722	729	Variação dos Cts 11.225 a 37.528		
Data do Tubo	14/03/2018	14/03/2018	14/03/2018	16/03/2018	16/03/2018	20/03/2018	25/04/2018			
Espécie	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. aegypti</i>			
CT	36.028	36.292	36.526	36.826	36.309	37.436	36.535			

No mesmo período do estudo, foram notificados 457 casos de Zika em moradores de SJRP, sendo três em moradores da Vila Toninho. Apresentamos os mapas temáticos anuais da ocorrência de ZIKV na Vila Toninho. Como não tivemos acesso aos bancos de dados de 2018 e 2019, apresentamos as informações relativas aos casos notificados entre 2016 e 2017. Não houve nenhum caso notificado de Zika no ano de 2015 no município.

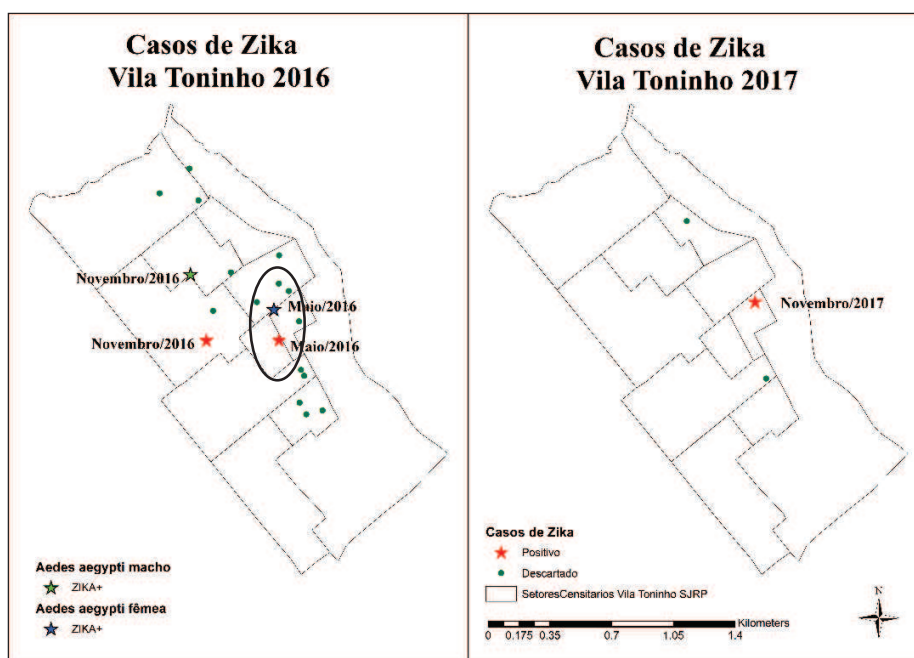


Figura 32: Mosquitos positivos e casos suspeitos e confirmados de ZIKV, notificados na Vila Toninho, SJRP, entre 2016 e 2017.

Na Figura 32 podemos ver a proximidade espacial entre a ocorrência de um caso humano positivo para ZIKV, representado no mapa pela estrela vermelha e um *pool* de mosquito *Ae. aegypti* fêmea positivo para ZIKV, representado no mapa pela estrela azul, no mesmo mês (maio/2016). Isso pode explicar a rápida dispersão do vírus pelo município, pois temos a confirmação da ocorrência do vírus tanto no vetor quanto no hospedeiro humano em um mesmo espaço geográfico.

Abaixo apresentamos os mapas temáticos (Figuras 33 e 34) com distribuição espaço-temporal dos mosquitos positivos para ZIKV coletados durante o estudo no bairro Vila Toninho, SJRP. Neles é possível visualizar que a circulação viral na área ocorre, de maneira uniforme por toda a área central do bairro. Também podemos ver a localização de alguns “*hotspots*”, ou seja, locais com aglomerações recorrentes de mosquitos positivos.

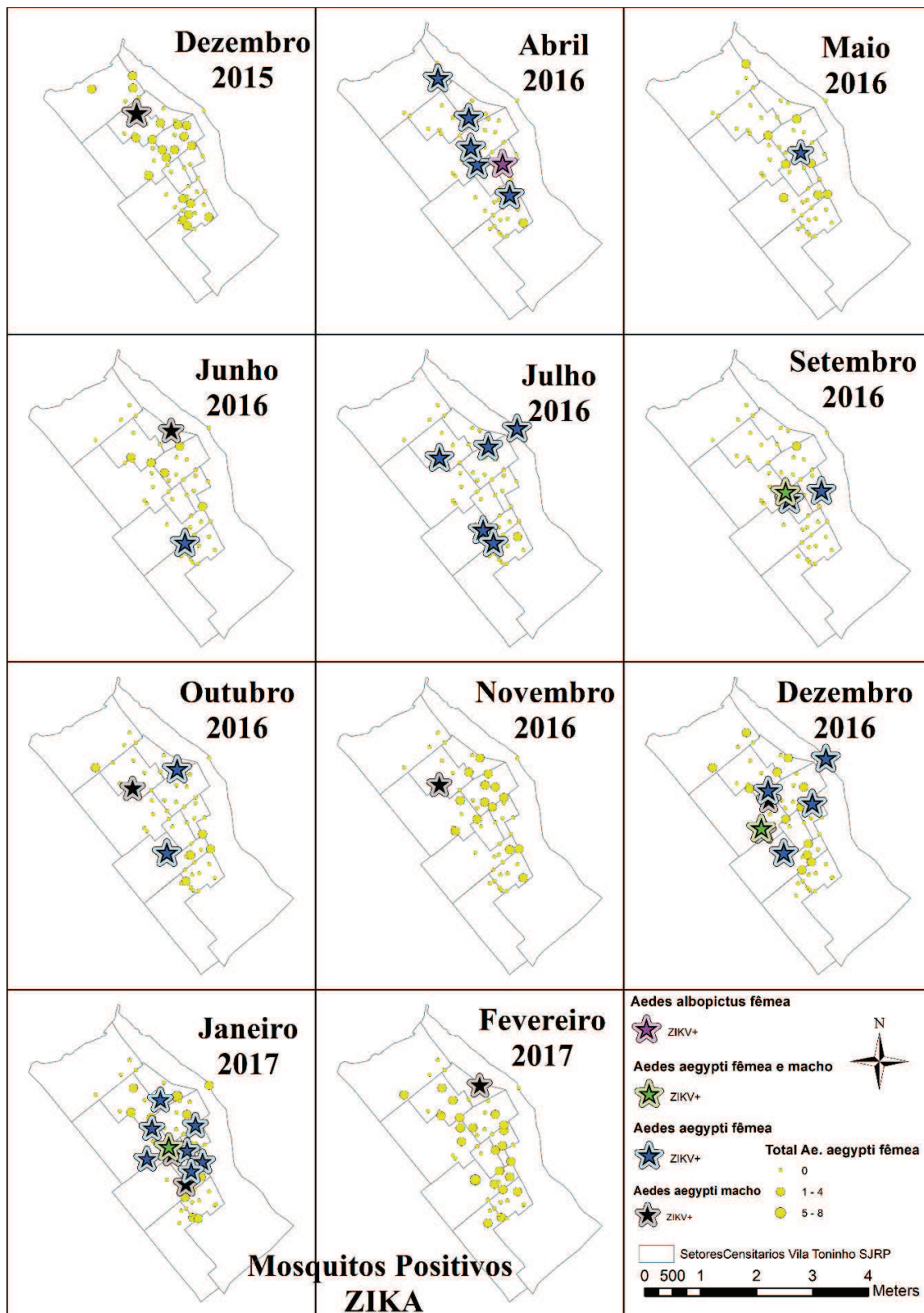


Figura 33: Mapa Temático mosquitos positivos para ZIKV (2015/2017) Vila Toninho, SJRP.

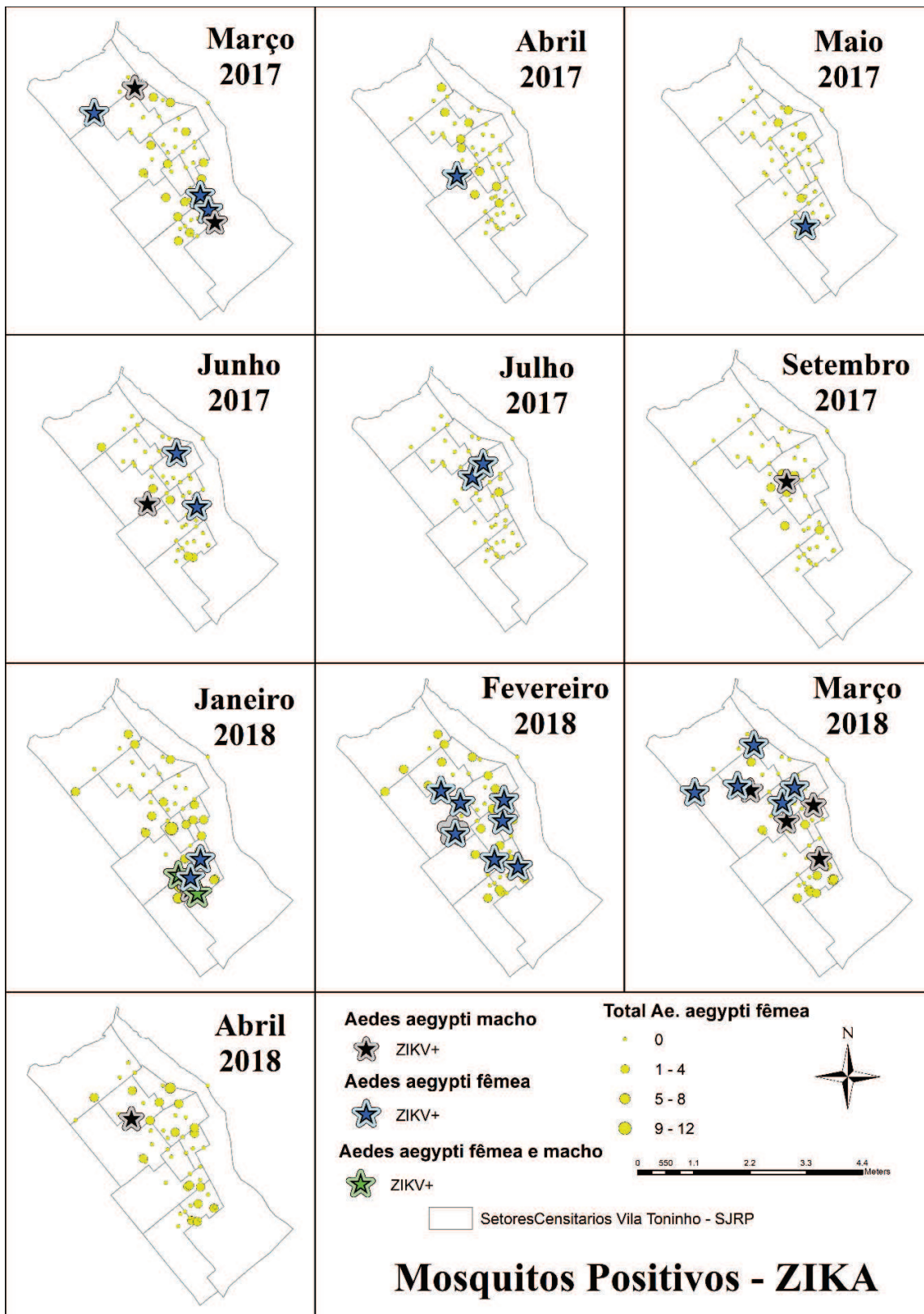


Figura 34: Mapa Temático mosquitos positivos para ZIKV (2017/2018) Vila Toninho, SJRP.

Tabela 16: Taxa de infecção para ZIKV em mosquitos *Ae. aegypti* durante o período do estudo

	Período	Total de Mosquitos Coletados	Total de Amostras (pools)	Total de Amostras Positivas	MIR	Proporção de Amostras Positivas
ANO 1 2015/2016	OUTUBRO	21	19	0	-	-
	NOVEMBRO	45	26	0	-	-
	DEZEMBRO	70	34	2	1.51	0.03
	JANEIRO	76	40	0	-	-
	FEVEREIRO	27	18	0	-	-
	MARÇO	45	34	9	6.80	0.20
	ABRIL	13	9	7	5.29	0.54
	MAIO	13	13	2	1.51	0.15
	JUNHO	11	10	2	1.51	0.18
	JULHO	9	9	5	3.78	0.56
	AGOSTO	2	2	1	0.76	0.50
	SETEMBRO	16	8	5	3.78	0.31
ANO 2 2016/2017	OUTUBRO	16	11	3	2.27	0.19
	NOVEMBRO	51	29	1	0.76	0.02
	DEZEMBRO	82	39	11	8.31	0.13
	JANEIRO	12	11	15	11.33	1.25
	FEVEREIRO	61	34	6	4.53	0.10
	MARÇO	70	31	0	-	-
	ABRIL	30	22	1	0.76	0.03
	MAIO	28	19	1	0.76	0.04
	JUNHO	24	19	5	3.78	0.21
	JULHO	6	6	2	1.51	0.33
	AGOSTO	20	11	0	-	-
	SETEMBRO	22	15	1	0.76	0.05
ANO 3 2017/2018	OUTUBRO	29	23	0	-	-
	NOVEMBRO	31	21	0	-	-
	DEZEMBRO	88	43	0	-	-
	JANEIRO	148	51	7	5.29	0.05
	FEVEREIRO	69	42	9	6.80	0.13
	MARÇO	73	37	10	7.55	0.14
	ABRIL	37	24	1	0.76	0.03
	MAIO	29	22	0	-	-
	JUNHO	14	13	0	-	-
	JULHO	18	12	0	-	-
	AGOSTO	18	14	0	-	-
		Total	1324	771	106	80.06

A Tabela acima mostra os resultados de MIR/ZIKV para cada mês do estudo que apresentou amostras (*pools*) de mosquitos positivos para ZIKV. Os valores variaram entre 0.76 (nos meses com apenas 1 *pool* positivo) e 11.33 (no mês de janeiro/2017, com 15 *pools* positivos).

✓ **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DAS ARBOVIROSES**

Para ilustrar a distribuição espaço temporal das arboviroses encontradas nos mosquitos coletados no bairro Vila Toninho, SJRP, construímos um mapa temático apresentando simultaneamente a ocorrência dos vírus CHIKV, DENV (1-4), YFV e ZIKV, no período do estudo.

Podemos ver no mapa que as arboviroses ocorrem de maneira simultânea no tempo e no espaço, temos uma maior frequência em mosquitos infectados pelo ZIKV, porém as demais arboviroses também são encontradas ao longo do tempo. É possível perceber também que a região central do bairro apresenta a maior incidência de mosquitos positivos para todas as arboviroses.

Observando o mapa temático podemos perceber que diferentes vírus foram encontrados simultaneamente na mesma residência, o que pode indicar uma possível co-infecção em determinados *pools*. No total foram encontrados 8 *pools* nesta situação.

Na Tabela 17 apresentamos os resultados de todas amostras (*pools*) com resultados positivos para mais de um vírus, sugerindo possíveis co-infecção viral nos mosquitos *Ae. aegypti*. Também, apresentamos as informações relativas a cada uma das amostras como data e local de coleta, quantidade e espécie de mosquitos coletados e vírus encontrados.

Tabela 17: Amostras positivas para mais de um vírus, possível co-infecção viral nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP, entre os anos de 2015 e 2018.

AMOSTRA	DATA	LOCAL COLETA		COMPOSIÇÃO DO POOL		ESPÉCIE	CO-INFECÇÃO	PROTOCOLO
93	28/11/2016	A29	ROSA	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>	DENV1/2	BRONZONI (DENV)
95	28/11/2016	A25	ROSA	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>	DENV1/2	BRONZONI (DENV)
268	01/04/2016	A24	ROSA	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)
271	01/04/2016	A29	ROSA	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)
272	01/04/2016	A25	ROSA	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)
312	27/07/2016	A14	VERDE	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)
342	24/01/2017	A07	VERDE	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)
613	21/02/2018	A07	VERDE	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	D4/ZIKV	BRONZONI (DENV) LANCIOTTI (ZIKV)

Estas amostras, compostas por apenas um mosquito, podem indicar a existência de exemplares, tanto fêmeas quanto machos, co-infectados para diferentes vírus. Ou então, como uma segunda alternativa para interpretação destes resultados, poderíamos considerar que os mesmos, podem ter sido encontrados devido a uma reação cruzada entre flavivirus a partir dos protocolos de identificação viral usados neste estudo. Como não obtivemos sucesso no sequenciamento destas amostras, outros protocolos para diferenciação viral entre flavivirus são necessários para a confirmação de uma possível co-infecção de flavivirus nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP, durante a realização deste estudo.

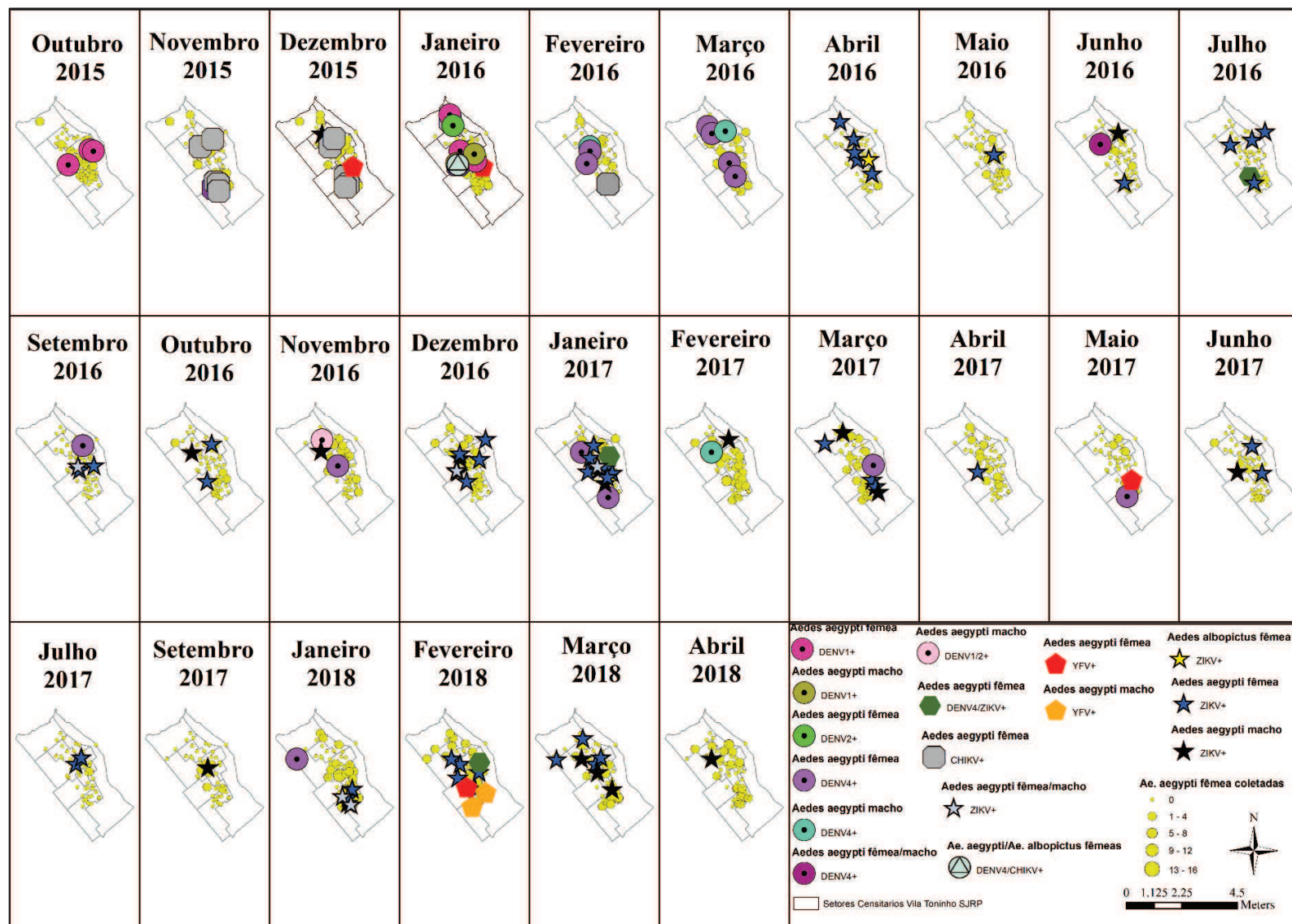


Figura 35: Mapa temático da dispersão viral dos arbovírus CHIKV, DENV 1-4, YFV e ZIKV na Vila Toninho, SJRP.

✓ **CASOS HUMANOS SUSPEITOS**

Foram obtidos, junto a Vigilância Epidemiológica do município de SJRP, informações sobre as notificações de Chikungunya, Dengue e Zika, registradas entre os anos de 2015 e 2017. Estas informações foram utilizadas para a construção dos mapas temáticos que mostram a distribuição espaço-temporal destas arboviroses em moradores do bairro Vila Toninho, SJRP.

Durante o período de 2015 a 2017 foram notificados 1.112 casos suspeitos de DENV (850 positivos e 262 descartados), 18 notificações de casos suspeitos de ZIKV (três positivos e 15 descartados) e três notificações de casos suspeitos de CHIKV (todos foram descartados).

Tabela 18: Casos notificados de CHIKV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.

Casos de Chikungunya Vila Toninho 2015/2017						
Mês	2015		2016		2017	
	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado
Jan	-	-	0	0	-	-
Fev	-	-	0	1	-	-
Mar	-	-	0	0	-	-
Abr	-	-	0	0	-	-
Mai	-	-	0	0	-	-
Jun	-	-	0	1	-	-
Jul	-	-	0	0	-	-
Ago	-	-	0	0	-	-
Set	-	-	0	0	-	-
Out	-	-	0	0	-	-
Nov	-	-	0	0	-	-
Dez	-	-	0	1	-	-
Total:	0	0	0	3	0	0

Tabela 19: Casos notificados de DENV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.

Casos de Dengue Vila Toninho 2015/2017						
Mês	2015		2016		2017	
	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado
Jan	6	4	32	13	3	1
Fev	21	12	81	34	4	7
Mar	78	11	101	43	1	5
Abr	153	17	67	11	1	1
Mai	205	19	24	12	0	3
Jun	45	7	5	2	0	0
Jul	5	6	1	2	0	0
Ago	2	1	0	1	0	2
Set	0	3	2	2	0	1
Out	0	2	1	4	2	6
Nov	1	8	2	6	0	3
Dez	3	6	2	4	2	1
Total:	519	96	318	134	13	30

Tabela 20: Casos notificados de ZIKV na Vila Toninho, SJRP entre os anos de 2015 e 2017.

Casos de Zika Vila Toninho 2015/2017						
Mês	2015		2016		2017	
	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado	Positivo	Descartado
Jan	-	-	0	0	0	0
Fev	-	-	0	2	0	0
Mar	-	-	0	4	0	0
Abr	-	-	0	3	0	0
Mai	-	-	1	2	0	0
Jun	-	-	0	1	0	0
Jul	-	-	0	0	0	0
Ago	-	-	0	0	0	0
Set	-	-	0	1	0	1
Out	-	-	0	0	0	0
Nov	-	-	1	0	1	1
Dez	-	-	0	0	0	0
Total:	0	0	2	13	1	2

A maior quantidade de casos notificados ocorre sempre entre os meses de fevereiro e maio, o que nos leva a considerar as variações climáticas como uma variável importante para a manutenção dos casos no município de SJRP. Visto que estes meses apresentam temperaturas mais elevadas e o clima mais úmido, com o início do outono quando a temperatura tende a baixar, os casos também baixam gradativamente acompanhados das variações climáticas.

4. DISCUSSÃO

Um ponto chave para o entendimento da dinâmica de transmissão de doenças transmitidas por mosquitos, é o estudo e amplo conhecimento sobre a infestação vetorial da área. Neste estudo, trabalhamos com a investigação da circulação dos vírus CHIKV, DENV (1-4), YFV e ZIKV, ambos transmitidos ao homem pela picada da fêmea de mosquitos do gênero *Aedes*. Para tanto, fizemos um levantamento da infestação vetorial do bairro Vila Toninho, SJRP, tanto de larvas quanto de adultos, para mensurar a infestação e, assim, tentar associar espaço-temporalmente a infestação vetorial, os indicadores entomológicos e a ocorrência de casos destas doenças na área.

Quando observamos os achados deste estudo, sobre a infestação vetorial, percebemos que o bairro apresenta uma infestação de mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex*, e que ambas espécies foram encontradas durante todo o período do estudo, sendo que os meses mais quentes e úmidos, foram os meses em que coletamos a maior quantidade de exemplares. Estes achados vêm de encontro aos resultados encontrados por Costa & Calado,⁽⁸¹⁾ em estudo realizado no município de Barreiras-BA, onde foi realizado um levantamento larvário do município durante doze meses e os resultados indicaram que nos meses mais chuvosos e quentes houve uma infestação maior das formas imaturas de mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex*.

Diversos autores,⁽⁸¹⁻⁸⁶⁾ destacam a importância da utilização de variáveis climáticas como fator de influência aos indicadores entomológicos, pois as mesmas podem ser determinantes na distribuição e dinâmica populacional dos mosquitos *Ae. aegypti* e, como consequência, influenciam no aumento e diminuição dos casos de arboviroses em humanos. Monaghan e colaboradores,⁽⁸⁵⁾ salientam que em determinadas regiões, o padrão de ocorrência do *Ae. aegypti* e a exposição da população humana a eles se deve às mudanças climáticas. Neste estudo, utilizamos as informações sobre as variáveis climáticas, constantes no site do

Ciiagro on-line ⁽⁶⁷⁾, para mensurar as variações de clima no município de SJRP e a influências das mesmas sob a infestação vetorial e ao número de casos notificados na Vila Toninho. Nossos resultados foram similares aos obtidos nos estudos descritos acima e demonstram a existência de uma influência das variáveis climáticas sob a infestação vetorial. Fica evidente que há um aumento na infestação vetorial durante os meses das estações primavera e verão, que se apresentam como os meses mais quentes e úmidos do ano e, conseqüentemente, na notificação de casos suspeitos das arboviroses. Enquanto que nos meses do outono e principalmente nos meses do inverno, que são os meses mais frios e secos, ocorre uma diminuição na infestação vetorial e como conseqüência há uma diminuição nos casos humanos notificados. Donalísio & Glasser ⁽⁵⁰⁾ demonstram em seu estudo que as condições climáticas estão diretamente relacionadas com a ocorrência de dengue. Os autores citam a associação da estação chuvosa e o aumento da temperatura com a ocorrência de grandes epidemias no Sudeste Asiático (1954-58) e nas Américas (1980-90).

Como o controle do vetor é uma das melhores alternativas para se conter o avanço de doenças como a Dengue, Zika e Chikungunya, algumas estratégias são utilizadas atualmente para a obtenção dos indicadores entomológicos para a verificação de áreas com maiores valores de infestação e, conseqüentemente, com maior necessidade de trabalho de controle vetorial, por parte das autoridades de saúde da localidade. Diante deste panorama, medidas de pesquisa larvária direta, como - armadilhas de ovos e larvas e captura de adultos são alternativas para o trabalho das equipes de campo. Em grande parte dos países endêmicos para arboviroses, incluindo o Brasil, o Índice de Breteau, Predial e de Recipientes são as metodologias mais usadas para a mensuração da infestação vetorial das áreas, porém estes métodos não consideram a produtividade de mosquitos por criadouro. Por outro lado, as metodologias que consideram a

produtividade de mosquitos, são indicadores entomológicos que descrevem informações epidemiológicas importantes para o controle do vetor, entre elas podemos citar: o número médio de ovos por armadilha de oviposição, número de larvas e/ou pupas por 100 casas inspecionadas, número de criadouros por 1000 pessoas, porém são metodologias de difícil operacionalização. (37,39-41,50, 87)

Indicadores entomológicos de adultos descrevem a realidade local e podem ser utilizados para prever possíveis epidemias de doenças; por esse motivo são considerados mais eficientes do que os indicadores entomológicos de formas imaturas. (39,44,88) Oliveira e colaboradores (86) utilizaram informações contidas em banco de dados do município de Fortaleza/CE, entre os anos de 2001 e 2012, para realizar um levantamento dos indicadores de infestação predial de mosquitos *Ae. aegypti* e ,assim, poder verificar a correlação entre a ocorrência de epidemias de dengue no município com altos valores obtidos deste indicador e o que os resultados apresentados foram que mesmo com valores de infestação predial baixos, as epidemias ocorreram, sugerindo então que os indicadores de formas imaturas não são ideais para a previsão da ocorrência de epidemias em uma localidade.

Na Vila Toninho, SJRP, nossa equipe de campo buscou realizar um levantamento das formas imaturas do vetor e do vetor adulto para assim podermos calcular os indicadores, tanto os larvários quanto os de adultos e, assim, compará-los com a ocorrência de epidemias no bairro e também para verificar o custo operacional e as dificuldades relativas à execução de cada uma das metodologias. Nossos resultados demonstram que os indicadores entomológicos larvários são mais trabalhosos e demandam de mais tempo e pessoal de campo para a sua realização. Enquanto os indicadores entomológicos de adultos demandam de uma equipe de campo reduzida e menos tempo para a cobertura de uma mesma área.

Nos últimos anos as técnicas de biologia molecular têm sido empregadas para o diagnóstico de diferentes doenças infecciosas, como por exemplo, sua utilização no diagnóstico do DENV, ZIKV e CHIKV. ⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾ É uma técnica simples e eficiente para o diagnóstico e permite a identificação da circulação viral, podendo ser utilizada para a detecção viral em amostras de diferentes tipos, tais como: soro, tecidos, cultura de células e *pools* de larvas e adultos de mosquitos. ^(89,90,91) Neste estudo, as técnicas de biologia molecular foram empregadas para a detecção dos vírus CHIKV, DENV, YFV e ZIKV em amostras de mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. No decorrer do estudo, foram encontrados mosquitos positivos para todos os vírus estudados.

A rápida dispersão global do ZIKV nos últimos três anos pode ter sido facilitada, por grande parte da população ser imunologicamente naïve para o vírus, além de vários outros fatores, dentre os quais podemos destacar, a rápida movimentação humana através dos meios de transportes modernos, urbanização descontrolada, aos ineficazes meios de controle do vetor, além da dispersão antropofílica do *Ae. aegypti*. ⁽¹³⁾ Considerando-se que a introdução do ZIKV no município de SJRP ocorreu no ano de 2016, ⁽³⁴⁾ e que neste momento, a população se apresentava susceptível a este vírus, esta situação acabou por facilitar a difusão da doença. Portanto, podemos considerar que o período deste estudo foi ideal para a verificação da transmissão e ocorrência da doença na área, devido à introdução de um novo vírus. Nosso estudo mostrou uma predominância do ZIKV nos *pools* de mosquitos analisados; 14,25% deles apresentaram positividade para o ZIKV.

O ZIKV apresenta dois ciclos distintos de transmissão: o ciclo silvático e o ciclo urbano, ^(92,93) sendo que o último envolve mosquitos do gênero *Aedes*, no Brasil, as espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. O *Ae. aegypti* é considerado seu vetor primário e é associado às

epidemias do vírus pelo mundo, enquanto o *Ae. albopictus* é considerado vetor secundário para ZIKV, sendo envolvido na transmissão do vírus no Gabão e em Singapura. ^(94,95) Os resultados obtidos no presente estudo, mostram a ocorrência de ZIKV em mosquitos do gênero *Aedes*, tanto em *Ae. aegypti* quanto em *Ae. albopictus*, dos 107 *pools* de mosquitos positivos para ZIKV; 106 eram compostos por mosquitos *Ae. aegypti* e um composto por *Ae. albopictus*, ficando evidente que no ciclo urbano do ZIKV no município de SJRP existem mosquitos de diferentes espécies infectados com o vírus, corroborando com os resultados encontrados nos estudos descritos acima, nos quais os autores salientam sobre a possibilidade de diferentes espécies de mosquitos do gênero *Aedes* transmitir o ZIKV na natureza.

O segundo arbovírus mais encontrado nos mosquitos coletados na Vila Toninho, SJRP, foi o DENV; ao todo foram 38 *pools* positivos para o vírus. Este resultado já era esperado no estudo, visto que o dengue causou, na última década, epidemias recorrentes no município, o que o classificou como endêmico para a doença. Encontramos uma positividade de aproximadamente 5% de *pools* positivos para DENV, em estudo realizado por Parra e colaboradores, ⁽⁶²⁾ no município de SJRP, os autores encontraram resultados semelhantes, com a positividade para DENV em mosquitos *Ae. aegypti*, em torno de 3% .

Semelhante ao que acontece com o ZIKV, o principal vetor para DENV são fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, mosquito considerado de comportamento antropofílico e habituado a viver em ambientes próximos aos humanos. ^(16,35,36) E como vetor secundário para a transmissão da doença, temos as fêmeas de mosquitos *Ae. albopictus* que durante o século XX, foi o considerado o responsável por epidemias de DENV em países da Ásia, como Japão e China. ⁽⁹⁷⁾ Em nosso estudo, encontramos 97,37% dos *pools* positivos para DENV compostos por mosquitos *Ae. aegypti* e 2,63% dos *pools* compostos por mosquitos *Ae. Albopictus*; essa

diferença de positividade pode estar ligada à quantidade de exemplares coletados de cada uma das espécies.

Apresentaram positividade para CHIKV, 21 *pools* testados; todos eles provenientes de mosquitos coletados entre outubro de 2015 e fevereiro de 2016, após este período nenhuma outra amostra apresentou resultado positivo para o vírus. De acordo com a Vigilância Epidemiológica do município de SJRP, em seus boletins on-line, ⁽⁶¹⁾ o primeiro caso confirmado de CHIKV foi notificado no ano de 2015, e a partir de então o vírus manteve-se no município, porém com uma quantidade bastante discreta de casos confirmados, não ultrapassando em nenhum dos anos seguintes a marca de 20 casos confirmados. ⁽⁶¹⁾

Mosquitos *Ae. albopictus* são considerados os principais vetores para CHIKV. Porém ambas espécies, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* podem transmitir o vírus. ^(16,35,36) Dos 21 *pools* positivos para CHIKV encontrados neste estudo, 19 *pools* eram compostos por mosquitos *Ae. aegypti* e 2 *pools* compostos por mosquitos *Ae. albopictus*, portanto, nossos resultados vêm de encontro com o que foi encontrado nos estudos citados acima, nos quais ,os mosquitos das duas principais espécies de vetores para CHIKV foram encontrados na natureza, positivos para o vírus.

Dos 751 *pools* de mosquitos analisados; 11 apresentaram positividade para YFV, todos compostos por mosquitos *Ae. aegypti*, tanto fêmeas quanto machos. Foram encontrados *pools* positivos para o vírus em todos os anos (2015/2018), sendo o ano de 2018 o ano com o maior número de registros de amostras positivas (7/11), todas as amostras positivas foram coletadas durante o verão, entre os meses de dezembro e março. Nenhum caso humano suspeito foi notificado pela Secretaria de Saúde do município SJRP no período. Três notificações de epizootias positivos para YFV foram registradas durante o período do estudo. ⁽⁶¹⁾

De acordo com o Boletim Epidemiológico de YFV do MS, ⁽²⁴⁾ há uma maior ocorrência de casos de febre amarela, seja em epizootias ou em casos de transmissão silvática em humanos, durante os meses mais quentes do ano, principalmente, entre os meses da primavera e do verão. No ano de 2020, o estado de São Paulo apresentou nos meses de janeiro e fevereiro o pico de ocorrência silvática da doença e essa situação já ocorre desde 2014, quando houve a re-emergência da transmissão silvática do YFV no estado e, desde então, ocorre um monitoramento constante. A realidade da circulação viral do YFV no município de SJRP, vem de encontro a realidade do estado, nesse estudo todas as amostras de mosquitos positivos foram encontradas em mosquitos coletados durante os verões dos três primeiros anos do estudo.

Diferentes autores ^(82,83,97,98) alertam sobre a possibilidade de reurbanização da febre amarela no Brasil; já que o vírus em seu ciclo urbano foi erradicado do país em 1942. ⁽²⁷⁾ Hoje apresenta características propícias para a reurbanização da doença, tais como: o ciclo silvático do YFV ocorrendo entre primatas não humanos (PNH) e mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* em regiões próximas a centros urbanos, mosquitos *Ae. aegypti* sendo encontrado em todas as unidades da federação e um clima ideal para propagação tanto viral quanto do vetor. ^(39, 82, 83, 97, 82) Neste estudo, fizemos uma vigilância epidemiológica do YFV durante pouco mais de três anos, e encontramos, no seu decorrer, *pools* de mosquitos *Ae. aegypti* positivos para o vírus, o que nos mostra que o vírus circula em áreas de transição matas-cidade no município de SJRP. O bairro Vila Toninho é um exemplo clássico do que chamamos de região de transição mata-cidade, pois é uma área urbana circundada por uma área de mata povoada por PNH, que anualmente, apresenta exemplares infectados com YFV. Os PNH encontrados positivos para YFV são consideradas sentinelas para a tentativa de controle do vírus, pois eles ajudam as autoridades de saúde a iniciarem as medidas de controle de dispersão viral na área e também o

início de campanha de vacinação para pessoas não imunizadas que vivam ou trabalhem na área.
(99)

Ao todo foram encontrados 177 *pools* de mosquitos positivos para um dos vírus estudados; destes 29.38% (52/177) eram compostos por mosquitos machos e 70.62% (125/177) eram compostos por mosquitos fêmeas. A ocorrência de mosquitos machos positivos indicam a possibilidade de transmissão vertical, ou transmissão transovariana, de arbovírus na natureza. A transmissão transovariana é considerada uma das formas de manutenção dos arbovírus na natureza em períodos inter-epidêmicos. ⁽¹⁰⁰⁾ Em mosquitos do gênero *Aedes*, a transmissão vertical é estudada em vários países devido à sua grande importância na manutenção de arbovírus na natureza, especialmente, em estudos realizados para a verificação da transmissão e manutenção do DENV em locais endêmicos para a doença. ⁽¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾ Em estudo conduzido por Li e colaboradores, ⁽¹⁰⁰⁾ para a verificação da capacidade de transmissão vertical do ZIKV em mosquitos *Ae. aegypti*, os resultados indicaram que esta espécie tem capacidade de transmissão do vírus entre as mães e seus descendentes. Diante destes resultados os autores destacam que essa via de transmissão viral facilita a persistência do vírus na natureza em períodos inter-epidêmicos e também indica um dos tipos de reservatório do vírus nos períodos desfavoráveis para a sua transmissão.

Alguns estudos ^(21, 62, 103-105) destacam a importância da transmissão vertical do DENV em regiões endêmicas para a doença. Mondini e colaboradores, ⁽²¹⁾ e Parra e colaboradores ⁽⁶²⁾ demonstraram em seus estudos a ocorrência deste fenômeno no município de SJRP, onde os mesmos encontraram uma alta ocorrência de dengue em mosquitos *Ae. aegypti* machos coletados na localidade. Medeiros e colaboradores ⁽⁷⁴⁾ descrevem pela primeira vez no estado

do Rio Grande do Norte, a ocorrência de transmissão transovariana de DENV em mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

Como só realizamos a testagem dos mosquitos adultos através das técnicas de biologia molecular para a verificação da infecção pelos vírus CHIKV, DENV, YFV e ZIKV, não realizamos o cálculo da taxa mínima de infecção nas larvas e pupas coletadas na área. Para os mosquitos adultos, dos quais realizamos os testes de biologia molecular para a verificação de espécimes infectados com um dos vírus triados neste estudo, percebemos que os resultados obtidos com o cálculo da taxa mínima de infecção, para ambos os vírus estudados, foram maiores nos meses mais quentes e úmidos, principalmente entre a primavera e o verão de cada um dos anos do estudo. Em estudo conduzido por Medeiros e colaboradores, ⁽⁷⁴⁾ a taxa mínima de infecção para dengue em mosquitos *Ae. aegypti* foi de 16.2. Em nosso estudo, obtivemos resultado da taxa de infecção mínima para *Ae. aegypti* de 23.41, considerando-se que o período do nosso estudo foi maior, podemos considerar que os estudos apresentaram resultados similares. A taxa mínima de infecção para mosquitos *Ae. albopictus* não foi calculada devido à baixa quantidade de exemplares coletados desta espécie.

O município de SJRP, desde meados de 2015 vem apresentando notificações de casos suspeitos de três arboviroses de interesse em saúde pública, Chikungunya - Dengue - Zika, e diante deste panorama, os mosquitos *Aedes* são expostos, simultaneamente, na natureza a todos eles, podendo ser infectados por um ou mais destes vírus e co-transmiti-los. ^(61, 106) Estudos recentes conduzidos no município de SJRP, ^(107, 108) encontraram pacientes positivos, para mais de um sorotipo do vírus da dengue e também a co-infecção entre Zika e Dengue, em pacientes que procuraram o serviço de saúde municipal. No presente estudo, encontramos 8 *pools* de mosquitos *Ae. aegypti* positivos para mais de um vírus, entre as co-infecções encontramos

mosquitos positivos para dois sorotipos diferentes do vírus da dengue (DENV1 e DENV2) e também positivos para zika e dengue (DENV4). Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Santos e colaboradores ⁽¹⁰⁹⁾ em estudo realizado no município do Rio de Janeiro, quando mosquitos *Ae. aegypti* fêmea coletados na natureza apresentaram positividade para dois sorotipos do vírus da dengue (DENV1 e DENV4), este estudo foi realizado em um período anterior à introdução dos vírus Zika e Chikungunya na localidade.

Chaves et al 2018 ⁽¹¹⁰⁾ conduziram um estudo em Manaus-AM e demonstraram que apesar de não ser comum, há registros de co-infecções entre diferentes arbovírus em humanos e mosquitos, entre eles os que são considerados de maior importância para saúde pública no Brasil; Dengue, Zika e Chikungunya, e também indicaram a necessidade de mais estudos sobre as possíveis co-infecções e suas implicações epidemiológicas, pois as mesmas podem causar overlap de sintomas e uma possível subnotificação em alguns casos podendo levar os hospedeiros a desenvolverem as formas mais graves destas doenças. Estofolete e colaboradores, ⁽¹⁰⁸⁾ destacam a importância de diagnóstico diferencial para arboviroses, principalmente, durante períodos epidêmicos.

5. CONCLUSÕES

- ❖ O bairro Vila Toninho, SJRP, apresentou infestação vetorial, por mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex* durante todo o período do estudo;
- ❖ Ocorreu a circulação dos vírus CHIKV, DENV, YFV e ZIKV em mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*;
- ❖ Encontramos mosquitos *Ae. aegypti* machos positivos para os quatro vírus pesquisados, o que sugere a transmissão vertical destes vírus em mosquitos desta espécie. Isso pode ser um fator importante para a manutenção do vírus na natureza em períodos desfavoráveis à transmissão;
- ❖ Introdução do CHIKV, ocorreu no ano de 2015, no município de SJRP. Encontramos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* infectados para este vírus no início do estudo entre os anos de 2015 e 2016, após esse período não encontramos mais mosquitos positivos, o que sugere uma baixa transmissão viral na localidade;
- ❖ O DENV, sorotipos 1, 2 e 4 circulou no bairro, este vírus é endêmico no município de SJRP, sendo encontrado durante todo o período do estudo;
- ❖ Encontramos exemplares de mosquitos *Ae. aegypti* infectados com YFV; todas as amostras (*pools*) positivas para o vírus foram coletadas durante o verão, período mais propício para a transmissão viral, e quando ocorrem notificações de epizootias positivas para YFV, no município e no estado de São Paulo, mostrando assim a necessidade de controle ativo por partes das autoridades de saúde para que não ocorra a reurbanização do vírus no local;
- ❖ O ZIKV foi introduzido no município, em 2016; a partir deste momento, apresentou circulação ativa em mosquitos do gênero *Aedes* coletados no bairro Vila Toninho. Foi o vírus que mais infectou mosquitos da área;

- ❖ As variações climáticas podem ser consideradas importantes variáveis para a ocorrência da transmissão de arboviroses em uma localidade, pois as mesmas têm influência sobre o ciclo de vida do vetor, sobre a infestação vetorial e, conseqüentemente, sobre a ocorrência de casos humanos destas doenças;
- ❖ Ao realizarmos diferentes metodologias para a vigilância entomológica e para o cálculo de diferentes indicadores, percebemos que os indicadores entomológicos de adultos, que utilizam armadilhas para a captura de mosquito apresentam um custo operacional menor do que a metodologia usada para realizar os indicadores entomológicos larvários;
- ❖ Portanto, concluímos que estudos entomológicos que consideram as variáveis climáticas e a investigação da circulação viral de arbovírus em mosquitos e humanos em regiões endêmicas são importantes ferramentas no auxílio às autoridades de saúde na tomada de decisões. Estas atividades mostraram-se importantes, principalmente, no controle do YFV, visto que este vírus não apresenta mais circulação urbana no Brasil, porém apresenta uma endemicidade de transmissão silvática muito próxima a centros urbanos, o que, portanto, pode acabar causando uma reurbanização da doença, caso não haja medidas de controle do vetor, das epizootias infectadas e em campanhas de vacinação ativa nestas regiões.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calzolari M, Gaibani P, Bellini R, Defilippo F, Pierro A, *et al.* Mosquito, Bird and Human Surveillance of West Nile and Usutu Viruses in Emilia- Romagna Region (Italy) in 2010. PLoS ONE 7(5): e38058. 2012. doi:10.1371/journal.pone.0038058.
2. Almeida APG, Galão RP, SoUSA CA, Novo MT, Parreira R, Pinto J, Piedade J, Esteves A. Potencial mosquitoes vectors of alphaviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Published by Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.trstmh.2008.03.011.
3. Maeda A, Maeda J. Review of diagnostic plaque reduction neutralization tests for flavivirus infection. The Veterinary Journal (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.08.019>.
4. De Figueiredo MLG, Figueiredo LTM. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 47(6):677-683, Nov-Dec, 2014 <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0246-2014>.
5. Weaver SC, Chalker C, Vasilaks N, Lecuit M. Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. Annu Rev Med. 2018 January 29; 69: 395–408. doi:10.1146/annurev-med-050715-105122.
6. Gluber DJ. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch Med Res.* 2002; 33(4):330-42.
7. Bernardes-Terzian AC, De-Moraes-Bronzoni RV, Drumond BP, Da-Silva-Nunes M, Da Silva NS, Urbano-Ferreira M, *et al.* Sporadic Oropouche virus infection, Acre, Brazil. *Emerging Infectious Diseases.* 2009; 15(2):348-50.

8. Mondini A, Chiaravalloti-Neto F. Socioeconomic variables and dengue transmission. *Rev Saude Publica*, v.41, n.6, Dec, p.923-30. 2007.
9. Figueiredo LT. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.40, n.2, Mar-Apr, p.224-9. 2007.
10. Vasconcelos PFC, Travassos-Da-Rosa APA, Pinheiro FP, Travassos-Da-Rosa JFS. Arboviroses. Veronesi: *Tratado de Infectologia*. São Paulo. Editora Atheneu; 2005:289-302.
11. Farfan-Ale JA, Loroño-Pino MA, Garcia-Rejon JE, Hovav E, Powers AM, Lin M, et al. Detection of RNA from novel West Nile-like virus and high prevalence of an insect-specific Flavivirus in mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 80(1): 85–95.
12. Musso D, Gubler DJ. Zika virus. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:487–524. doi:10.1128/CMR.00072-15.
13. Gubler DJ, Vasilakis N, Musso D. History and Emergence of Zika Virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 2017;216(S10):S860–7
14. Vu DM, Jungkind D, Labeaud AD. Chikungunya Virus. *Clin Lab Med* 37 (2017) 371–382 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2017.01.008>.
15. Chen TH, Jian SW, Wang CY, Lin C, Wang PF, Su CL, Teng HJ, Shu PY, Wu HS. Susceptibility of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* to three imported Chikungunya virus strains, including the E1/226V variant in Taiwan, *Journal of the Formosan Medical Association* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfma.2014.12.002>.

16. Chen LH, Wilson ME. Dengue and Chikungunya infections in travelers. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins. 2010. DOI:10.1097/QCO.0b013e32833c1d16.
17. Higgs S, Vanlandingham DL. Chikungunya: here today, where tomorrow? Int. Health 2015; 7:1 –3. doi:10.1093/inthealth/ihu092.
18. <http://www.cve.saude.sp.gov.br>
19. Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. *Flavivirus* genome organization, expression and replication. Annu Rev Microbiol. 1990; 44:649-688.
20. Medina F, Medina JF, Colón C, Vergne E, Santiago GA, Muñoz-Jordán JL. Dengue virus: isolation, propagation, quantification, and storage. Curr Protoc Microbiol. 15D.2.1-15D.2.24, November 2012. Published online November 2012 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).
21. Mondini A, Bronzoni RVDM, Nunes SHP, Chiaravalloti Neto F, Massad E, et al. Spatio-Temporal Tracking and Phylodynamics of an Urban Dengue 3 Outbreak in São Paulo, Brazil. PLoS Negl Trop Dis 2009 3(5): e448.doi: 10.1371/journal.pntd.0000448.
22. WHO – World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control – 2009 - New edition.
23. Guia de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde do Brasil, 2014, Volume Único. www.saude.gov.br/bvs
24. <http://portalsaude.saude.gov.br>

25. Silva NIO, Sacchetto L, De Rezende IM, Trindade GS, Labeaud AD *et al.* Recent sylvatic yellow fever virus transmission in Brazil: the news from an old disease. *Virology Journal* (2020) 17:9 <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1277-7>.
26. Childs ML, Nova N, Colvin J, Mordecai EA. Mosquito and primate ecology predict human risk of yellow fever virus spillover in Brazil. *Phil. Trans. R. Soc. B* 2019 374: 20180335. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2018.0335>.
27. Bacha HA, Johanson GH. Yellow Fever. *Rev Assoc Med Bras* 2017; 63(4):291-292. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.63.04.291> .
28. Boletim Epidemiológico | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde 12 Volume 51 | Nº 24 | Jun. 2020.
29. WHO – World Health Organization. Zika Situation Report. Zika and potential complications – 2016.
30. Gańczak M. Zika – an emerging infectious disease. The risk assessment from polish perspective. *Przegl Epidemiol* 2016; 70: 1 – 6.
31. Estofolete CF, Bernardez-Terzian AC, Parreira R, Esteves A, Hardman L *et al.* Clinical and laboratory profile of Zika virus infection in dengue suspects patients: A case series. *Journal of Clinical Virology*. 2016, 82: 25-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2016.05.012>.
32. Saxena SK, Elahi A, Gadugu S, Prasad AK. Zika virus outbreak: an overview of the experimental therapeutics and treatment. *VirusDis.* (April–June 2016) 27(2):111–115 DOI 10.1007/s13337-016-0307-y.

33. Panchaud A, Stojanov, M, Ammerdorffer A, Vouga M, Baudd D. Emerging Role of Zika Virus in Adverse Fetal and Neonatal Outcomes. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016, 29:3.
34. Boletim Epidemiológico | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde 2 Volume 51 | Nº 31 | Jul. 2020.
35. Campbell LP, Luther C, Moo-Llanes D, Ramsey JM, Danis-Lozano R, Peterson AT. Climate change influences on global distributions of dengue and Chikungunya virus vectors. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 370: 20140135. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.20140135>.
36. Zayed A, Awash AA, Esmail MS, Al-Mohamedi HA, Al-Salwai M, Al-Jasari A, et al. Detection of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* during 2011 outbreak in Al Hodayda, Yemen. *Acta Tropica* 123: 2012; 62-66. Doi: 10.1016/j.actatropica.2012.03.004.
37. Reiter P, Amador MA, Anderson RA, Clark GG. Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;52(2):177-9.
38. Lau KW, Chen CD, Lee HL, Izzul AA, Asri-Isa M, et al. Vertical distribution of *Aedes* mosquitos in multiple storey buildings in Selangor and Kuala Lumpur, Malaysia *Tropical Biomedicine*. 2013;30(1): 36–45.
39. Coelho GE. Challenges in the control of *Aedes aegypti*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 2012;54(Suppl. 18):S13-S14, October.
40. Gomes AC. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. *Inf. Epidemiol SUS* 1998;3:49-57.

41. Focks DA. A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. Gainsvill: World Health Organization.2003.
42. Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E. Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med and Hyg.* 2000;62: 11-80.
43. Higa Y. Dengue Vectors and their Spatial Distribution. Tropical Medicine and Health Vol. 39 No. 4 Supplement, 2011, pp. 17-27 doi:10.2149/tmh.2011-S04.
44. Steffler LM, Marteis LS, dos Santos RLC. Fontes de informação sobre dengue e adoção de attitudes preventivas. *Scientia Plena 2011;7: 067501.*
45. Hapairai LK , Joseph H , Sang MAC , Melrose W, Ritchie SA , et al. Field Evaluation of Selected Traps and Lures for Monitoring the Filarial and Arbovirus Vector, *Aedes polynesiensis* (Diptera:Culicidae), in French Polynesia. Entomological Society of America. 2013. <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/ME12270>.
46. Maciel-de-Freitas R, Eiras AE, de Oliveira RL. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).*Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro,2006; Vol. 101(3): 321-325.
47. Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB. Mosquito traps designed to capture *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females: preliminary comparison of Adultrap, MosquiTRAP and backpack aspirator efficiency in a dengue-endemic area of Brazil.*Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2008;Vol. 103(6): 602-605.

48. de Figueiredo RMP, Mourão MPG, Abi-Abib YEC, de Oliveira CM, Roque R, et al. Identification of dengue viruses in naturally infected *Aedes aegypti* females captured with BioGents (BG)-Sentinel traps in Manaus, Amazonas, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013;46(2):221-222 <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-1096-2013> .
49. Attaway DF, Jacobsen KH, Falconer A, Manca G, Waters NM. Risk analysis for dengue suitability in Africa using ArcGIS predictive analysis tools (PA tools). *Acta Tropica* 2016, 158:248-257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.02.018> 0001-706X.
50. Donalísio MR, Glasser CM. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. *Rev. Bras. Epidemiol*. 2002; Vol. 5, Nº 3.
51. Kobayashi M, Nihei N, Kurihara T. Analysis of northern distribution of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Japan by geographical information system. *J Med Entomol* 2002; 39: 4–11.
52. Cavalcante MPR, De Oliveira C, Simão FB, Lima PR, Monteiro PS. Análise geoespacial: um estudo sobre a dengue. *Acta Paul Enferm*. 2013; 26(4):360-8.
53. Rodriguez-Morales AJ, García-Loaiza CJ, Lozada-Riascos CO, Diaz-Quijano FA. Zika infection GIS-based mapping suggest high transmission activity in the border area of La Guajira, Colombia, a northeastern cost Caribbean department, 2015-2016: Implications for public health, migration and travel. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2016, 14:286-288.
54. Jeefoo P, Tripathi NK, Souris M. Spatio-Temporal Diffusion Pattern and Hotspot Detection of Dengue in Chachoengsao Province, Thailand. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2011, 8, 51-74; doi:10.3390/ijerph801005 .

55. Mondini A, Chiaravalloti-Neto F. Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. *Science of The Total Environment* 2008;393: 2-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.010> .
56. Wu PC, Lay JG, Guo HR, Lin CY, Lung SC, et al. Higher temperature and urbanization affect the spatial patterns of dengue fever transmission in subtropical Taiwan. *Sci. Total Environ.* 2009;407: 2224-2233.
57. Ali M, Wagatsuma Y, Emch M, Breiman RF. Use of a geographic information system for defining spatial risk for dengue transmission in Bangladesh: role for *Aedes albopictus* in an urban outbreak. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003; 69: 634-640.
58. Rodriguez-Morales AJ, Galindo –Marquez ML, García-Loaiza CJ, Sabogal-Roman JA, Marin-Loaiza S et al. Mapping Zika virus infection using Geographical Information systems in Tolima, Colombia, 2015-2016. *F1000 Research.* 2016, 5:568.
59. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-jose-do-rio-preto/>
60. Mondini A, Chiaravalloti-Neto F, Gallo Y Sanches M, Lopes JCC. Spatial analysis of dengue transmission in a medium sized city. *Rev Saude Publica*, 2005; 39: 444-51.
61. <http://saude.riopreto.sp.gov.br/> .
62. Parra MCP, Fávares EA, Dibo MR, Mondini A, Eiras AE, Kroon EG *et al.* Using adult *Aedes aegypti* females to predict areas at risk for dengue transmission: A spatial case-control study. *Acta Tropica* 2018;182:43-53, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.018>
63. www.biogents.com .

64. Forattini, OP. *Culicidologia Médica*, volume 2. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo. 2002.
65. Consoli RAGB, Oliveira RL. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. 1ª Reimpressão. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998.
66. Breteau H. La fièvre jaune en afrique-occidentale française: *Bull World Health Organ* 1954;11: 453–481.
67. <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>.
68. Stephan C. *Distribuição espacial do risco de acidente de trabalho entre trabalhadores precarizados de Piracicaba*. [Tese de Doutorado] Campinas, SP. Universidade de Campinas. 2008.
69. Cressie N. *Statistics for spatial data*. New York: Wiley; 1993.
70. Lindgren, F., Rue, H. (2011). Fast approximate inference with INLA: the past, the present and the future. arXiv preprint arXiv:1105.2982.
71. Rue H, Martino S, Chopin N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. *J Roy Stat Soc B*. 2009;71(2):319–92.
72. R Core Team. *R Foundation for Statistical Computing*. Version 3.6 [software]. <http://www.R-project.org>. 2019.
73. <https://www.cdc.gov/westnile/resourcepages/mosqsurvsoft.html>

74. Medeiros AS, Costa DMP, Branco MSD, Sousa DMC, Monteiro JD, Galvão SPM, et al. (2018) Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte, Brazil: Importance of virological and entomological surveillance. PLoS ONE 13(3): e0194108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194108> Maniero et al 2019).
75. Machado DC, Mondini A, Santana VSS, Yonamine PTK, Chiaravalloti-Neto F, Zanotto PMA, et al. First Identification of *Culex flavivirus* (Flaviviridae) in Brazil. Intervirology. 2012; 55:475–483. doi: 10.1159/000337166.
76. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 14, No. 8, August 2008. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
77. Bronzoni RVM, Baleotti FG, Nogueira RMR, Nunes M, Figueiredo LTM. Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005; 43(2): 696-702.
78. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Panella AJ, Velez JO, Lambert AJ, Campbell GL. Chikungunya Virus in US Travelers Returning from India, 2006. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 13, No. 5, May 2007.
79. Sanger F, Nicklen F, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. PNAS December 1, 1977 74 (12) 5463-5467; <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.

80. <https://blast.ncbi.nlm.nih>

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome)

81. Costa IMP, Calado DC. Incidência dos casos de dengue (2007-2013) e distribuição sazonal de culicídeos (2012-2013) em Barreiras, Bahia. *Epidemiol. Serv. Saude, Brasília*, 25(4):735-744, out-dez 2016. doi: 10.5123/S1679-49742016000400007.

82. Couto-Lima D, Andreazzi CS, Leite PJ, Bersot MIL, Alencar J, Lourenço-de-Oliveira R. Seasonal population dynamics of the primary yellow fever vector *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon) (Diptera: Culicidae) is mainly influenced by temperature in the Atlantic Forest, southeast Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 115: e200218, 2020. doi: 10.1590/0074-02760200218.

83. Possas C, Lourenço-de-Oliveira R, Tauil PL, Pinheiro FP, Pissinatti A, Cunha RV, et al. Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunization. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 113(10): e180278, 2018. doi: 10.1590/0074-02760180278.

84. Soares ENL, Santos MAB, Macedo LO, Santos CVB, Agra MCR, Alves LC, et al. Spatial distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in vulnerable areas for the transmission of arboviruses. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine* Vol.:52:e20180341: 2019 doi: 10.1590/0037-8682-0341-2018.

85. Monaghan AJ, Sampson KM, Steinhoff DF, Ernst KC, Ebi KL, Jones B et al. The potential impacts of 21st century climatic and population changes on human exposure to the virus vector mosquito *Aedes aegypti*. *Clim Change*. 2018 February ; 146(3-4): 487–500.
86. Oliveira RMAB, Araújo FMC, Cavalcanti LPG. Aspectos entomológicos e epidemiológicos das epidemias de dengue em Fortaleza, Ceará, 2001-2012. *Epidemiol. Serv. Saude, Brasília*, 27(1):e201704414, 2018. doi: 10.5123/S1679-49742018000100014.
87. Monteiro DCS, Souza NV, Amaral JC, Lima KB, Araújo FMC, Ramalho ILC. Dengue: 30 years of cases in an endemic area. *CLINICS* 2019;74:e675. DOI: 10.6061/clinics/2019/e675.
88. Niño L. Interpolación espacial de la abundancia larval de *Aedes aegypti* para localizar focos de infestación. *Rev Panam Salud Publica* 2011;29(6).
89. Broeders S, Garland L, Fraiture MA, Vandermassen E, Suin V. A new multiplex RT-qPCR method for the simultaneous detection and discrimination of Zika and chikungunya viruses. *International Journal of Infectious Diseases* 92 (2020) 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.12.028> .
90. Guzman MG, Kouri G. Dengue: uma atualização. *Coleção estudos da cidade*. 2002; 47: 1-17.
91. Cabezas C. Dengue em el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 2005;22: 212-228.
92. Song BH, Yun SI, Woolley M, Lee YM. Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. *Journal of Neuroimmunology* 308 (2017) 50–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2017.03.001> .

93. Terzian ACB, Zini N, Sacchetto L, Rocha RF, Parra MCP, Del Sarto JL, et al. Evidence of natural Zika virus infection in neotropical non-human primates in Brazil. *Scientific Reports* 2018;8:16034. DOI:10.1038/s41598-018-34423-6.
94. Grard G, Caron M, Mombouli IM, et al. Zika Virus in Gabon (Central Africa) – 2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e2681.
95. Wong, P.S., Li, M.Z., Chong, C.S., Ng, L.C., Tan, C.H., 2013. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 7, e2348.
96. Gratz NG. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* (2004) 18, 215–227.
97. Moreira-Soto A, Torres MC, Mendonça MCL, Mares-Guia MA, Rodrigues CDS, Fabri AA, et al. Evidence for multiple sylvatic transmission cycles during the 2016–2017 yellow fever virus outbreak, Brazil. *Clinical Microbiology and Infection* 24 (2018) 1019.e1–1019.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.026>.
98. Giovanetti M, de Mendonça MCL, Fonseca V, Mares-Guia MA, Fabri A, Xavier J, et al. Yellow fever virus reemergence and spread in Southeast Brazil, 2016–2019. *J Virol* 94:e01623-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.01623-19>.
99. Gardner CL, Ryman KD. Yellow Fever: A Reemerging Threat. *Clin Lab Med.* 2010 March ; 30(1): 237–260. doi:10.1016/j.cll.2010.01.001.

100. Li C, Guo X, Deng Y, Xing D, Sun A, Liu Q, et al. Vector competence and transovarial transmission of two *Aedes aegypti* strains to Zika virus. *Emerging Microbes & Infections* (2017) 6, e23; doi:10.1038/emi.2017.8.
101. Espinosa M, Giamperetti S, Abril M et al. Vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* collected in Puerto Iguazú, Misiones, Argentina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014; 56: 165–167.
102. Maniero VC, Rangel PSC, Coelho LMC, Silva CSB, Aguiar RS, Lamas CC. Identification of Zika virus in immature phases of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a surveillance strategy for outbreak anticipation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2019) 52(11): e8339, <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20198339>.
103. Angel B, Josh V. (2008) Distribution and seasonality of vertically transmitted dengue viruses in *Aedes* mosquitos in arid and semi-arid areas of Rajasthan, India. *JVector Borne Dis* 45: 56–59.
104. Le Goff G, Revollo J, Guerra M, Cruz M, Barja Simon Z, et al. (2011) Natural Vertical Transmission of Dengue Viruses By *Aedes Aegypti* in Bolivia. *Parasite* 18: 277-280.
105. Martins VEP, Alencar CH, Kamimura MT, Araujo FMC, de Simone SG, et al. (2012) Occurrence of Natural Vertical Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceara , Brazil. *PLoS ONE* 7(7): e41386. doi:10.1371/journal.pone.0041386.

106. Vogels CBF, Rückert C, Cavany SM, Perkins TA, Ebel GD, Grubaugh ND. Arbovirus coinfection and co-transmission: A neglected public health concern? *PLoS Biol.* 2019 Jan 22;17(1):e3000130. doi: 10.1371/journal.pbio.3000130. eCollection 2019 Jan.
107. A.C. Terzian, A. Mondini, R.V. Bronzoni, B.P. Drumond, B.P. Ferro, E.M. Cabrera et al. Detection of Saint Louis encephalitis virus in dengue-suspected cases during a dengue 3 outbreak. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11 (3) (2011), pp. 291-300.
108. Estofolete CF, Terzian ACB, Colombo TE, Guimarães GF, Ferraz-Junior HC, Silva RA. Co-infection between Zika and different Dengue serotypes during DENV outbreak in Brazil. *Journal of Infection and Public Health* 12 (2019) 178–181. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.09.007>.
109. Santos TP, Cruz OG, Silva KAB, Castro MG, Brito AF, Maspero RC, et al. Dengue serotype circulation in natural populations of *Aedes aegypti*. *Acta Tropica* 176 (2017) 140–143.
110. Chaves BA, Orfano AS, Nogueira PM, Rodrigues NB, Campolina TB, Nacif-Pimenta R, et al. Coinfection with Zika Virus (ZIKV) and Dengue Virus Results in Preferential ZIKV Transmission by Vector Bite to Vertebrate Host. *The Journal of Infectious Diseases* • JID 2018:218.

7. APÊNDICES

Apêndice 1: Quantidade de mosquitos coletados mensalmente nas coletas realizadas na Vila Toninho, SJRP durante o período do estudo

Data das Coletas	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		<i>Culex sp.</i>		Data das Coletas	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>		<i>Culex sp.</i>		
	♂	♀	♂	♀	♂	♀		♂	♀	♂	♀	♂	♀	
ANO 1 2015/2016	SETEMBRO	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	
	OUTUBRO	2	19	0	0	9	7	10	12	0	0	106	135	
	NOVEMBRO	8	37	0	3	11	18	8	21	0	0	349	240	
	DEZEMBRO	40	30	0	0	34	19	10	21	0	0	84	169	
	JANEIRO	11	65	0	1	9	25	41	47	0	0	101	121	
	FEVEREIRO	4	23	0	0	10	24	45	103	0	1	40	116	
	MARÇO	14	31	0	0	16	23	27	42	0	0	10	101	
	ABRIL	0	13	0	1	8	13	22	51	0	1	31	111	
	MAIO	3	10	0	0	0	12	10	27	0	1	41	87	
	JUNHO	2	9	0	0	5	10	9	20	0	0	62	57	
ANO 3 2017/2018	JULHO	2	7	0	0	24	31	3	11	0	0	137	92	
	AGOSTO	0	2	0	0	18	14	6	12	0	0	164	91	
	SETEMBRO	8	8	0	0	3	40	4	14	0	0	117	83	
	OUTUBRO	7	9	0	0	5	43	29	15	0	0	57	50	
	NOVEMBRO	22	29	0	0	90	104	16	48	0	0	71	181	
	DEZEMBRO	34	48	0	0	108	160	23	38	0	0	23	34	
	JANEIRO	3	9	0	1	0	4	39	51	1	0	98	131	
	FEVEREIRO	14	47	0	2	10	39	17	22	0	0	18	38	
	MARÇO	33	37	0	0	12	25	8	17	0	0	8	20	
	ABRIL	13	17	0	0	24	73	31	44	1	0	32	50	
ANO 2 2016/2017	MAIO	7	21	0	1	12	118	13	20	0	0	52	16	
	JUNHO	3	21	0	0	9	35	6	8	0	0	29	33	
	JULHO	2	4	0	0	72	78	3	10	0	0	88	32	
	AGOSTO	7	13	0	0	376	165	2	5	0	0	169	56	
	ANO 4 2018/2019	SETEMBRO	8	8	0	0	3	40	5	1	0	0	192	73
		OUTUBRO	7	9	0	0	5	43	29	15	0	0	57	50
		NOVEMBRO	22	29	0	0	90	104	16	48	0	0	71	181
		DEZEMBRO	34	48	0	0	108	160	23	38	0	0	23	34
		JANEIRO	3	9	0	1	0	4	39	51	1	0	98	131
		FEVEREIRO	14	47	0	2	10	39	17	22	0	0	18	38
MARÇO		33	37	0	0	12	25	8	17	0	0	8	20	
ABRIL		13	17	0	0	24	73	31	44	1	0	32	50	
MAIO		7	21	0	1	12	118	13	20	0	0	52	16	
JUNHO		3	21	0	0	9	35	6	8	0	0	29	33	

Apêndice 2: Valores do Naf Global, Desvio Padrão, Intervalo de Confiança obtidos entre os anos de 2015 e 2019

Período	Naf Global	Desvio Padrão	IC95%	Lim inf	lim sup	prec	prec%	Período	Naf Global	Desvio Padrão	IC95%	Lim inf	lim sup	prec	prec%	
Ano 1	out/15	21.42	39.76	11.02	10.40	32.44	5.62	26.25	set/17	15.56	44.83	12.43	3.13	27.98	6.34	40.75
	nov/15	49.26	89.39	24.78	24.48	74.04	12.64	25.66	out/17	27.22	47.11	13.06	14.16	40.28	6.66	24.48
	dez/15	40.19	63.22	17.52	22.66	57.71	8.94	22.25	nov/17	25.05	71.40	19.79	5.26	44.84	10.10	40.31
	jan/16	82.96	172.36	47.77	35.19	130.74	24.37	29.38	dez/17	60.93	97.22	26.95	33.98	87.87	13.75	22.57
	fev/16	29.81	67.31	18.66	11.16	48.47	9.52	31.93	jan/18	133.52	222.35	61.63	71.89	195.15	31.44	23.55
	mar/16	40.19	61.58	17.07	23.12	57.25	8.71	21.67	fev/18	53.15	66.39	18.40	34.75	71.55	9.39	17.66
	abr/16	16.85	45.49	12.61	4.24	29.46	6.43	38.18	mar/18	66.11	119.66	33.17	32.94	99.28	16.92	25.60
	mai/16	12.96	29.23	8.10	4.86	21.07	4.13	31.89	abr/18	35.00	80.28	22.25	12.75	57.25	11.35	32.44
	jun/16	11.86	31.69	8.78	3.08	20.65	4.48	37.77	mai/18	24.63	50.61	14.03	10.60	38.66	7.16	29.06
	jul/16	10.37	30.26	8.39	1.98	18.76	4.28	41.27	jun/18	14.26	33.56	9.30	4.96	23.56	4.75	33.28
ago/16	2.59	14.08	3.90	-1.31	6.50	1.99	76.80	jul/18	15.56	39.99	11.09	4.47	26.64	5.66	36.36	
								ago/18	18.15	43.83	12.15	6.00	30.30	6.20	34.15	
Período	Naf Global	Desvio Padrão	IC95%	Lim inf	lim sup	prec	prec%	Período	Naf Global	Desvio Padrão	IC95%	Lim inf	lim sup	prec	prec%	
Ano 2	set/16	10.37	39.13	10.85	-0.48	21.22	5.53	53.36	set/18	19.44	42.06	11.66	7.79	31.10	5.95	30.59
	out/16	11.67	34.56	9.58	2.09	21.25	4.89	41.89	out/18	60.93	94.00	26.06	34.87	86.98	13.29	21.82
	nov/16	38.89	69.42	19.24	19.65	58.13	9.82	25.24	nov/18	73.89	103.68	28.74	45.15	102.63	14.66	19.84
	dez/16	60.93	203.57	56.43	4.50	117.35	28.79	47.25	dez/18	40.19	70.87	19.64	20.54	59.83	10.02	24.94
	jan/17	58.33	108.71	30.13	28.20	88.46	15.37	26.35	jan/19	28.52	67.12	18.60	9.92	47.12	9.49	33.28
	fev/17	62.22	106.01	29.38	32.84	91.61	14.99	24.09	fev/19	22.04	49.80	13.80	8.23	35.84	7.04	31.96
	mar/17	44.07	81.47	22.58	21.49	66.66	11.52	26.14	mar/19	55.74	87.21	24.17	31.57	79.91	12.33	22.13
	abr/17	22.04	45.49	12.61	9.43	34.65	6.43	29.19	abr/19	25.93	63.51	17.60	8.32	43.53	8.98	34.64
	mai/17	16.31	58.30	16.16	0.15	32.47	8.24	50.56	mai/19	10.37	36.42	10.09	0.28	20.46	5.15	49.66
	jun/17	16.85	43.18	11.97	4.88	28.82	6.11	36.23	jun/19	12.96	32.55	9.02	3.94	21.99	4.60	35.51
jul/17	5.19	19.56	5.42	-0.24	10.61	2.77	53.36	jul/19	6.48	21.68	6.01	0.47	12.49	3.07	47.30	
ago/17	14.03	43.79	12.14	1.89	26.16	6.19	44.15	ago/19	1.30	10.04	2.78	-1.49	4.08	1.42	109.54	

Apêndice 3: Resultados do Índice de Recipientes obtidos durante o estudo

ÍNDICE DE RECIPIENTES																									
ANO 1	set/15	out/15	nov/15	dez/15	jan/16	fev/16	mar/16	abr/16	mai/16	jun/16	jul/16	ago/16	ANO 3	set/17	out/17	nov/17	dez/17	jan/18	fev/18	mar/18	abr/18	mai/18	jun/18	jul/18	ago/18
T1	NR	5.56	3.85	3.33	5.56	8.70	0.00	0.00	0.00	3.70	0.00	0.00	T1	0.00	5.56	12.50	0.00	7.14	7.69	0.00	16.67	25.00	0.00	0.00	20.00
T2	NR	16.67	5.77	6.67	5.56	4.35	6.25	0.00	7.14	7.41	0.00	9.09	T2	10.00	5.56	6.25	0.00	7.14	7.69	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T3	NR	0.00	1.92	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.70	0.00	9.09	T3	10.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T4	NR	5.56	5.77	6.67	5.56	8.70	0.00	0.00	21.43	11.11	0.00	9.09	T4	0.00	0.00	0.00	0.00	9.52	23.08	5.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	NR	0.00	0.00	3.33	2.78	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	T5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T6	NR	5.56	11.54	3.33	8.33	4.35	6.25	7.14	0.00	0.00	0.00	0.00	T6	10.00	0.00	0.00	0.00	0.00	15.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	NR	5.56	1.92	0.00	8.33	8.70	6.25	7.14	0.00	7.41	16.67	0.00	T7	0.00	0.00	6.25	0.00	4.76	23.08	8.57	8.33	0.00	25.00	0.00	0.00
T8	NR	0.00	1.92	6.67	5.56	8.70	0.00	7.14	7.14	7.41	0.00	9.09	T8	30.00	5.56	0.00	0.00	2.38	0.00	2.86	16.67	25.00	0.00	0.00	0.00
T9	NR	27.78	40.38	40.00	41.67	30.43	50.00	28.57	21.43	29.63	33.33	45.45	T9	30.00	61.11	68.75	63.64	35.71	15.38	65.71	33.33	25.00	75.00	50.00	80.00
T10	NR	0.00	5.77	6.67	2.78	0.00	6.25	0.00	7.14	3.70	0.00	0.00	T10	0.00	0.00	0.00	0.00	11.90	7.69	2.86	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T11	NR	11.11	7.69	0.00	0.00	0.00	6.25	7.14	7.14	7.41	0.00	0.00	T11	0.00	0.00	0.00	27.27	14.29	0.00	5.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T12	NR	0.00	1.92	6.67	5.56	0.00	0.00	7.14	7.14	7.41	0.00	0.00	T12	0.00	0.00	0.00	0.00	2.38	0.00	0.00	0.00	25.00	0.00	50.00	0.00
T13	NR	11.11	0.00	3.33	8.33	13.04	6.25	35.71	21.43	11.11	50.00	18.18	T13	10.00	0.00	6.25	0.00	2.38	0.00	5.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T14	NR	11.11	11.54	13.33	0.00	13.04	12.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	T14	0.00	22.22	0.00	9.09	2.38	0.00	2.86	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ANO 2	set/16	out/16	nov/16	dez/16	jan/17	fev/17	mar/17	abr/17	mai/17	jun/17	jul/17	ago/17	ANO 4	set/18	out/18	nov/18	dez/18	jan/19	fev/19	mar/19	abr/19	mai/19	jun/19	jul/19	ago/19
T1	16.67	7.14	0.00	2.94	7.14	8.33	3.13	0.00	0.00	0.00	0.00	22.22	T1	0.00	0.00	0.00	0.00	5.88	0.00	15.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	0.00	14.29	0.00	8.82	16.67	0.00	3.13	5.26	6.90	0.00	0.00	0.00	T2	14.29	5.56	0.00	0.00	17.65	9.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	T3	0.00	0.00	20.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.29	0.00	0.00	0.00	0.00
T4	0.00	0.00	6.25	2.94	2.38	4.17	3.13	0.00	13.79	17.65	0.00	0.00	T4	0.00	0.00	0.00	11.11	5.88	9.09	15.38	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	0.00	0.00	6.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	T5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T6	0.00	7.14	0.00	0.00	0.00	4.17	0.00	5.26	0.00	0.00	0.00	0.00	T6	14.29	11.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	0.00	21.43	0.00	2.94	2.38	0.00	40.63	21.05	13.79	0.00	60.00	0.00	T7	28.57	5.56	0.00	11.11	5.88	9.09	7.69	28.57	25.00	0.00	0.00	0.00
T8	0.00	7.14	0.00	0.00	4.76	4.17	3.13	0.00	3.45	0.00	0.00	11.11	T8	0.00	0.00	10.00	11.11	0.00	0.00	0.00	14.29	0.00	0.00	0.00	0.00
T9	33.33	35.71	62.50	52.94	33.33	50.00	28.13	26.32	41.38	58.82	20.00	55.56	T9	42.86	72.22	30.00	33.33	29.41	63.64	30.77	0.00	50.00	100.00	100.00	0.00
T10	0.00	0.00	0.00	17.65	4.76	8.33	3.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	T10	0.00	0.00	0.00	0.00	5.88	0.00	7.69	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00
T11	16.67	0.00	0.00	2.94	16.67	16.67	0.00	5.26	6.90	0.00	0.00	0.00	T11	0.00	0.00	10.00	0.00	0.00	0.00	23.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T12	0.00	0.00	0.00	2.94	0.00	0.00	6.25	5.26	6.90	5.88	0.00	0.00	T12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T13	16.67	0.00	0.00	5.88	2.38	4.17	6.25	21.05	3.45	11.76	20.00	0.00	T13	0.00	5.56	0.00	0.00	5.88	0.00	0.00	42.86	0.00	0.00	0.00	0.00
T14	16.67	7.14	25.00	0.00	9.52	0.00	0.00	10.53	3.45	5.88	0.00	11.11	T14	0.00	0.00	30.00	33.33	23.53	9.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Apêndice 4: Amostras de mosquitos, coletados na Vila Toninho, SJRP, positivas para um dos arbovírus pesquisados.

Número Amostra	Data do Tubo	Quantidade Mosquito		Espécie	CHIKV	DENV				YFV	ZIKV
						D1	D2	D3	D4		
8	26/10/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
22	26/10/2015	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
23	26/10/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
31	26/01/2016	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
36	26/01/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
38	26/01/2016	3	macho	<i>Ae. aegypti</i>		+					
39	26/01/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>		+					
40	26/01/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>		+					
42	26/01/2016	10	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>					+		
43	26/01/2016	1	fêmea	<i>Ae. albopictus</i>	+						
77	23/11/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>					+		
93	28/11/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>		+	+				
94	28/11/2016	3	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
95	28/11/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>		+	+				
109	14/12/2016	4	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
110	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
113	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
114	14/12/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
115	14/12/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
117	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
119	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
120	14/12/2016	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
121	14/12/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
122	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
124	14/12/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
151	22/02/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
160	01/03/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
161	01/03/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
163	01/03/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
164	01/03/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>							+
169	01/03/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+
170	30/11/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
173	30/11/2015	4	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
174	30/11/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
175	30/11/2015	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
178	30/11/2015	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
187	15/12/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
188	15/12/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
190	15/12/2015	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
191	30/11/2015	1	fêmea	<i>Ae. albopictus</i>	+						
199	29/02/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>	+						
200	15/12/2015	10	macho	<i>Ae. aegypti</i>	+						

306	27/06/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		
308	27/06/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>						+		
311	27/07/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
312	27/07/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		+
313	27/07/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
314	01/08/2016	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>			+					
315	01/08/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
317	01/08/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
320	28/09/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		
321	28/09/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
322	28/09/2016	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
323	28/09/2016	3	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
324	28/09/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
325	28/09/2016	2	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
326	29/08/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
329	19/10/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
330	19/10/2016	2	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
331	19/10/2016	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
332	24/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
333	24/01/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
334	24/01/2017	5	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
335	24/01/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
336	24/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
337	24/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
338	24/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
339	24/01/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
340	24/01/2017	3	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
342	24/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		+
345	24/01/2017	3	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
346	24/01/2017	4	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+
347	24/01/2017	5	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
351	25/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
353	25/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
361	25/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		
368	30/01/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		
381	22/02/2017	5	macho	<i>Ae. aegypti</i>						+		
389	22/02/2017	2	fêmea	<i>Ae. albopictus</i>						+		
391	28/03/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>						+		
429	26/04/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
452	29/05/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>							+	
460	29/05/2017	1	fêmea	<i>Ae. aegypti</i>								+
465	28/06/2017	1	macho	<i>Ae. aegypti</i>								+

8. ANEXOS



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica



Using adult *Aedes aegypti* females to predict areas at risk for dengue transmission: A spatial case-control study

Maisa Carla Pereira Parra^a, Eliane Aparecida Fávoro^a, Margareth Regina Dêbo^b, Adriano Mondini^c, Álvaro Eduardo Eiras^d, Erna Geesien Kroon^e, Mauro Martins Teixeira^f, Mauricio Lacerda Nogueira^g, Francisco Chiaravalloti-Neto^{g,*}

^a Laboratório de Pesquisa em Entomologia, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Avenida Brigadeiro Faria Lima 5916, São José do Rio Preto, SP, Brazil

^b Laboratório de Entomologia, Superintendência de Controle de Endemias, Rua Cardinal Américo 2878, 05408000, São Paulo, SP, Brazil

^c Laboratório de Saúde Pública, Faculdade de Ciências Farmacéuticas, Campus Avançado, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto Avançado de In. 1, Araraquara, SP, Brazil

^d Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, Brazil

^e Departamento de Biologia e Zootecnia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, Brazil

^f Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, MG, Brazil

^g Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Avenida Doutor Arnaldo 715, São Paulo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Dengue virus,
Entomological index,
Aedes aegypti,
Spatial analysis

ABSTRACT

Introduction: Traditional indices for measuring dengue fever risk in a given area are based on the immature forms of the vector (larvae and pupae surveys). However, this is inefficient because only adult female mosquitoes actually transmit the virus. Based on these assumptions, our objective was to evaluate the association between an entomological index obtained from adult mosquito traps and the occurrence of dengue in a hyperendemic area. Additionally, we compared its cost to that of the former index (BI).

Material and methods: We performed this study in São José do Rio Preto, SP, Brazil, between the epidemiological weeks of 36/2012 and 19/2013. BG-Sentinel and BG-Mosquito traps were installed to capture adult mosquitoes. Positive and negative cases of dengue fever were compared and georeferenced. We generated biweekly thematic maps of the entomological index, generated by calculating the number of adult *Aedes aegypti* females (NAF) per 100 households during a week by trapping, and based on the number of mosquitoes captured. The relation between the occurrence of dengue fever and the NAF was tested using a spatial case-control design and a generalized additive model and was controlled by the coordinates of the positive and negative cases of dengue fever.

Results: Our analysis showed that increases in dengue fever cases occurred in parallel with increases in the number of *Ae. aegypti* females. The entomological index produced in our study correlates positively with the incidence of dengue, particularly during intervals when vector control measures were applied less intensively. The operational costs of our index were lower than those of the BI: NAF used 71.5% less human resources necessary to measure the BI.

Conclusion: Spatial analysis techniques and the number of adult *Ae. aegypti* females were used to produce an indicator of dengue risk. The index can be applied at various levels of spatial aggregation for an entire study area, as well as for sub-areas, such as city blocks. Even though the index is adequate to predict dengue risk, it should be tested and validated in various scenarios before routine use.

1. Introduction

Dengue causes serious health problems worldwide, with nearly 390

million infections every year (WHO, 2009). According to the Brazilian Ministry of Health (MS, 2016), there were almost 1.5 million cases of dengue fever in 2015. During the same period, the state of São Paulo

* Corresponding author at: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Avenida Doutor Arnaldo, 715, São Paulo, SP, CEP 04246-000, Brazil.

E-mail addresses: mcarla.perra@fmrp.usp.br (M.C.P. Parra), eliane.favoro@fmrp.usp.br (E.A. Fávoro), mardbo@fmrp.usp.br (M.R. Dêbo), amondini@fmrp.usp.br (A. Mondini), alvaro@fmrp.usp.br (Á.E. Eiras), ernakroon@fmrp.usp.br (E.G. Kroon), mauro@fmrp.usp.br (M.M. Teixeira), mnicolai@fmrp.usp.br (M.L. Nogueira), francisco@fmrp.usp.br (F. Chiaravalloti-Neto).

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.018>

Received 10 October 2017; Received in revised form 27 January 2018; Accepted 13 February 2018

Available online 17 February 2018

0001-706X/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Seroprevalence for dengue virus in a hyperendemic area and associated socioeconomic and demographic factors using a cross-sectional design and a geostatistical approach, state of São Paulo, Brazil

Francisco Chiaravalloti-Neto^{1*}, Rafael Alves da Silva², Nathalia Zini³, Galaine Celestino Dutra da Silva², Natal Santos da Silva³, Maisa Carla Ferreira Pama², Margareth Regina Dilbo³, Cassia Fernanda Estololeite², Eliane Aparecida Fávoro², Karina Rocha Dutra², Mankio Tasso Oliveira Mota³, Georgia Freitas Guimarães², Ana Carolina Bernardes Texeira², Maria Bongiardo³ and Mauricio Lacerda Nogueira²

Abstract

Background: São José do Rio Preto is one of the cities of the state of São Paulo, Brazil, that is hyperendemic for dengue, with the presence of the four dengue serotypes.

Objectives: to calculate dengue seroprevalence in a neighbourhood of São José do Rio Preto and identify if socioeconomic and demographic covariates are associated with dengue seropositivity.

Methods: A cohort study to evaluate dengue seroprevalence and incidence and associated factors on people aged 10 years or older, was assembled in Vila Torino neighbourhood, São José do Rio Preto. The participant enrolment occurred from October 2015 to March 2016 (the first wave of the cohort study); when blood samples were collected for serological test (ELISA IgG anti-DENV) and questionnaires were administered on socio-demographic variables. We evaluated the data collected in this first wave using a cross-sectional design. We considered seropositive the participants that were positive in the serological test (seronegative otherwise). We modelled the seroprevalence with a logistic regression in a geostatistical approach. The Bayesian Inference was made using Integrated nested Laplace approximations (INLA) coupled with the Stochastic Partial Differential Equation method (SPDE).

Results: We found 986 seropositive individuals for DENV in 1322 individuals surveyed in the study area in the first wave of the cohort study, corresponding to a seroprevalence of 74.6% (95%CI: 72.2–76.9). Between the population that said never had dengue fever, 68.4% (566/828) were dengue seropositive. Older people, non-white and living in a house (instead of in an apartment), were positively associated with dengue seropositivity. We adjusted for the other socioeconomic and demographic covariates, and accounted for residual spatial dependence between observations, which was found to present up to 800 m.

(Continued on next page)

* Correspondence: francisco@unesp.br

Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo (USP), Avenida Doutor Arnaldo 715, São Paulo, SP 01246-904, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2018 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.



Remote sensing for risk mapping of *Aedes aegypti* infestations: Is this a practical task?



Camila Lorenz^{a,1,*}, Francisco Chiaravalloti-Neto^{a,1}, Mariana de Oliveira Lage^b,
José Alberto Quintanilha^b, Maisa Carla Parra^c, Margareth Regina Dibo^d,
Eliane Aparecida Fávoro^e, Marlucci Monteiro Guirado^e, Maurício Lacerda Nogueira^e

^a Departamento de Epidemiologia, Instituto de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 715, São Paulo, SP, Brazil

^b Divisão Científica de Gestão, Ciências e Tecnologia Ambiental do Instituto de Geografia e Estatística - IGE da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^c Laboratório de Pesquisa em Virologia, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brazil

^d Laboratório de Entomologia, Superintendência de Controle de Endemias, São Paulo, SP, Brazil

^e Laboratório de Virologia, Superintendência de Controle de Endemias, São José do Rio Preto, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Mosquito control
Bayesian approach
Landcover
Geostatistical analysis

ABSTRACT

Mosquito-borne diseases affect millions of individuals worldwide; the area of endemic transmission has been increasing due to several factors linked to globalization, urban sprawl, and climate change. The *Aedes aegypti* mosquito plays a central role in the dissemination of dengue, Zika, chikungunya, and urban yellow fever. Current preventive measures include mosquito control programs; however, identifying high-risk areas for mosquito infestation over a large geographic region based only on field surveys is labor-intensive and time-consuming. Thus, the objective of this study was to assess the potential of remote sensing images (WorldView) for determining land features associated with *Ae. aegypti* adult infestations in São José do Rio Preto/SP, Brazil. We used data from 60 adult mosquito traps distributed along four quarters; the remote sensing images were classified by land cover types using a supervised classification method. We modeled the number of *Ae. aegypti* using a Poisson probability distribution with a geometrical approach. The models were constructed in a Bayesian manner using the Integrated nested Laplace Approximation and Stochastic Partial Differential Equation method. We showed that an infestation of *Ae. aegypti* adult mosquitoes was positively associated with the presence of asbestos roofing and roof slabs. This may be related to several other factors, such as socio-economic or environmental factors. The usage of asbestos roofing may be more prevalent in socioeconomically poor areas, while roof slabs may retain rainwater and contribute to the generation of temporary mosquito breeding sites. Although preliminary, our results demonstrate the utility of satellite remote sensing in identifying landscape differences in urban environments using a geometrical approach, and indicated directions for future research. Further analyses including other variables, such as land surface temperature, may reveal more complex relationships between urban mosquito micro-habitats and land cover features.

1. Introduction

Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) mainly inhabits urban and suburban environments in close association with humans (Service, 1992; Gibbons and Vaughn, 2002) and is considered the primary vector of the biological agents of dengue, Zika, chikungunya, and urban yellow fever (Kyle and Harris, 2008; Paupy et al., 2010). It is estimated that every year, approximately 3 billion people in the world are at risk of dengue

infection (Bhatt et al., 2013; WHO, 2016). In 2016, in Brazil alone, 802,249 new suspected cases of dengue fever, 63,810 confirmed cases of chikungunya, and 64,311 confirmed cases of Zika fever were reported in 1840 municipalities (MS, 2019). Female *Ae. aegypti* mosquitoes blood-feed during the day and usually lay their eggs in artificial containers such as buckets, drums, and tires, where water accumulates and remains for several days (Service 1992; Soder and Cloutier, 1997; Gubler, 1998; Calderón-Aguado et al., 2004). The presence of *Ae.*

Abbreviations: INLA, Integrated Nested Laplace Approximation; PCA, principal component analysis; PC, principal component; NAM, number of *Ae. aegypti* adult mosquitoes; SPDE, stochastic partial differential equation; W, intercept and the spatial dependence; DIC, Deviance Information Criterion; RC, rotated component.

* Corresponding author.

E-mail address: camilalorenz@usp.br (C. Lorenz).

¹ These authors contribute equally.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.102388>

Received 20 January 2020; Received in revised form 13 February 2020; Accepted 13 February 2020

Available online 14 February 2020

0001-706X/ © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

8.2 Artigos enviados para publicação (Ainda não publicados em revista científica):

Exploiting deep-based semantic segmentation for image classification and mosquito infestation prediction: a reanalysis of Lorenz et al. (2020)

Brenda Santana Sclauser¹, Higor Souza Cunha¹, Matheus Barros Pereira², Camila Lorenz³, Mariana de Oliveira Lage⁴, Maisa Carla Pereira Perra⁵, Margareth Regina Dibo⁶, Eliane Aparecida Fávaro⁵, Marlucci Monteiro Guirado⁷, Maurício Lacerda Nogueira⁵, Jefersson Alex dos Santos², José Alberto Quintanilha⁸ & Francisco Chiaravalloti-Neto³

1 Department of Electrical Engineering - Polytechnique School - Universidade de São Paulo - Brazil

2 Department of Computer Science - Universidade Federal de Minas Gerais - Brazil

3 Department of Epidemiology, Faculty of Public Health - Universidade de São Paulo - Brazil

4 Environmental Science Graduation Program (PROCAM) - Institute of Energy and Environment - Universidade de São Paulo - Brazil

5 Virology Research Laboratory, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, Brazil

6 Entomology Laboratory, Endemics Control Superintendence, São Paulo, Brazil

7 Vector Laboratory, Endemics Control Superintendence, São José do Rio Preto, Brazil

8 Scientific Division of Environmental Management, Science and Technology - Institute of Energy and Environment - Universidade de São Paulo - Brazil

Abstract

Billions of people are at risk for arboviruses such as Zika, Chikungunya, urban yellow fever, and dengue fever, the last being one of the most prevalent worldwide. The control of *Aedes aegypti*, their main vector, is still the most effective way to regulate these arboviruses, albeit control measures require an intensive work, which is time-consuming and needs a large number of financial resources. Moreover, several studies have shown that strategies currently used in the control programs are not highly effective, or even ineffective, and need improvement. Lorenz et al. (2020), in an attempt to identify tools that could improve these strategies, developed a study to assess the potential of using satellite images to predict infestation of *Ae. aegypti* adult females of a dengue-endemic medium-sized city in the state of São Paulo, Brazil. They associated the number of adult *Ae. aegypti* with land cover categories from WorldView-3 satellite images. As their main result, they found that areas with a higher presence of asbestos roofing and roof slabs were associated with an increase in the number of *Ae. aegypti* adult females. In this study, we re-analyzed the same dataset used by Lorenz et al. (2020) and the same methodology, except for the classification of images. Instead of using a classical supervised classification method, we used deep learning to classify the WorldView-3 images to obtain the land cover categories. We evaluated the similarities of our results with the ones obtained by Lorenz et al. (2020) and

Análise espacial da microevolução de *Aedes aegypti* em município endêmico de dengue no estado de São Paulo

Isaque Prado¹, Tamara Nunes Lima-Camara¹, Francisco Chiaravalloti-Neto¹, Maisa Carla Pereira Parra², Margareth Regina Dibo³, Maurício Lacerda Nogueira², Camila Lorenz¹

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Epidemiologia. São Paulo, SP, Brasil.

² Laboratório de Pesquisa em Virologia, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto. São José do Rio Preto, SP, Brasil.

³ Laboratório de Entomologia, Superintendência de Controle de Endemias, São Paulo, SP, Brasil

Resumo

Objetivo: Avaliar a estruturação e dinâmica populacional de *Aedes aegypti* no bairro Vila Toninho (São José do Rio Preto/SP), utilizando a morfometria geométrica alar e verificar a relação entre número de mosquitos, casos de dengue e variáveis ambientais.

Métodos: Foram utilizadas 187 fêmeas de *Ae. aegypti* coletadas ao longo do ano de 2017. Através da morfometria geométrica de 18 pontos anatômicos da asa, foram analisados forma e tamanho, segundo estação do ano e áreas de coleta (delimitadas pela ocorrência dos casos de dengue grave). Também foi verificada a correlação entre número de mosquitos coletados com os casos notificados de dengue, temperatura média e precipitação média entre 2007 e 2017.

Resultados: Quanto ao formato alar, houve diferença entre as estações do ano, principalmente entre inverno e primavera ($p < 0,0001$); e entre áreas de coleta no verão, segundo ocorrência de casos de dengue grave ($p < 0,0001$). Quanto ao tamanho, houve diferença entre as médias das estações analisadas conjuntamente ($p = 0,006$); e entre os pares inverno-verão ($p < 0,05$) e inverno-outono ($p < 0,01$). O número de mosquitos coletados correlacionou-se com a temperatura média ($p = 0,021$) e a precipitação média ($p = 0,001$).

Conclusões: Há indícios de microevolução nos *Ae. aegypti* da Vila Toninho, apesar do curto espaço de tempo analisado. A correlação positiva entre o número de mosquitos e as variáveis ambientais corrobora estudos anteriores e condiz com o observado na população desse vetor em cada época do ano.

Palavras-chave: controle, arboviroses, mosquito, asa, morfometria geométrica.