

Maisa Carla Pereira Parra

**Avaliação do uso de armadilhas para captura de
mosquitos associada a ferramentas de análise
espacial como indicadores para vigilância
entomológica e epidemiológica de dengue**

São José do Rio Preto

2014

Maisa Carla Pereira Parra

Avaliação do uso de armadilhas para captura de mosquitos associada a ferramentas de análise espacial como indicadores para vigilância entomológica e epidemiológica de dengue

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

Orientador: Prof. Dr. Adriano Mondini

São José do Rio Preto

2014

Parra, Maisa Carla Pereira

Avaliação do uso de armadilhas para captura de mosquitos associada a ferramentas de análise espacial como indicadores para vigilância entomológica e epidemiológica de dengue / Maisa Carla Pereira Parra. São José do Rio Preto, 2014.

80p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientador: Prof. Dr. Adriano Mondini

1. Dengue. 2. Análise Espacial. 3. Epidemiologia. 4. Vigilância Entomológica

Maisa Carla Pereira Parra

Avaliação do uso de armadilhas para captura de mosquitos associada a ferramentas de análise espacial como indicadores para vigilância entomológica e epidemiológica de dengue

BANCA EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Adriano Mondini

2º Examinador: Prof. Dr. Carlos Eugênio Cavasini

3º Examinador: Profa. Dra. Roberta Vieira de Moraes Bronzoni

Suplentes: Prof. Dr. Aripuanã Watanabe

Profa. Dra. Marília Calmon

São José do Rio Preto, 15 de Dezembro de 2014.

Sumário

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Epígrafe	iv
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi
Resumo	xiii
Abstract	xv
1.Introdução	1
2.Artigos Científicos	13
Artigos I	14
Artigos II	45
3. Conclusões	73
4. Referências	75

Dedicatória

Neste momento não poderia deixar de lembrar as pessoas que durante todo este tempo estiveram comigo, me amparando nos momentos mais difíceis, sorrindo comigo nos alegres.

Aos meus pais Antonio e Cecilia, ao meu irmão Neto e ao meu esposo Alex, dedico.

Agradecimentos

- 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.
- Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Mondini, por ter me dado a oportunidade de estar realizando este trabalho.
- À Profa. Dra. Eliane Fávaro, minha Co-Orientadora, que sempre esteve ao meu lado durante todo o tempo. Obrigado por ter confiado no meu trabalho!!!.
- Ao Prof. Dr. Mauricio Lacerda Nogueira, 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.
- Ao Prof. Dr. Francisco Chiaravalloti-Neto, por ter apostado em mim, por ter me ensinado coisas que eu jamais almejei aprender. Muito Obrigado!!!Principalmente por toda a paciência e dedicação que você teve comigo, assumo não foi fácil.
- Aos membros do Laboratório de Virologia FAMERP: Ana Carolina, Ari, Carlos, Carolina, Daiane, Danila, Gislaine, Kátia, Lucas, Mânlio, Milene, Tatiana, Tauyne, entre outros.
- À Profa. Margareth e aos membros do Laboratório de Vetores FAMERP que realizaram todo o trabalho de campo e também a identificação dos mosquitos.
- À CAPES pela concessão de bolsa de estudo durante o período do meu trabalho.
- À FAPESP que concedeu auxílio financeiro, sem qual este trabalho não poderia ter sido realizado.
- Ao INCT e PRONEX que concederam auxílio financeiro para realização de parte desta pesquisa.

➤ À minha família por todo afeto, carinho e paciência durante todo percurso. Esta conquista também pertence a vocês. OBRIGADA!!!

Epígrafe

“Eis o meu segredo... Só se vê bem com o coração, o essencial é invisível aos olhos.”

(Antoine de Saint-Exupéry)

“It is impossible not to feel stirred at the thought of the emotions...at certain historic moments of adventure and discovery: Columbus when he first saw the Western shore, Pizarro when he stared at the Pacific Ocean, Franklin when the electric spark came from the string of his kite, Galileo when he first turned his telescope to the heavens. Such moments are also granted to students in the abstract regions of thought, and high among them must be placed the morning when Descartes lay in bed and invented the method of coordinate geometry.”

(A. N. Whitehead, quoted in Maling - 1973)

Lista de Figuras

Introdução

Figura 1: Número de casos de dengue notificados no país no período de 2006 a 2013. Dados obtidos do Portal da Saúde.....3

Figura 2: Casos de dengue no país no ano de 2014 (relativos às semanas epidemiológicas 1-38/2014, divididos por região. Dados obtidos do Portal da Saúde do Ministério da Saúde do Brasil.....3

Figura 3: Casos de dengue notificados no estado de São Paulo entre os anos de 2006 e 2013. Dados obtidos do site CVE4

Figura 4: Casos de dengue notificados no município de São José do Rio Preto - SP entre os anos de 2006 e 2013. Dados obtidos do site CVE5

Figura 5: Genoma viral do DENV, contendo a poliproteína precursora com as dez proteínas clivadas6

Artigo I

Figure 1: The first ten epidemiological weeks (weeks 15 through 24 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-MosquititoTM and BG-SentinelTM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.....37

Figure 2: The next ten epidemiological weeks (weeks 25 through 34 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito TM and BG-Sentinel TM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.....38

Figure 3: The next ten epidemiological weeks (weeks 35 through 44 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito TM and BG-Sentinel TM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases.....39

Figure 4: The next ten epidemiological weeks (weeks 45 of 2012 through 2 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito TM and BG-Sentinel TM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases.....40

Figure 5: The next ten epidemiological weeks (weeks 3 through 12 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito TM and BG-Sentinel TM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented

with purple stars and the traps with the male that were positive for dengue (DENV4) are represented with purple crosses.....41

Figure 6: The final ten epidemiological weeks (weeks 13 through 22 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito TM and BG-Sentinel TM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.....42

Figure 7: The percentages of positive and negative traps with confirmed human dengue cases around them. The red represents the percentages of all positive traps around which human dengue cases were present (200 m), and the blue represents the percentages of all negative traps around which human dengue cases in its around (200 m). The values presented are percentages.....43

Figure 8: The comparison between the positive and negative traps installed in the neighborhood. The red line represents all positive traps with human dengue cases around them (200 meters). The blue line represents all negative traps with human dengue cases around them (200 meters). In this figure, the values are absolute numbers...43

Artigo II

Figura 1: Número de casos de dengue notificados no bairro Solo Sagrado durante o período do estudo. Os casos foram separados de acordo com o tipo de exame que foi realizado para confirmação.....53

Figura 2: Comparação por quinzena entre o número de casos de dengue confirmados e o número de fêmeas capturadas pelas armadilhas durante o período do estudo.....54

Figura 3: Mostra todos os endereços das residências onde foram instaladas as armadilhas BG-Mosquitito e BG-Sentinel. Os círculos lilás representam as armadilhas e os tamanhos são diferenciados pela quantidade de fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* capturados pelas mesmas.....56

Figura 4: Mostra todos os endereços de moradores com suspeitas de dengue no bairro trabalhado. Os círculos vermelhos representam os casos de dengue positivos para o vírus DENV, confirmados por exame laboratorial e os círculos marrons representam os casos de dengue notificados que foram considerados negativos para os vírus DENV através de exame laboratorial.....57

Figura 5: Apresenta os índices de infestação por fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* em todas as quinzenas trabalhadas. Quanto mais próximas às cores estão do verde menor são os índices de infestação quanto mais próxima a cor laranja maior os índices de infestação.....59

Figura 6: Comparação entre os índices de infestação vetorial e os níveis de risco relativo para a ocorrência de dengue. As letras A, B, C e D representam em todas as quinzenas: o índice de infestação vetorial, intervalo de confiança do índice de infestação vetorial, nível de risco relativo para a ocorrência de dengue e índice de significância referente ao risco relativo, respectivamente. As linhas de 1 a 9 representam as quinzenas, sendo a linha 1 formada pelas quinzenas 52/2012 – 1/2013 (armadilhas) e 1/2/2013 (casos de dengue). A linha 2 é formada pelas quinzenas 2-3/2013 (armadilhas) e 3-4/2013 (casos de dengue). A linha 3 é formada pelas quinzenas 4-5/2013

(armadilhas) e 5-6/2013 (casos de dengue). A linha 4 é formada pelas quinzenas 6-7/2013 (armadilhas) e 7-8/2013 (casos de dengue). A linha 5 é formada pelas quinzenas 8-9/2013 (armadilhas) e 9-10/2013 (casos de dengue). A linha 6 é formada pelas quinzenas 10-11/2013 (armadilhas) e 11-12/2013 (casos de dengue). A linha 7 é formada pelas quinzenas 12-13/2013 (armadilhas) e 13-14/2013 (casos de dengue). A linha 8 é formada pelas quinzenas 14-15/2013 (armadilhas) e 15-16/2013 (casos de dengue). A linha 9 é formada pelas quinzenas 17-18/2013 (armadilhas) e 19-20/2013 (casos de dengue).....60

Lista de Tabelas

Artigo I

Table 1: Statistical tests shown p values for number of dengue cases by epidemiological week from the neighborhood Solo Sagrado on São José do Rio Preto – SP, during the period.....	35
Table 2: Calculations of Sensibility by Value (TP, FP, TN and FN).....	36

Artigo II

Tabela: Quantidade de armadilhas instaladas, total de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> capturadas, quantidade de casos de dengue confirmados por exame laboratorial e casos descartados (negativos) por meio de exame laboratorial.....	52
---	----

Lista de Abreviaturas

C – Capsídeo

DENV – Dengue vírus

dNTP – Deoxynucleotide triphosphate (G-guanine, T-Thymine, A-Adenine, C-Cytosine)

E – Envelope

FD – Febre do Dengue

FHD – Febre Hemorrágica do Dengue

GIS – Geographical Information System

IB – Índice de Breteau

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDA – Índice de densidade de adultos

IDHM – Índice de Desenvolvimento Humano Municipal

IIP – Índice de Infestação Predial

M – Membrana

MS – Ministério da Saúde do Brasil

NS – Non-Structural Protein (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR –Polymerase Chain Reaction

PNCD – Plano Nacional de Controle da Dengue

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SJRP – São José do Rio Preto

UTM – Universal Terminator Marcator

WHO – World Health Organization

Resumo

Introdução: A dengue é um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo. É causada por um dos quatro sorotipos do vírus DENV (DENV1-4), pertencente ao gênero *Flavivirus*. É transmitida ao homem através da picada da fêmea de mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti*. Este vetor está totalmente adaptado a ambientes humanos e se reproduz em recipientes com água, principalmente aqueles produzidos pelo homem. Os objetivos deste estudo foram identificar as espécies de mosquitos presentes em bairro com transmissão sustentada do DENV; avaliar se as armadilhas aduáticas podem ser usadas como indicadores de infestação vetorial na área; identificar as áreas do bairro com maiores índices de infestação vetorial e os sorotipos circulantes; avaliar o uso das armadilhas como possíveis Sistemas Sentinelas para a ocorrência de dengue na área; e avaliar a distribuição espacial do risco relativo para a ocorrência de dengue e a sua associação com os indicadores entomológicos do vetor no bairro. **Materiais e Métodos:** Armadilhas do tipo BG-Mosquitito e BG-Sentinel foram instaladas em residências do bairro para captura dos mosquitos. Os *pools* de mosquitos foram identificados e separados por gênero e espécie e tiveram o RNA total extraído. Foram testados por Multiplex-RT-PCR, com primers genéricos para *Flavivirus* com posterior Nested utilizando primers específicos para os quatro sorotipos do DENV. Todas as amostras foram geocodificadas e foram construídos mapas semanais e quinzenais. **Resultados:** Aproximadamente 3.000 armadilhas foram instaladas durante o estudo, as mesmas coletaram um total de 1.645 mosquitos *Aedes aegypti*, sendo 671 machos e 974 fêmeas. Foram analisados 893 *pools* de mosquitos, destes 2.8% foram positivos para o sorotipo DENV4. Todos os endereços das residências onde as armadilhas foram instaladas e também dos casos de dengue

notificados no bairro (positivos ou negativos, confirmados por exame laboratorial) foram geocodificados. **Conclusões:** Concluimos que a utilização das armadilhas, associadas a ferramentas de biologia molecular, não foi suficiente para detectar a circulação viral na área antes da ocorrência de casos humanos. No entanto, quando associadas a ferramentas de análise espacial, as mesmas se mostraram como bons indicadores de áreas de risco para a transmissão da doença, podendo ser utilizadas em intervenções pontuais.

Palavras-Chave: 1. Dengue. 2. Análise Espacial. 3. Epidemiologia. 4. Vigilância Entomológica

Abstract

Introduction: The dengue is the most important vector-borne worldwide. It's caused by one of four serotypes of dengue virus (DENV1-4), which belong to *Flavivirus* genus. It is transmitted to humans by the bite of *Aedes* mosquitos, especially *Aedes aegypti*. This vector is adapted to human environments and water containers created by humans are their breeding sites. In this study, we performed a screening for the circulating serotypes of DENV in mosquitos from an area in São José do Rio Preto – SP (Brazil), associated with spatial analysis tools as entomological and epidemiological indexes for dengue.

Materials and Methods: BG-Mosquitito and BG-Sentinel traps were installed at residences to capture mosquitos from the area. The mosquitos were pooled according to the gender and species and had the viral RNA extracted. The pools were tested by Multiplex-RT-PCR with *Flavivirus* generic primers followed by Nested assays with species-specific primers for DENV. Every sample was geocoded and weekly and fortnightly maps were created.

Results: Nearly 3,000 trap collections were performed and 1,645 *Aedes aegypti* mosquitos (671 males and 974 females) were collected. The 893 pools presented 2.8% positivity for the DENV-4. We geocoded all collection addresses along the reported dengue cases in the neighborhood (confirmed as positive or negative by the laboratory exam).

Conclusions: The use of traps to collect adult mosquitos was not sufficient for detecting the presence of infected mosquitos before the occurrence of human dengue cases. However, the use of geostatistical techniques associated with entomological indexes and dengue cases may provide the relative risk of dengue occurrence and together, they could be use in point of care interventions.

Key words: 1. Dengue; 2. Spatial Analysis; 3. Epidemiology; 4. Entomological Surveillance.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Descrições Gerais

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o vírus do dengue (DENV) é o arbovírus que apresentou maior dispersão mundial nos últimos 50 anos. Durante a Assembleia Mundial de Saúde em 2005, a dengue foi incluída entre as doenças que constituem um problema de saúde pública mundial, devido a sua expansão e aumento de incidência⁽¹⁾. Anualmente estima-se que aproximadamente 390 milhões de infecções sejam causadas pelo DENV ao redor do mundo, sendo que 500 mil casos evoluem para a Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) ocasionando 20 mil mortes/ano⁽²⁾. Segundo a OMS, somente a América do Sul, entre os anos de 2001 e 2007, notificou em torno de 65% de todos os casos de dengue no mundo, dos quais 6733 evoluíram para FHD, com um total de 500 mortes. O Brasil, neste período, registrou cerca de 98% dos casos⁽¹⁾.

Dados do Ministério da Saúde do Brasil (MS) mostram que o número de casos de dengue vem crescendo anualmente no país, nos últimos cinco anos foram notificados aproximadamente 4.35 milhões de casos de febre do dengue (FD) (Figura 1), ocasionando 847 óbitos. Somente no ano de 2014 foram registrados mais de 530 mil casos. A região Sudeste foi a região que apresentou a maior quantidade de casos, com cerca de 56%, a região Centro-Oeste registrou em torno de 20% seguida pela região Nordeste com 15%, a região Norte com 5% e com o menor número de casos ficou a região Sul com 4% (Figura 2)⁽³⁾.

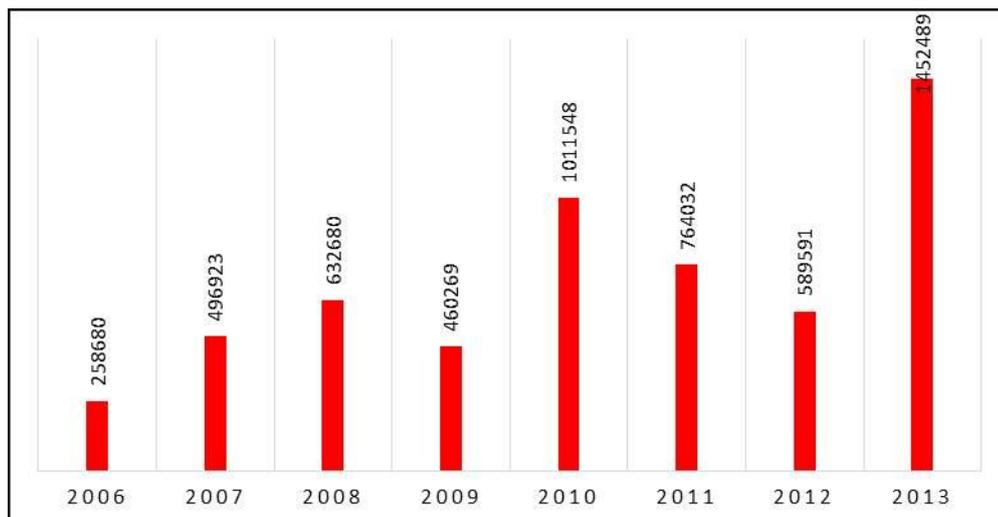


Figura 1: Série Histórica do número de casos de dengue notificados no país no período de 2006 a 2013. Dados obtidos do Portal da Saúde⁽³⁾.

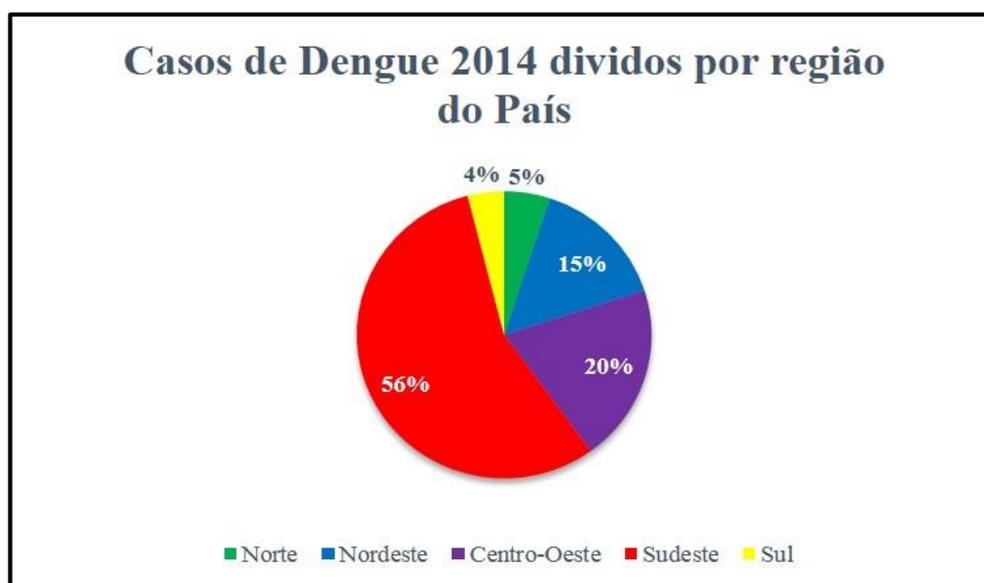


Figura 2: Casos de dengue no país no ano de 2014 (relativos às semanas epidemiológicas 1-38/2014), divididos por região. Dados obtidos do Portal da Saúde⁽³⁾.

O estado de São Paulo registrou aproximadamente 550 mil casos de dengue nos últimos cinco anos (Figura 3). No ano de 2014 foram registrados mais 165 mil casos entre as semanas epidemiológicas 1-38/2014⁽⁴⁾.

São José do Rio Preto, cidade do Noroeste Paulista, apresentou seu primeiro caso autóctone de dengue notificado no ano de 1990 com a introdução do sorotipo DENV1 no município⁽⁵⁾. Nos anos de 1998 e 2005 foram introduzidos os sorotipos DENV2 e DENV3, respectivamente⁽⁶⁾. O sorotipo DENV4 foi introduzido no município no ano de 2011⁽⁷⁾. De 2010 a 2014, o município notificou mais de 46 mil casos da doença (Figura 4), sendo que destes, mais de 19 mil foram notificados no ano de 2013⁽⁸⁾. Em 2014 o município notificou, até a semana epidemiológica 38, 433 casos de dengue (autóctones e importados).

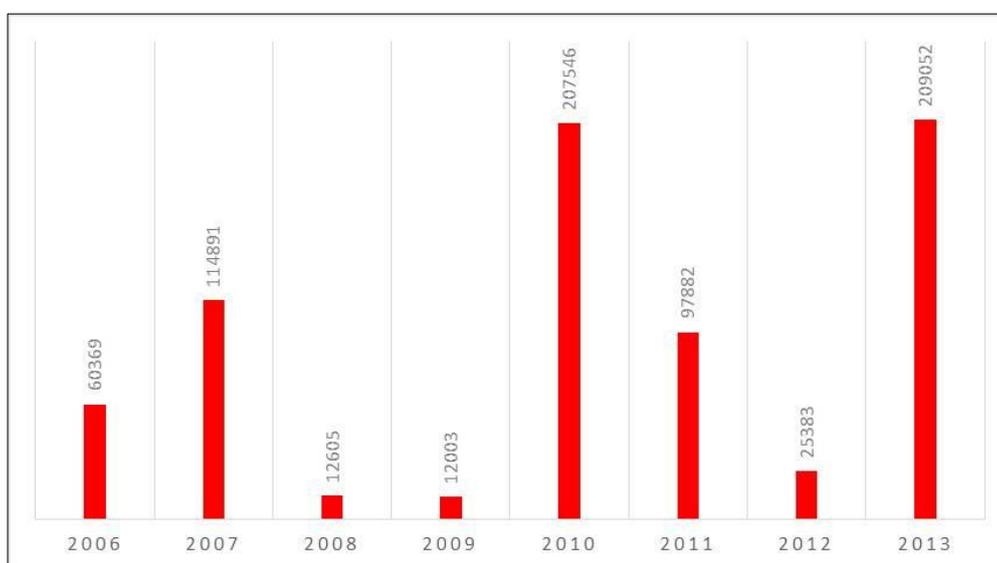


Figura 3: Série Histórica do número de casos de dengue notificados no estado de São Paulo entre os anos de 2006 e 2013. Dados obtidos do site CVE⁽⁸⁾.

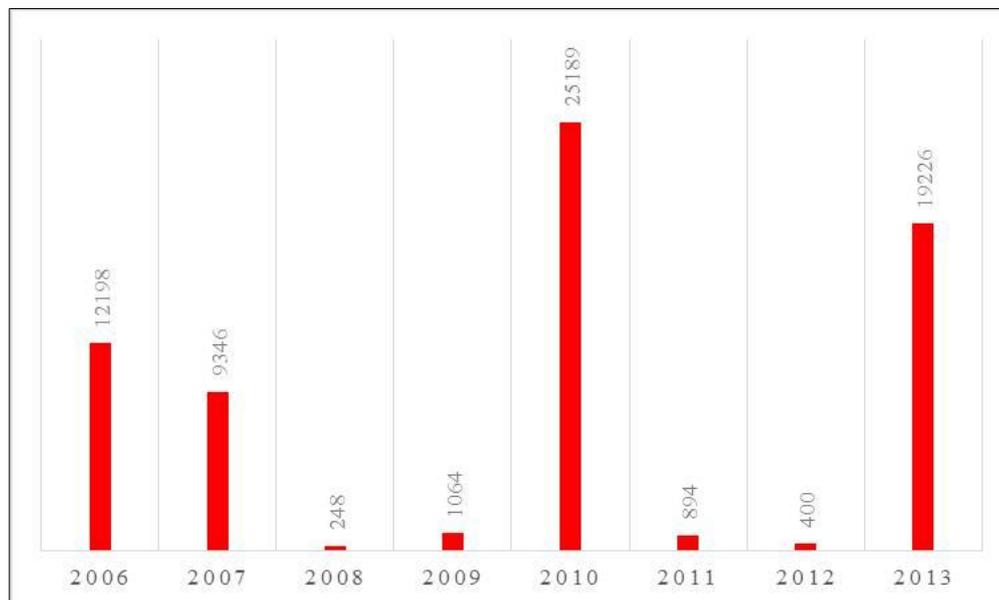
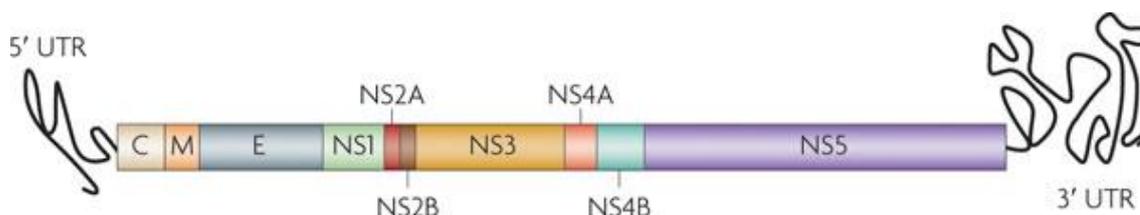


Figura 4: Série Histórica do número de casos de dengue notificados no município de São José do Rio Preto - SP entre os anos de 2006 e 2013. Dados obtidos do site CVE⁽⁸⁾.

O vírus do dengue é um vírus de RNA de fita simples com polaridade positiva, é subdividido em quatro sorotipos (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) distintos entre si, mas antígenicamente relacionados. É pertencente ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*. O genoma viral possui uma única fase de leitura aberta (Figura 5), a qual codifica uma poliproteína precursora que é clivada em dez proteínas, sendo três estruturais (C, M e E) e sete não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5)⁽⁹⁾.



Nature Reviews | Microbiology

Figura 5: Genoma viral do DENV, contendo a poliproteína precursora com as dez proteínas clivadas.

Existem diferentes manifestações clínicas que a infecção pelo vírus DENV pode causar, sendo os sintomas mais comuns: náuseas, exantema, mialgia, artralgia, cefaleia, dor retroorbital, petequias e leucopenia. A dengue pode evoluir para dengue com sinais de alarme, no qual o indivíduo apresenta um ou mais dos seguintes sintomas: dor abdominal intensa, vômitos persistentes, acumulação de líquidos, sangramento de mucosas, letargia ou irritabilidade. E os casos mais graves podem evoluir para dengue grave, resultando em choque devido ao extravasamento grave do plasma evidenciando taquicardia, extremidades frias e tempo de enchimento capilar igual ou superior a três segundos e/ou sangramento grave e ainda podendo levar ao comprometimento grave de órgãos⁽¹⁾.

O DENV é transmitido ao homem através da picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* infectada por um ou mais sorotipos DENV. Este mosquito é encontrado principalmente em regiões tropicais e subtropicais, entre as latitudes de 35°N e 35°S. Seus estágios imaturos dependem de locais que apresentem água limpa e preferencialmente sem matéria orgânica para se reproduzir, principalmente aqueles reservatórios artificiais produzidos pelo ser humano^(1,10, 11). Por ter desenvolvido comportamento sinantrópico, esta espécie pode ser encontrada tanto no intra como no

peri-domicílio^(12,13). Também é reconhecido entre os demais culicídeos como a espécie mais associada ao homem por apresentar comportamento antropofílico, sendo considerado o principal vetor responsável pela transmissão urbana do DENV⁽¹⁴⁾.

Estudos sugerem que as fêmeas de *Aedes aegypti* passam a maior parte do seu ciclo de vida ao redor das casas de onde as mesmas emergiram como adultas. Devido a sua grande adaptação a ambientes humanos, a propagação viral entre diferentes hospedeiros é favorecido por este comportamento^(1, 15). Para que o DENV possa ser transmitido, a fêmea do mosquito deve picar uma pessoa doente, que esteja com altos índices de viremia, para que assim seja infectada pelo vírus. Após a picada, a fêmea vai se tornar infectante após um período de incubação extrínseco do vírus que varia de 7 a 12 dias, mas que normalmente não ultrapassa 8 dias^(1, 15).

De acordo com Donalísio e Glasser⁽¹⁶⁾, as condições climáticas estão diretamente relacionadas com a ocorrência de dengue. Os autores citam a ocorrência de grandes epidemias no Sudeste Asiático (1954-58) e nas Américas (1980-90) diretamente relacionadas à estação chuvosa e com temperaturas elevadas⁽¹⁶⁾.

Até o presente momento não existe nenhuma vacina licenciada para dengue que possa ser comercializada. Portanto o controle do vetor e o monitoramento de casos suspeitos são as únicas alternativas para a tentativa de diminuir a ocorrência da doença⁽¹⁷⁾. Muitos estudos têm abordado a epidemiologia da dengue, nesta perspectiva podemos destacar a identificação de eventos específicos, sensíveis e que tenham bom custo benefício. Sistemas de alerta precoce que permitam o rápido desencadeamento de medidas para prevenir a dispersão do DENV são cruciais para o controle da dengue nas cidades⁽¹⁷⁾.

Segundo Coelho⁽¹⁸⁾, os mosquitos *Aedes aegypti* podem ser encontrados no Brasil em todas as unidades da federação, o que demonstra a seriedade com que as medidas de controle de infestação devem ser tratadas e conduzidas. Para isto o MS desenvolveu o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) com o intuito de melhorar a qualidade dos serviços de campo voltados para o controle do vetor.

O PNCD recomenda algumas estratégias que visam mensurar os índices de infestação vetorial em suas fases imaturas. Estas estratégias têm o enfoque voltado para a inspeção de construções (como casas, comércios ou terrenos) para a localização de possíveis criadouros do mosquito. Para isso foram lançadas propostas de atividades de campo que produzam índices como o Índice de Breteau (IB)⁽¹⁹⁾ ou o Índice de Infestação Predial (IIP) bem como o levantamento da densidade de larvas e/ou de pupas nas localidades trabalhadas^(18, 20, 21).

No entanto, diversos autores descrevem que o levantamento destes índices apresenta várias limitações, tais como gasto aumentado de tempo e pessoal de campo, como também a baixa sensibilidade destes métodos quando comparados a outros indicadores entomológicos e também por estes índices não considerarem a produtividade de adultos na localidade^(20, 21, 22).

Armadilhas para a captura de mosquitos adultos podem ser utilizadas para levantamentos de indicadores entomológicos que visam a verificação da realidade do local e também para a visualização de áreas com maiores riscos de transmissão e ocorrência da dengue. Isso se deve, por este levantamento ser realizado utilizando índices de mosquitos adultos, ou seja, aqueles insetos que realmente podem transmitir o

vírus, sendo assim são uma alternativa mais próxima da realidade do que os índices larvários⁽²³⁾.

As armadilhas BG-Mosquitito e BG-Sentinel foram desenvolvidas na Alemanha pela Universidade de Regensburg e são comercializadas pela empresa Biogents S/A (Regensburg – Alemanha). Ambas as armadilhas utilizam atraentes sintéticos que mimetizam o odor da pele humana. Estes atraentes são compostos por amônia, ácido láctico e ácido capróico, sendo todos atóxicos⁽²⁴⁾.

Alguns autores^(25, 26, 27) testaram no Brasil a eficácia de dois tipos de armadilhas de captura de adultos, a MosquiTrapTM e a BG-SentinelTM, e perceberam que elas se mostraram de fácil manipulação, capturam uma quantidade maior de insetos e puderam cobrir uma área maior em um tempo menor. Em estudo realizado na Polinésia Francesa⁽²⁸⁾ os autores compararam a eficácia das armadilhas BG-MosquititoTM e BG-SentinelTM com iscas humanas e perceberam que ambas apresentaram a mesma eficácia para a captura de insetos adultos. E ainda testaram a eficácia destes tipos de armadilhas comparando-as com aspiradores manuais e neste caso as armadilhas se mostraram mais eficazes do que os aspiradores, pois capturaram um número superior de insetos.

De acordo com Deneger⁽¹⁵⁾, a investigação molecular da presença do DENV em mosquitos é importante visto que permite a realização de uma estimativa entre as diferenças de risco de transmissão do DENV em uma área tratada e uma área não tratada. A técnica molecular de transcrição reversa tem sido empregada, nos últimos anos, em diversos diagnósticos de doenças infecciosas e tem demonstrado ser um instrumento útil para o diagnóstico do DENV. Além de eficiente para a identificação viral é uma técnica bastante simples e que permite a caracterização viral durante

epidemias, é sensível para detecção viral e pode ser utilizadas em diferentes tipos de amostras, como por exemplo: soro, tecidos de casos fatais, cultura de células e *pools* de larvas e adultos de mosquitos^(29, 30).

John Snow em 1854 foi o primeiro epidemiologista a associar epidemiologia a técnicas de análise espacial. Durante um surto de cólera na cidade Londres UK, ele construiu um mapa da Broad Street epicentro da epidemia, sendo possível a visualização da relação entre os casos da doença com a utilização de água de poços contaminados⁽³¹⁾. Com o passar do tempo as tecnologias de cartografia e mapeamentos foram sendo aprimorados até que, na década de 1960, surgiu o GIS (Geographical Information System) com o qual hoje é possível a construção de mapas para a verificação da dispersão de diferentes fatores associados à proliferação de doenças infectocontagiosas⁽³²⁾.

De acordo com Cavalcante et al⁽³²⁾, o emprego de análise espacial em epidemiologia visa principalmente responder a diversas questões. Dentre elas, podemos destacar: se a distribuição de casos acontece aleatoriamente ou existe um padrão de distribuição; se a população tem ação direta ou indireta na disseminação; se existe algum fator ambiental relacionado à dispersão; e se existe a formação de algum fator potencial de risco.

Segundo Nogueira e Amaral⁽³³⁾, quando se realiza a interpolação de dados geográficos com dados pontuais é possível a criação de representações espaciais relativas a um evento. Hoje temos análises cada vez mais precisas e isso se deve tanto ao progresso computacional quando ao aprimoramento das técnicas de mapeamento e da avaliação da qualidade dos atributos a ela direcionados.

Existem diferentes métodos de processamento de dados geográficos, dentre eles podemos destacar a técnica de Krigagem, que realiza um processo de estimativa geoestatístico que leva em consideração dois tipos de estimador: 1- realizando uma interpolação exata de todos os valores observados; ou 2- fazendo um cálculo da média de uma variável regionalizada para uma região maior. Em ambos, essa técnica realiza uma estimativa de uma região e fornece ao final da análise um possível “erro” associado a esta estimativa⁽³⁴⁾.

Os GIS e análise espacial podem ser associados à vigilância de dengue para avaliar e identificar os fatores de risco associados à disseminação da doença em uma determinada área. Assim, nesse caso, os dados geográficos são utilizados para identificar as áreas críticas que estão diretamente relacionadas com a modulação da dinâmica da dengue^(35, 36, 37). Ferramentas de análise espacial foram utilizadas na Tailândia por pesquisadores que queriam compreender a dinâmica da doença naquela localidade e chegaram à conclusão de que este tipo de análise pode avaliar a difusão espacial da doença além de ser possível observar a formação de *hotspots* de transmissão de dengue no país⁽³⁸⁾.

Portanto, a utilização em conjunto de ferramentas de análise espacial, análise molecular com utilização da técnica de PCR e estudos tanto epidemiológicos como entomológicos fornecem informações cruciais para a tomada de decisões por parte das autoridades de saúde do município.

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivos Gerais

O objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia das armadilhas de captura de mosquitos adultos associadas a ferramentas de análise espacial e molecular como indicadores epidemiológicos e entomológicos em município do estado de São Paulo.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Identificar as espécies de mosquitos presentes em um bairro com transmissão sustentada do DENV;
- Avaliar se as armadilhas adulticidas podem ser usadas como indicadores de infestação vetorial na área;
- Identificar as áreas do bairro com maiores índices de infestação vetorial;
- Identificar os sorotipos do vírus do dengue circulantes no bairro;
- Avaliar o uso de armadilhas como possíveis Sistemas Sentinelas para ocorrência de dengue na área do estudo;
- Avaliar a distribuição espacial do risco relativo para a ocorrência de dengue e a sua associação espacial com os indicadores entomológicos do vetor no bairro.

2. ARTIGOS CIENTÍFICOS

Epidemiological Surveillance: Evaluation of the Sentinel System for Dengue in a city in the northwest São Paulo.

Parra, MCP¹; Fávaro, EA¹; Dibo, M²; Pereira, M²; Eiras, AE³, Kroon, EG³; Chiaravalloti-Neto, F⁴; Mondini, A⁵; Nogueira, ML¹.

¹ FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto;

² SUCEN – Superintendência de Controle de Endemias;

³ UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais;

⁴ USP – Universidade de São Paulo;

⁵ UNESP – Universidade Estadual Júlio Mesquita/FCFAR-Araraquara.

ABSTRACT

The dengue virus is the most important vector-borne disease worldwide. *Aedes aegypti* is the main mosquito responsible for the urban transmission of the disease. São José do Rio Preto (SJRP) is a city located in the northwest of São Paulo and had a high incidence of dengue cases in 2013. Some tools can make dengue surveillance more effective, such as geographic information systems (GIS) and spatial analysis. Spatial data on the traps used to capture adult mosquitos enable the analysis of fundamental variables in the disease's transmission. This study used traps for adult mosquitos as a dengue sentinel surveillance system to detect dengue cases in a region of SJRP. Two types of traps were installed weekly, the BG-MosquititoTM and the BG-SentinelTM. To detect the serotypes of dengue circulating among the mosquitos, we used a multiplex nested RT-PCR. TerraView and ArcGIS softwares were used to produce thematic maps. We analyzed 893 mosquito pools, which 2.8% were positive for the DENV-4. Thematic maps showed clusters of the vector infestation. In relation to mosquito location, dengue cases were identified before the detection of DENV in mosquitos, a clear indication that

these traps were not a suitable sentinel surveillance system for detecting dengue cases. However, they can be used as instruments for entomological surveillance.

SUMMARY

São José do Rio Preto is a city in the state of São Paulo with a high annual number of dengue cases. Without a specific vaccine for the illness, the only way to contain the illness is through vector control. For this study, traps to capture adult mosquitos and M-N-RT-PCR were used as a sentinel surveillance system. Mosquito were captured for one year and DENV was detected in 2.8% of the collections. However, these traps did not work as a sentinel system for human dengue cases as expected.

INTRODUCTION

Dengue viruses produce one of the most important vector-borne diseases worldwide. The virus has four antigenically distinct serotypes (DENV1–4). Dengue can present as an asymptomatic or as a self-limited febrile illness or may present warning signs that can evolve to more serious manifestations (1). Annually, it is estimated that approximately 390 million infections are caused by DENV worldwide, with 500,000 cases evolving to more severe manifestations and causing 20,000 deaths/year (2). According to the World Health Organization (WHO), from 2001 to 2007, South America registered 64.6% of the dengue cases in the world, with 6,733 evolving to hemorrhagic forms of the disease, with 500 deaths. Brazil was responsible for 98.3% of these dengue cases in this period (1).

Mosquitos from the genus *Aedes* are those primarily responsible for DENV transmission. *Aedes aegypti* has evolved to be well domesticated; it can be found inside premises (3, 4) and shows anthropophilic behavior, being recognized among the culicids as the most adapted to manmade environments (5). It is the main vector responsible for

the urban transmission of the DENV, with the ability to reproduce in manmade breeding sites (6, 7).

Currently, different strategies enable the measurement of *Aedes aegypti* infestations; such as the larval-based Breteau index and the house and container indices are traditionally used in control routine and research (8). However, in areas where immature forms of the vector are located, it is not possible to estimate the real abundance of the mosquitos or the risk of disease transmission (9). Indices based on trapped and captured adults have been used as an alternative approach, and they perform better than do larval indices at providing suitable estimates of mosquito density and disease transmission risk (10).

Other authors (11, 12, 13) who tested the efficiency of the traps for capturing adults in Brazil found that the MosquiTrap™ and the BG-Sentinel™, when contrasted with other entomological surveillance methods, demonstrated more efficiency, they were more easily manipulated, captured multiple specimens at once and covered larger areas in less time.

Hapairai et al (14), in a study in French Polynesia, compared the BG-Mosquitito™ and the BG-Sentinel™ traps with human bait and found them to be equally effective at capturing adult mosquitos. Both traps were also more effective at capturing than were manual aspirators and yielded a greater number of specimens.

Geographic information systems (GIS) and spatial analysis can be used to identify and to evaluate the risk factors for disease transmission (15, 16). Geographic data have been used in epidemiological studies to identify critical areas for dengue and the varying relationships that modulate the disease's dynamic (17). Jeefoo et al (18)

used spatial analysis to understand dengue spread dynamics in Thailand, assessing the spatial spread patterns and identifying hotspots for dengue case notification.

Without a commercially available vaccine, decreases in disease occurrence are based on vector control and on monitoring suspect cases, and these have been the main targets of epidemiological dengue studies. One study found that identifying specific events using reasonable and cost-effective techniques is crucial for establishing rapid alert systems that can control the spread of the disease quickly (19).

In this context, our study proposed to evaluate a sentinel surveillance system for detecting the dengue virus based on installing traps to capture adult mosquitos and on identifying the common serotypes among the vectors in one neighborhood of a city located in the northwest region of São Paulo State where dengue is endemic (20).

MATERIAL AND METHODS

1. Area Study

São José do Rio Preto is located in the northwest region of São Paulo State, Brazil, with an estimated population of 434,039 habitants and the Municipal Human Development Index (IDHM) of 0,797 in 2010 (21). It has a geographic area of 431,963 km², and it has reference centers for the treatment, prevention and control of infectious diseases such as dengue. In recent years, the city has observed a high incidence of dengue. In the last five years, 45,709 cases of dengue were reported, with 19,226 cases in 2013 (22). The neighborhood selected for the study was the Solo Sagrado, which is located in the north portion of the city; the traps were installed in this neighborhood, which presents 26 census tracts. The 7,800 premises are located in an area of 227.8 hectares and shelter a population of 24,960 habitants. Research of the census tracts at

high risk for dengue during the period 1995 through 2010 showed that the Solo Sagrado census tracts were at a higher risk than other neighborhoods (23). The area presented conditions for dengue occurrence, such as high mean temperature, high population density and the presence of *Aedes aegypti* mosquitos.

2. Installing the Traps and Identifying the Mosquitos

Mosquitos were collected with 31 traps, including 26 BG-Mosquitito™ and 5 BG-Sentinel™ traps for 60 weeks from May 2012 to May 2013, which corresponds to epidemiological week 15 of 2012 through epidemiological week 22 of 2013. The traps were installed on Mondays and Thursdays and retrieved on Tuesdays and Fridays; each was kept at a given residence for 24 hours. The traps were installed weekly at 62 different residences, which were approximately 105 meters apart from east to west and north to south following a regular grid. This distance is the flying radius of the *Aedes aegypti*, which can reach 800 meters (26) but normally does not move more than 150 meters (6).

The traps were installed in safe, tiled places, near flowerpots or foliage, at each residence. All relevant data were collected and recorded on a database that contained the address, the name of the residents, the trap number, the installation and retrieval dates, the number of collected mosquitos (separated in pools), and all molecular analysis results. After the traps were retrieved, mosquitos were identified at the Laboratório de Vetores (FAMERP) using specific taxonomic keys (27, 28) pooled according to species and gender and stored into 1.5 ml polypropylene tubes properly labeled by date and site of collection, each pool contain at the most 10 mosquitos. They were maintained at -

80°C for subsequent analysis at Laboratório de Virologia (FAMERP) until viral screening assays.

3. Molecular Analysis

3.1 Viral RNA extraction

For the viral RNA extraction, we used the protocol described by Machado et al (30). Mosquito pools collected were macerated with an autoclaved polypropylene pestle with 50 µL of PBS 1X for the initial grinding and the subsequent addition of 850 µL of PBS for smoothing. The macerate was centrifuged for 4 minutes at 2,300 g in a refrigerated centrifuge (4°C). An aliquot was used for viral RNA extraction, and the remainder of each sample was kept at -80°C. Next, we added 400 µL of Trizol (Life Technologies) and 200 µL of chloroform, mixed the solution 30 times by inversion. The samples were incubated at room temperature for 3 minutes and centrifuged at 9,300 x g for 15 minutes at 4°C. The liquid containing the viral RNA was recovered and transferred to a 1.5 ml polypropylene tube, to which was added 500 µL of 2-propanol. This solution was mixed 30 times, incubated for 10 minutes at room temperature and centrifuged at 9300 x g RPM for 15 minutes at 4°C. The supernatant was removed, and the pellets were purified with 1.0 ml of cold 75% ethanol and centrifuged at 3300 x g at 4°C for 5 minutes. The supernatant was discarded and the RNA pellets were kept at room temperature overnight, for later re-suspension in 30 µL of RNase-free water. RNA was stored at -80°C until screened for the presence DENV.

3.2 - Multiplex Nested RT-PCR

For viral RNA amplification, we used Bronzoni et al. (31) protocol. For the reverse transcription reaction, we used the following: 4,0 µL of Buffer 5X (250 mM

HCl, 375 mM KCl and 15 mM MgCl₂); 1.4 µL of DTT (0,1 M); 1.6 µL of dNTP (250 µM); 1.0 µL of genus-specific FG2(15 pMOL); 1.0 µL reverse transcriptase(200 U of Superscript; Life Technologies); 0.5 µL RNase inhibitor (20U RNaseOUT; Life Technologies); 8.0 µL for the viral RNA and water to make a final volume of 20 µL. The mix was incubated at 50° C for 50 minutes and at 70° C for 15 minutes in GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA), which was used in the other steps. Next, we conducted a PCR with a genus-specific primer using 5.0 µL of Buffer 10 X (200 mM HCl, 500 mM KCl), 2.0 µL of MgCl₂ (50 mM), 4.0 µL of dNTP (250 µM), 1.0 µL of FG1 primer (15 pMOL), 0.2 µL of Taq polymerase (1U-Platinum Taq DNA Polymerase; Invitrogen), 8.0 µL cDNA and water to obtain a final volume of 50 µL. The mix was incubated at 94° C for 1 minute and at 94° C and 53° C for 1 minute each, at 72° C for 2 minutes, (30 cycles) and at 72° C for 5 minutes. Finally, a hemi-nested PCR using dengue-specific primers used the following: Buffer 10 X (200 mM Tris-HCl, 500 mM KCl); 4.0 µL of MgCl₂ (50 mM); 4.0 µL of dNTP (250 µM); 1.0 µL of FG1 (15 pMOL); 1.0 µL of DENV-1 (15 pMOL); 1.0 µL of DENV-2 (15 pMOL of primer); 1.0 µL of DENV-3 (15 pMOL); 1.0 µL of DENV-4 (15 pMOL); 0.2 µL of Taq polymerase,1.0 µL cDNA and water to reach a final volume of 50 µL. The mix was incubated at 94° C for 1 minute followed by 25 cycles at 94° C and at 53° C for 1 minute each, 72° C for 2 minutes and 72° C for 5 minutes. To visualize the PCR products, we conducted an electrophoresis in an 8% polyacrylamide gel that was posteriorly dyed with silver nitrate.

4. Sentinel System Analysis

For the sentinel system analyses, we built two databases using Microsoft Excel, one containing all of the trap information and the other containing all of suspect and

dengue cases information. In the database, at the dengue cases were considered positive and negative all the cases with laboratorial exam realized.

Within these databases, each address was geocoded using TerraView 4.2.2 (INPE), which generated layers at each trap installation address. Also were generated the layers at each address of residence with any dengue case. These layers were used to build thematic maps from epidemiological weeks, for this were used to the program ArcGIS 9.3 (ESRI). All the thematic maps presenting the data on the traps (number of female captured by the traps and number of female and male positive by DENV4) and the dengue cases at the next week. Because the virus incubation period is approximately 7 days (28).

The first condition to the traps be a good tool for sentinel surveillance system would be found between every dengue cases (suspects and positives) a major proportion of the positive dengue cases around the positive traps by DENV than a major proportion the positive dengue cases around the negative traps by DENV. To evaluate this situation we build buffers using the ArcGIS 9.3 around the each traps and subsequently, all dengue cases (positive or not) within and outside of the buffers radius were counted. With these information we constructed a contingency table (2X2) for each week (to see example 1 below). And in each week were counted 100% of human dengue cases and it was divided enter it was around the positive traps and it was around the negative traps, the same were made for the negative human dengue cases (Table 1). Being to apply the qui-quadrante test (when had sufficient information) or Exact Fisher test (when the values were minors) to valid the results. In Table 1 the epidemiological week is referent the week in that dengue cases were notified.

Example 1:

	Dengue case	
	Positive	Negative
Positive Trap by DENV		
Negative Trap by DENV		
Total	100%	100%

A second condition to the traps be a good tool for sentinel surveillance system would be between every positive dengue cases, 50% or more occurrences around of the positive trap by DENV. To evaluate this question we build the buffers using the ArcGIS 9.3 around positive and negative traps. Subsequently all human dengue cases around the positive or negative traps by DENV were counted e inserted in a contingency table (2X1) for each week (to see example 2) creating a percentage for each result table and the amount total must together totaled a proportion of 100% weekly (Figure 7).

Example 2:

	Trap	
	Positive	Negative
Human dengue case		
Total	100%	

The last question to the traps be a good tool for the sentinel surveillance system would be test the *sensibility* (S) – which consisted of the probability that the traps would test positive for the dengue virus when positive dengue cases had been identified around the traps. For this, were created a buffer around each positive dengue case. If a trap would be within this buffer and was positive by DENV it was considered true positive (TP), in others words the trap was detecting the dengue occurrence. If a trap negative by DENV within this buffer it was considered false negative (FN), in other words the

DENV was circulating in the area and the trap was not detected (Table 2). When had a positive trap within the buffer around the negative dengue case this trap was considered with false positive (FP) and when had a negative trap within the buffer around the negative dengue case we considered this trap with true negative (TN). The *Sensibility* was calculated by the equation:

$$S = \frac{TP}{TP + FN}$$

In same situations we counted the traps and cases only one week in other cases in function at the have low cases or low traps installed we counted the set the weeks.

RESULTS

1. Collection and capture of the mosquitoes

Near 3,000 mosquitoes were collected during the study period, with 1,645 *Aedes aegypti* mosquitoes collected (671 males and 974 females) and 6,903 mosquitoes of the *Culex* genus.

2. Molecular Analysis

The 893 pools analyzed, it was observed 2.8% (25) positivity for the DENV-4 serotype; and from those positive samples, 76% (19) infected female mosquitoes, and 24% (6) males.

3. Sentinel Surveillance System Analysis

Six thematic maps were constructed and are representing in the Figures 1 through 6; each Figure presents ten epidemiological week and each epidemiological week maps presents the data on the total female mosquito collections and number of female and male infected by DENV, besides presenting the human dengue cases next week. Each map shows the two types of traps that were installed, BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, represented by the colors blue and green, respectively. Human dengue cases that were confirmed by laboratorial exam are shown in red. The stars and crosses represent the female and male pools infected by DENV, respectively.

The first human dengue case occurred in 2012 at the epidemiological week 16th, and no single case was observed in the next twenty-seven weeks (Figure 1), this cases possibly belongs the past dengue outbreak occurred in the city. The next dengue case only appear at the epidemiological week 44th (Figure 3) and only next five weeks will appear the third case in the epidemiological week 50th (Figure 4), thenceforth began to appear dengue cases in every weeks until the end of the study. The dengue cases increasing progressively in the next weeks until the peak, at the epidemiological week 12th of 2013. 128 human dengue cases were confirmed by laboratorial tests. At the epidemiological week 20th dengue cases began to decrease, but they persisted through the end of the study.

In relation the traps, we had the first trap positive by DENV at the epidemiological week 19th (Figure 1) and the second trap at the epidemiological week 28th (Figure 2). However no human dengue cases were identified during the following week through epidemiological surveillance from the city and hence, the two traps were positive probably belongs the past dengue outbreak occurred in the city. Only after twenty-seven weeks we identified a trap positive by DENV, it was at the

epidemiological week 4th 2013 with one pool of the female positive by DENV4 captured by trap. Starting this week we began to detect the traps positive followed by human dengue cases. This situation continued until the 17th 2013, when the positive traps and the human dengue cases started to decrease, but remain with same cases through the last week by the study.

In same weeks, we did not have the traps installed because in these weeks, we had the national holidays and the field team did not work. This situation occurred at the epidemiological weeks 52nd 2012, 1st 2013 and 7th 2013.

The thematic maps make clear that the traps only began to test positive when the dengue outbreak already established and many human dengue cases had been notified by the epidemiological surveillance from the city.

Figure 7 and Figure 8 shows the relationships between the traps and the human dengue cases. However, in Figure 7, the data are presented as percentages, whereas Figure 8 presents absolute numbers.

The Figure 7 shows the percentage the human dengue cases confirmed by laboratorial exam around the traps positive and negative by DENV. In this figure, we can see clearly that human dengue cases began to appear just around the negatives traps, this situation occurs in the first four weeks. Only at the epidemiological week 4th 2013 began to appear percentages the positive traps with human dengue cases around. In any week the percentage the positive traps with human dengue cases around exceeded the limit by 50%. Moreover, this percentage would need be equal to or greater 50% for the traps was a good tool for the sentinel surveillance system. In this figure, make clear that the traps began to test positive only when the dengue outbreak was established.

The Figure 8 shows the same situation that the Figure 7 but here we have absolute numbers the traps positive and negative with the human dengue cases around. Here also is possible see that the human dengue cases began to appear long before the traps presented to test positive by DENV. May see also same after the human dengue cases appear around the positive traps the number of the human dengue cases around the negative traps always are greater than the human dengue cases around the positive traps, this situation occurs in every weeks. Same at the epidemiological weeks in that have the peak the human dengue cases, the most of them were around the negative traps.

DISCUSSION

In recent years, reverse transcription has been used in the diagnosis of infectious diseases and has proven to be useful in diagnosing the dengue virus. The technique is simple and efficient at virus identification and characterization in epidemiological investigations, allowing for virus detection in serum, cases of fatal tissue, cell cultures and samples of pools of larval and adult mosquitoes (29,30).

Our results showed a predominance of the DENV-4 serotype in the mosquitoes found in our study area. Comparison of this study's data with official data from the same area can track DENV-1 and DENV-4 circulation and confirm the predominance of the DENV-4 serotype. The percentage (2.8%) of pools of mosquitoes infected with DENV-4 aligns with the observed numbers of human dengue cases. Between March and April 2013, there was a 106% increase in confirmed disease cases, with a number of severe cases resulting in death (31).

Considering that humans are the main host for the urban transmission of the dengue virus, the high proportion of the DENV-4 serotype detected in this study could indicate population immunity to the other serotypes because this area has a high incidence of DENV-4 each year (32). With the recent introduction of DENV-4 in the city, there were increased numbers of individuals susceptible to this serotype, which could have contributed to the spread in the region.

The high prevalence of the DENV-4 serotype found in the pools that contained dengue-positive *Aedes aegypti* males is likely shows the vertical transmission of the dengue virus in the city. This finding could be an important factor in the persistence of the virus's circulation between epidemic periods, as described by Le Goff et al (33) and Angel and Joshi (34), who worked with immature specimens. They found that closed-off vectors can be reservoirs for the dengue virus during the annual periods that are unfavorable for human transmission and that there is the possibility for vertical transmission in nature. Martins et al (35) studied dengue virus transmission in Fortaleza, Ceará, Brazil, and described the first observations of the virus's vertical transmission, beginning a discussion about the maintenance of the virus between epidemic periods. Mondini (36), in a study of dengue virus serotype identification in mosquitoes, showed that this phenomenon occurred in São José do Rio Preto owing to the high percentage of positive findings in the infected male pools. In contrast, Zeidler et al (37) observed that the vertical transmission in *Aedes aegypti* appeared to occur infrequently in nature and determined that the virus's persistence in urban environments cannot be attributed to vertical transmission.

More rapid detection of DENV in mosquitoes gives us important information about the serotype's circulation before it has been transmitted at high levels, enabling

the implementation of control measures to avoid epidemics. In our study, we proposed a sentinel surveillance system for prior detection of dengue circulation in mosquitoes. For this, we used traps (MosquititoTM and BG-SentinelTM) to capture adult culicids around residences in a region with a high incidence of dengue. However, we found that the detection of infected mosquitoes using RT-PCR occurred after the human dengue cases were identified, and thus the traps were not adequate for the early detection of the disease.

In this study, we spatially and temporally identified vectors infected with the dengue virus, the spread of dengue cases and the respective disease incidence in a neighborhood in São José do Rio Preto. Cases spread in nearly all census sectors, and we observed clusters in which the viral circulation occurred more intensely during the same epidemiological weeks. This localization by possible dengue hotspots and by annual periods is important for understanding the virus's dynamics and also for developing policies to reduce or prevent vector infestation (38). Khormi et al (38) show the importance of spatial and temporal analysis in dengue research for critically observing all events and regional variations to enable better decision making by health authorities.

Same-week observations found a minor number of traps installed during weeks with national holidays and with rainy days on which the field team did not work. Despite these failures, it is clear that the dengue virus was identified in human cases before it was found in the mosquitoes.

Hence, the use of traps to collect adult mosquitoes was not sufficient for detecting the presence of infected mosquitoes before the occurrence of human dengue

cases. However, in places with a high-frequency vector infestation, the traps can aid in punctual interventions.

REFERENCES

- 1 – WHO – World Health Organization (2009) Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition.
- 2 – Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, et al (2013) The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496. DOI:10.1038/nature12060.
- 3- Fávoro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, et al. (2006) Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitos captured with MosquiTRAPs in Mirassol. *J Vector Ecol* 31: 285-291.
- 4 - Dibo MR, Chiaravalloti-Neto F, Battigaglia M, Mondini A, Fávoro EA, et al.(2005) Identification of the best ovitrap installation sites for gravid *Aedes (Stegomyia) aegypti* in residence in Mirassol, state of São Paulo, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 339-343.
- 5 - Natal D.(2002) Biologia do *Aedes aegypti*. *Biológico*, São Paulo, v.64, n.2, p.205-207.
- 6 - [Reiter P](#), [Amador MA](#), [Anderson RA](#), [Clark GG](#). (1995) Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. [Am J Trop Med Hyg.](#) 52(2):177-9.
- 7 – Lau, KW, Chen, CD, Lee, HL, Izzul, AA, Asri-Isa, M, et al. (2013) Vertical distribution of *Aedes* mosquitos in multiple storey buildings in Selangor and Kuala Lumpur, Malaysia *Tropical Biomedicine* 30(1): 36–45.

- 8 - Gomes AC. (1998) Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. *Inf. Epidemiol SUS* 3:49-57.
- 9 - Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E.(2000) Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med and Hyg.* 62: 11-80.
- 10- Steffler LM, Marteis LS, dos Santos RLC. (2011) Fontes de informação sobre dengue e adoção de atitudes preventivas. *Scientia Plena* 7: 067501.
- 11 – de Figueiredo RMP, Mourão MPG, Abi-Abib YEC, de Oliveira CM, Roque R, et al. (2013) 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* 46(2):221-222
<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-1096-2013>
- 12 - Maciel-de-Freitas R, Eiras AE, de Oliveira RL.(2006) 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, Vol. 101(3): 321-325.
- 13 - Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB. (2008) Mosquito traps designed to capture *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females: preliminary comparison of Adultrap, MosquiTRAP and backpack aspirator efficiency in a dengue-endemic area of Brazil.*Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(6): 602-605.

- 14 – Hapairai LK , Joseph H , Sang MAC , Melrose W, Ritchie SA , et al. (2013) 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. <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/ME12270>
- 15 - Ali, M, Wagatsuma, Y, Emch, M, Breiman, RF. (2003) 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.* 69: 634-640.
- 16 - Wu, PC, Lay, JG, Guo, HR, Lin, CY, Lung, SC, et al. (2009) Higher temperature and urbanization affect the spatial patterns of dengue fever transmission in subtropical Taiwan. *Sci. Total Environ.* 407: 2224-2233.
- 17 – Mondini A, Chiaravalloti-Neto F. (2008) Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. [Science of The Total Environment](http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.010) 393: 2-3
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.010>
- 18 - Jeefoo P, Tripathi NK, Souris M (2011) 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/ijerph8010051 .
- 19 – Wilder-Smith A, Renhorn KE, Tissera H, Bakar SA, Alphey L, et al (2012) DengueTools: innovative tools and strategies for the surveillance and control of dengue. *Glob Health Action* 2012, 5: 17273 - DOI: 10.3402/gha.v5i0.17273.
- 20 – Mondini A, Chiaravalloti-Neto, F, Sanches MG, Lopes JCC (2005) Análise espacial da transmissão de dengue em cidade de porte médio do interior paulista. *Revista da Saúde Pública*, 39:7.444-451.

21 –

<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=354980&search=sao-paulo%7Csao-jose-do-rio-preto>. Acessado em 28-04-2014.

22 - http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_dengue.html . Acessado em 28-04-2014.

23 - Chiaravalloti-Neto F. (2010) Estudo da ocorrência de dengue em cidade de porte médio do estado de São Paulo. Tese de Livre Docência. Faculdade de Saúde Pública da USP.

24 - Biogents. Manual for the Mosquitito. Available from: <http://www.biogents.com>

25 - Biogents. Manual for the BG-Sentinel. Available from: http://www.bgsentinel.com/bilder/Manual_BG-Sentinel.pdf 23/8/2012.

26 - Nildimar AH, Wellington CS, Paulo JL, Jaylei MG, Leon PL, et al. (2003) Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an Urban Endemic Dengue Area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98(2): 191-198.

27 - Forattini, OP. (2002) *Culicidologia Médica*, volume 2. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo. 864 p.

28 - Consoli RAGB, Oliveira RL (1998) Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. 1ª Reimpressão. Rio de Janeiro: Fiocruz.

29 - Chan M, Johansson MA (2012) The incubation periods of Dengue viruses. *Plos One* 7(11): e50972. DOI:10.1371/journal.pone.0050972.

30 - Machado DC, Mondini A, Santana VSS, Yonamine PTK, Chiaravalloti-Neto F, et al (2012) First Identification of *Culex flavivirus* (Flaviviridae) in Brazil. *Intervirology*. 55:475–483 DOI: 10.1159/000337166.

- 31 - Bronzoni RVM, Baleotti FG, Nogueira RMR, Nunes M, Figueiredo LTM. (2005) Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 43(2): 696-702.
- 32 - Cabezas C. (2005) Dengue em el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 22: 212-228.
- 33 - Guzman MG, Kouri G. (2002) Dengue: uma atualização. Coleção estudos da cidade 47: 1-17.
- 34 – SINAN - <http://aplicacao.saude.gov.br/sinan>.
- 35 – Fávaro EA (2010) Indicadores entomológicos para *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) em suas formas imaturas e a relação com a transmissão de dengue. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP.
- 36 - 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.
- 37 - 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
- 38- 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.

- 39- Mondini A. (2010) Análise molecular, espacial e temporal da transmissão de dengue no município de São José do Rio Preto, SP. 2010. 131p. Tese Doutorado Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP.
- 40 - Zeidler JD, Acosta POA, Barreto PP, Cordeiro JS. (2008) Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. Rev Saúde Pública 42(6): 986-91.
- 41- Khormi HM, Kumar L. (2012) The importance of appropriate temporal and spatial scales for dengue fever control and management Science of the Total Environment 430: 144–149.

ANNEXS:

1. Tables:

Table 1: Statistical tests shown p values for number of human dengue cases by epidemiological week for the Solo Sagrado neighborhood from São José do Rio Preto during the study.

Epidemiological Week	Human Dengue cases		Negative Dengue cases		Statistical Test	p Value
	Positive Trap by DENV (%)	Negative Trap by DENV (%)	Positive Trap by DENV (%)	Negative Trap by DENV (%)		
51 st 2012	0 (0)	1 (100)	0 (0)	2 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
52 nd 2012	0 (0)	2 (100)	0 (0)	1 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
1 st 2013			Christmas Holiday - the traps were not installed			
2 nd 2013			New Year Holiday - the traps were not installed			
3 rd 2013	0 (0)	2 (100)	0 (0)	7 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
4 th 2013	0 (0)	5 (100)	0 (0)	12 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
5 th 2013	1 (25)	4 (75)	4 (19)	17 (81)	Fisher Exact	$p = 0,6571$
6 th 2013	3 (25)	14 (75)	9 (32,6)	21 (67,4)	Fisher Exact	$p = 0,2838$
7 th 2013	4 (30,7)	9 (69,3)	7 (16,3)	36 (83,7)	Fisher Exact	$p = 0,2200$
8 th 2013			Carnival Holiday - the traps were not installed			
9 th 2013	5 (10,2)	44 (89,8)	6 (5,4)	105 (94,6)	Fisher Exact	$p = 0,2173$
10 th 2013	3 (4,7)	60 (95,3)	8 (7,14)	104 (92,86)	Fisher Exact	$p = 0,3933$
11 th 2013	19 (17,6)	89 (82,4)	31 (19,74)	126 (80,3)	Fisher Exact	$p = 0,3919$
12 th 2013	56 (48,7)	59 (51,3)	44 (40)	66 (60)	Qui-quadrante	$p = 0,1194$
13 th 2013	23 (31,5)	50 (68,5)	31 (31,6)	67 (68,7)	Qui-quadrante	$p = 0,4409$
14 th 2013	8 (9,7)	74 (90,3)	17 (13,7)	107 (86,3)	Qui-quadrante	$p = 0,2635$
15 th 2013	0 (0)	64 (100)	0 (0)	155 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
16 th 2013	0 (0)	39 (100)	0 (0)	74 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
17 th 2013	0 (0)	24 (100)	0 (0)	63 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
18 th 2013	5 (20,8)	19 (79,2)	4 (12,5)	28 (87,5)	Fisher Exact	$p = 0,3158$
19 th 2013	0 (0)	6 (100)	0 (0)	16 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
20 th 2013	0 (0)	5 (100)	0 (0)	20 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
21 st 2013	0 (0)	1 (100)	0 (0)	14 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$
22 nd 2013			No mosquitos were captured by the traps in this week			
23 rd 2013	0 (0)	1 (100)	0 (0)	3 (100)	Fisher Exact	$p = 1,000$

Table 2: Calculation of Sensibility by the Value (TP,TN,FP and FN).

Epidemiological Week	True Positive (TP)	False Negative (FN)	False Positive (FP)	True Negative (TN)	Sensibility (S) %
45 th until 51 st 2012	0	5	0	360	0,0
2 nd 2013	0	7	0	49	0,0
3 rd 2013	0	17	0	39	0,0
4 th 2013	1	17	0	38	5,6
5 th 2013	2	40	2	13	4,8
6 th 2013	2	12	1	13	14,3
8 th until 14 th 2013	13	276	0	0	4,5
15 th until 18 th 2013	2	149	0	47	1,3
19 th until 22 nd 2013	0	23	0	176	0,0
Total:	20	546	3	735	3,53

2. Figures:

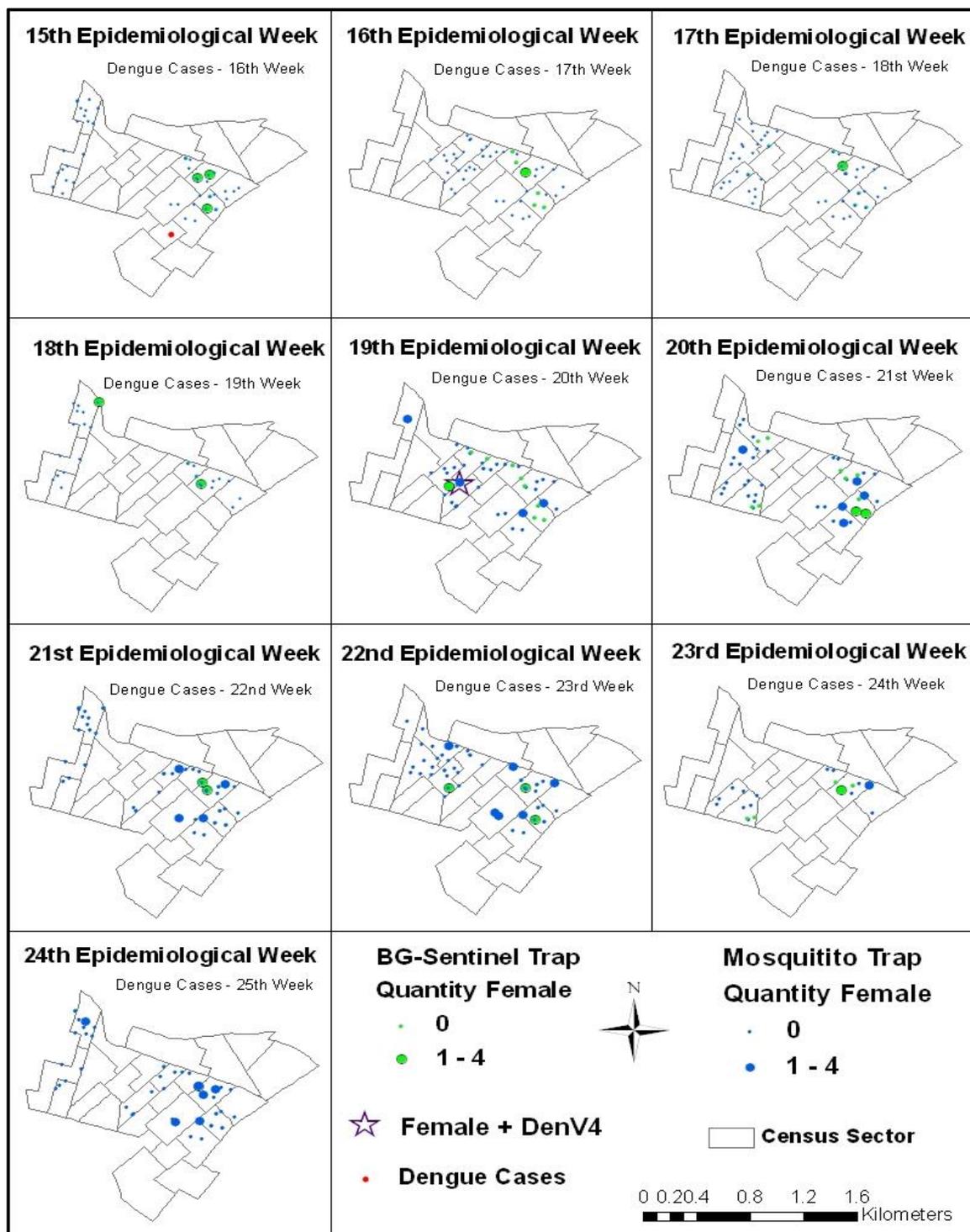


Figure 1: The first ten epidemiological weeks (weeks 15 through 24 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.

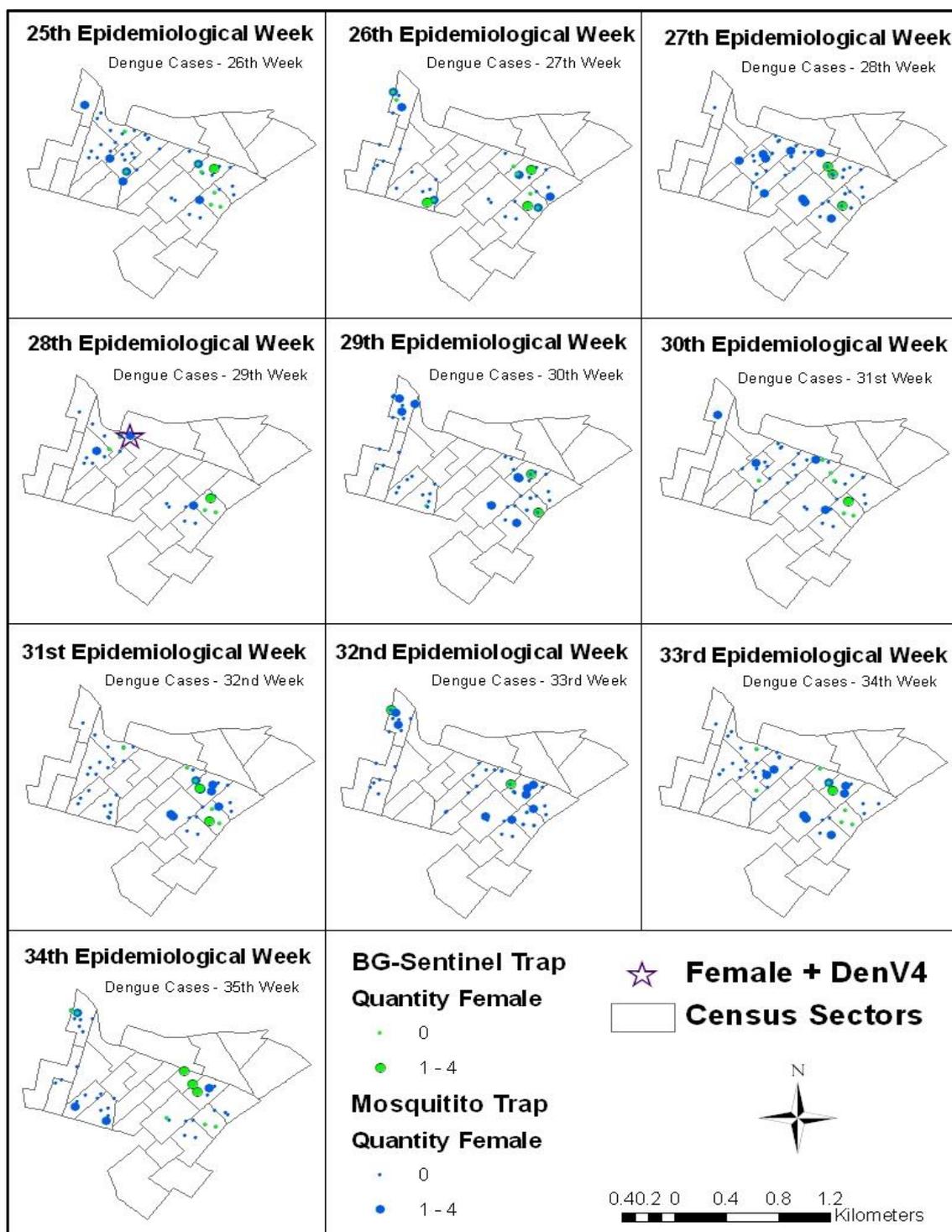


Figure 2: The next ten epidemiological weeks (weeks 25 through 34 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitoes that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.

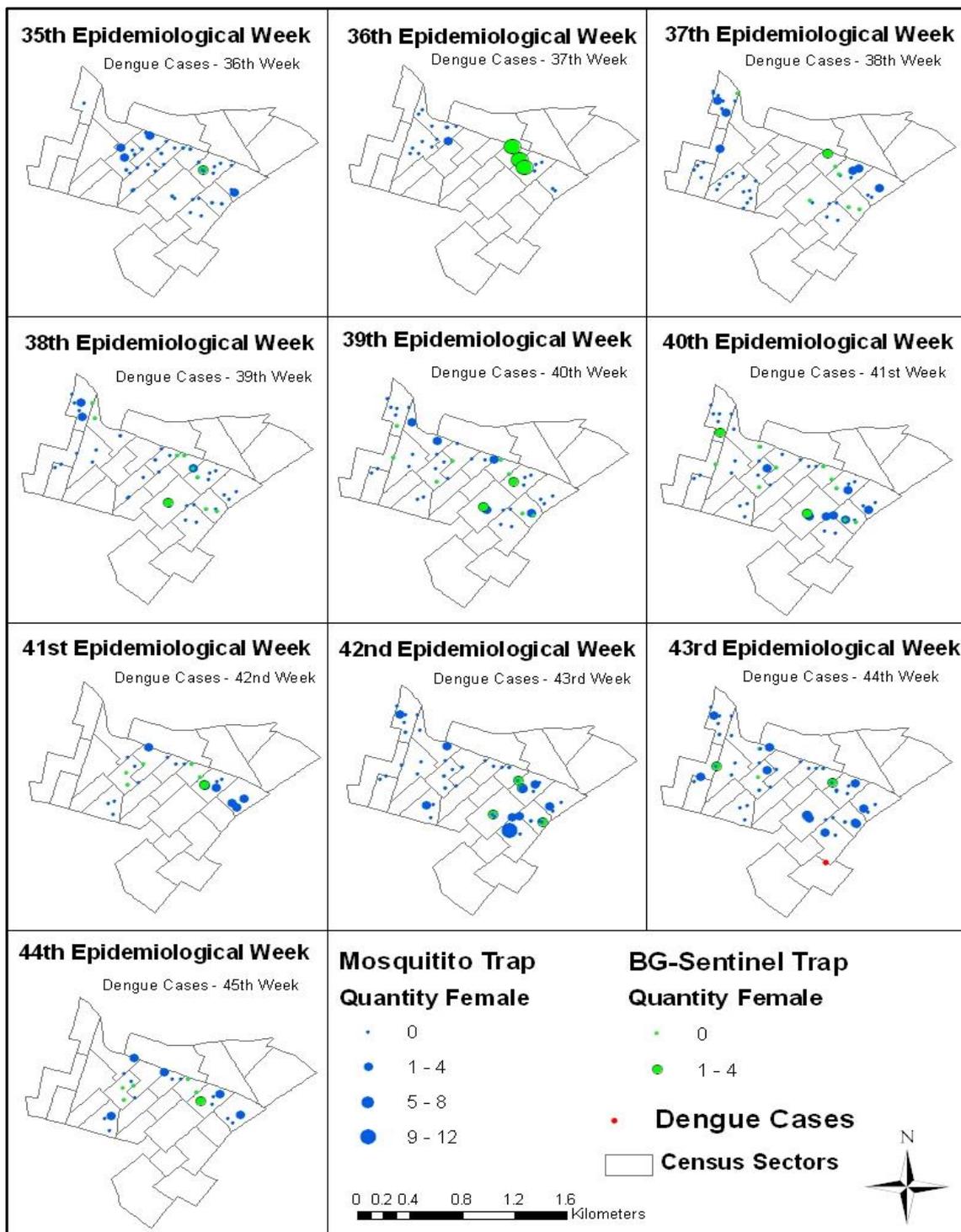


Figure 3: The next ten epidemiological weeks (weeks 35 through 44 of 2012) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases.

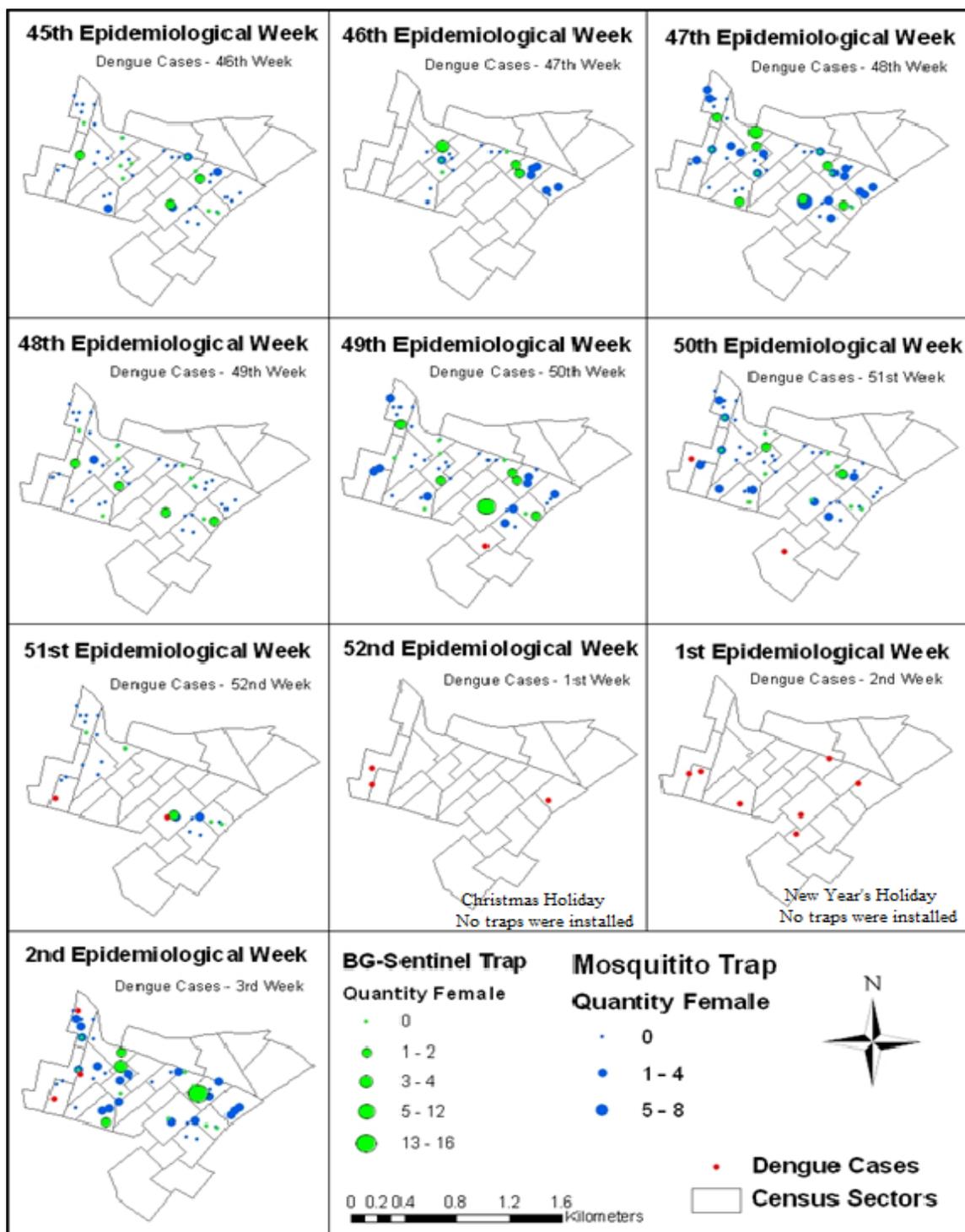


Figure 4: The next ten epidemiological weeks (weeks 45 of 2012 through 2 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-MosquitoTM and BG-SentinelTM, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases.

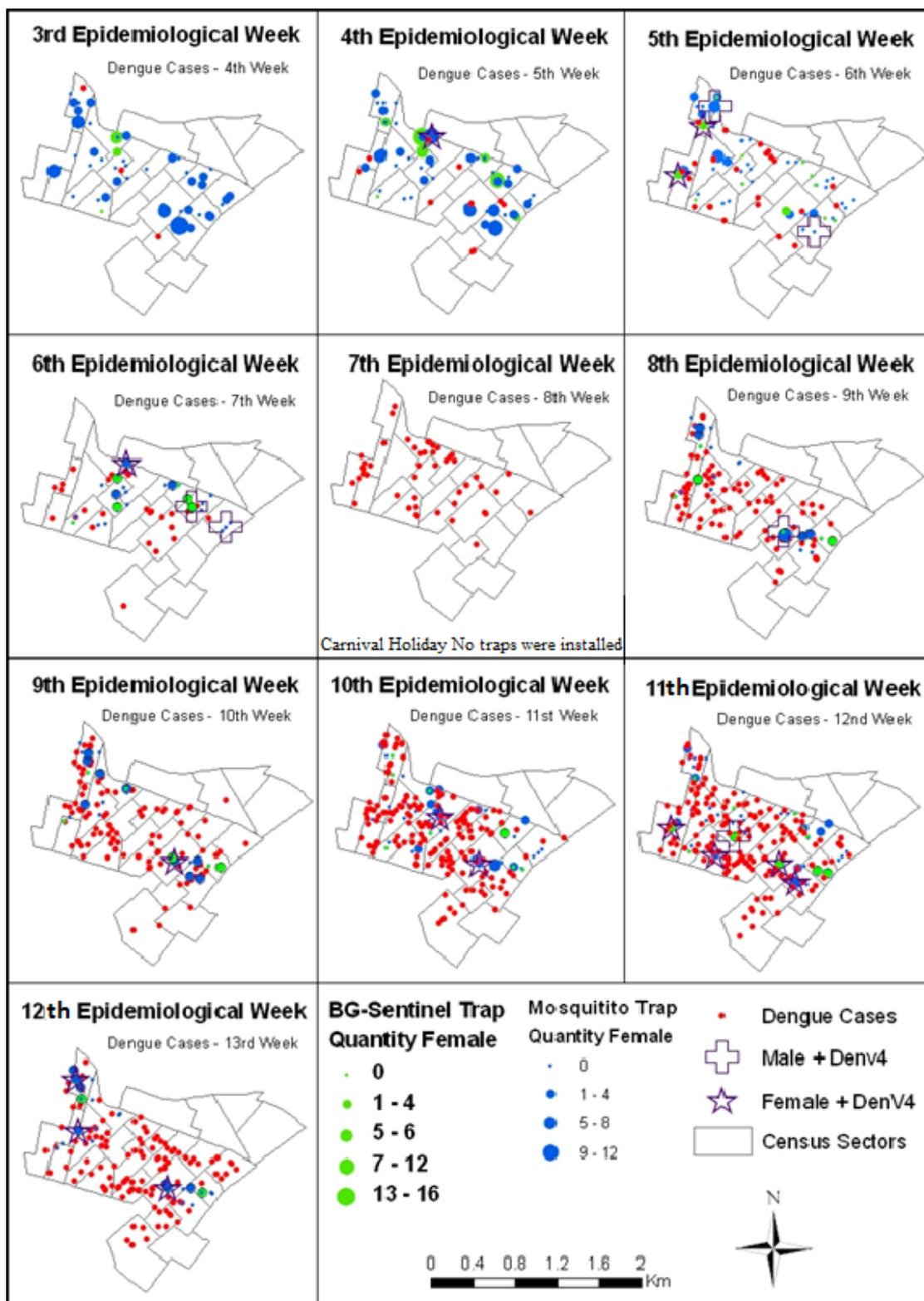


Figure 5: The next ten epidemiological weeks (weeks 3 through 12 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitos that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars and the traps with the male that were positive for dengue (DENV4) are represented with purple crosses.

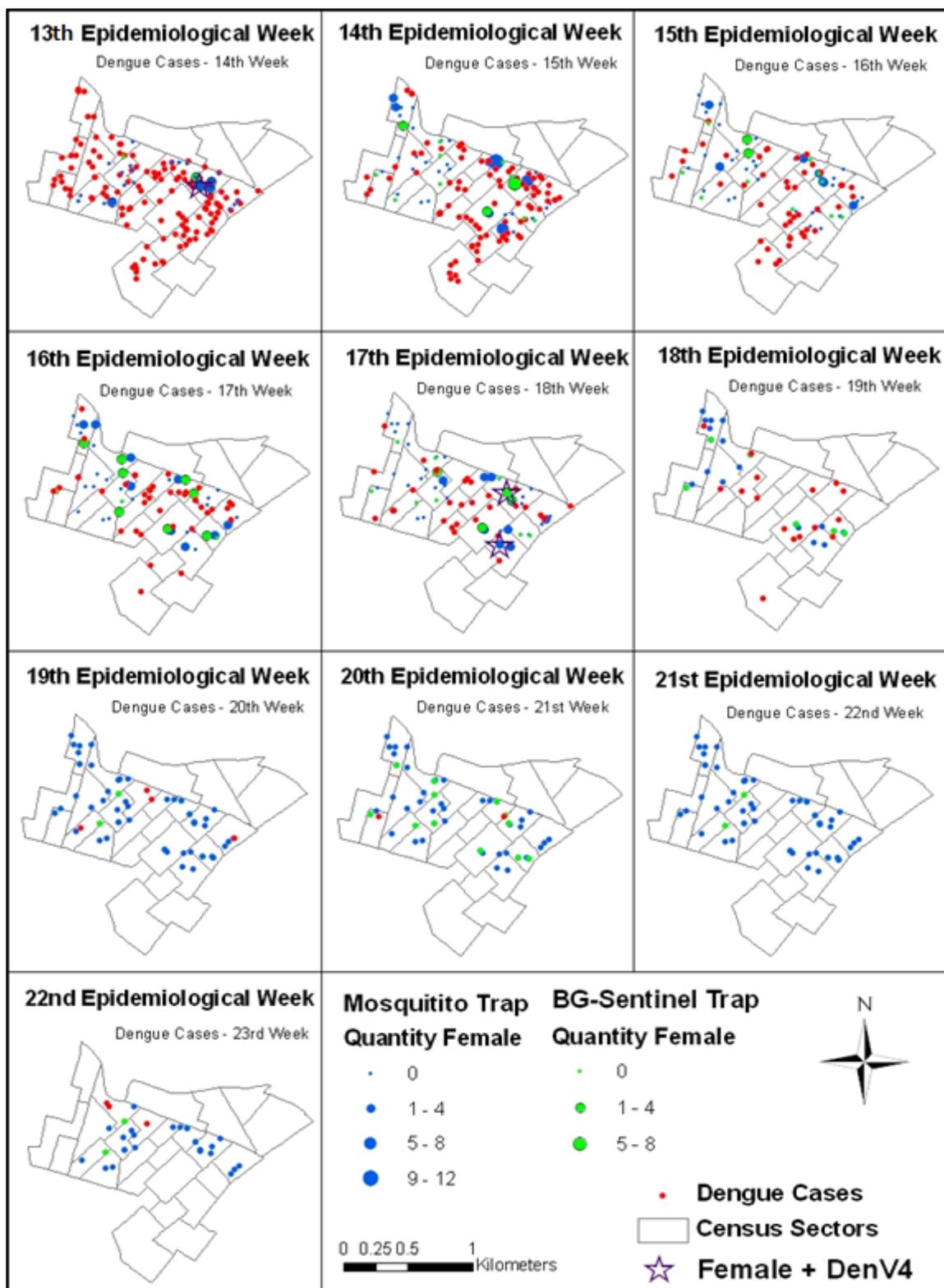


Figure 6: The final ten epidemiological weeks (weeks 13 through 22 of 2013) of the study period; the traps are represented by the blue and green circles (BG-Mosquitito™ and BG-Sentinel™, respectively) and the dengue cases are represented by the red circles. These were confirmed as positive by serological test, and the maps were made using the traps were installed from the week following the week the cases. The traps with female mosquitoes that were positive for the dengue virus (DENV4) are represented with purple stars.

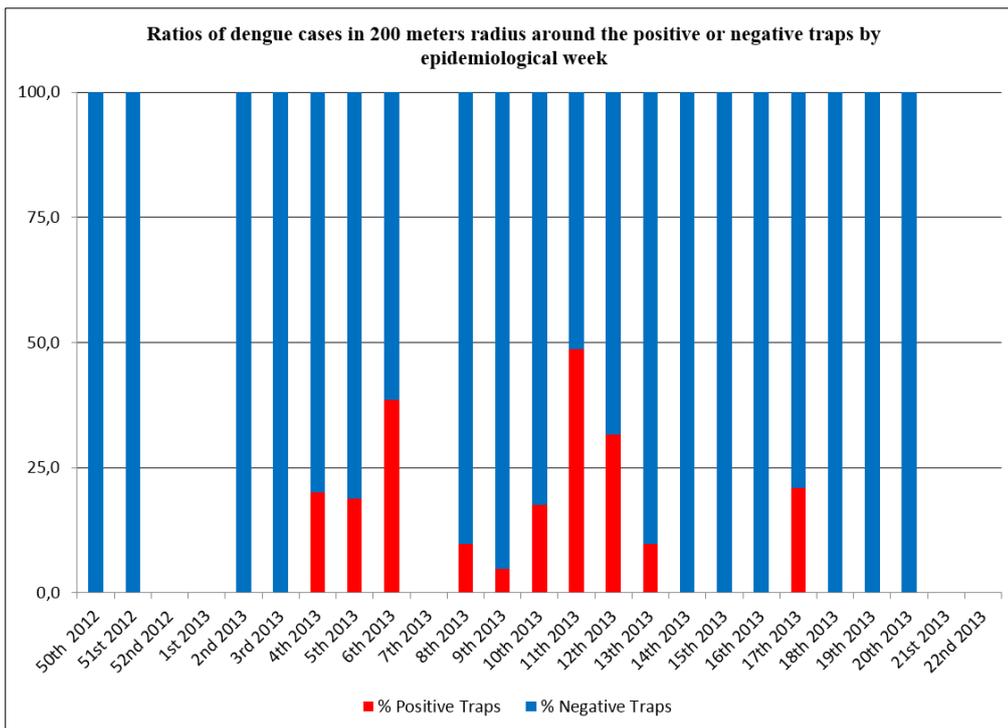


Figure 7: The percentages of positive and negative traps with confirmed human dengue cases around them. The red represents the percentages of all positive traps around which human dengue cases were present (200 m), and the blue represents the percentages of all negative traps around which human dengue cases in its around (200 m). The values presented are percentages.

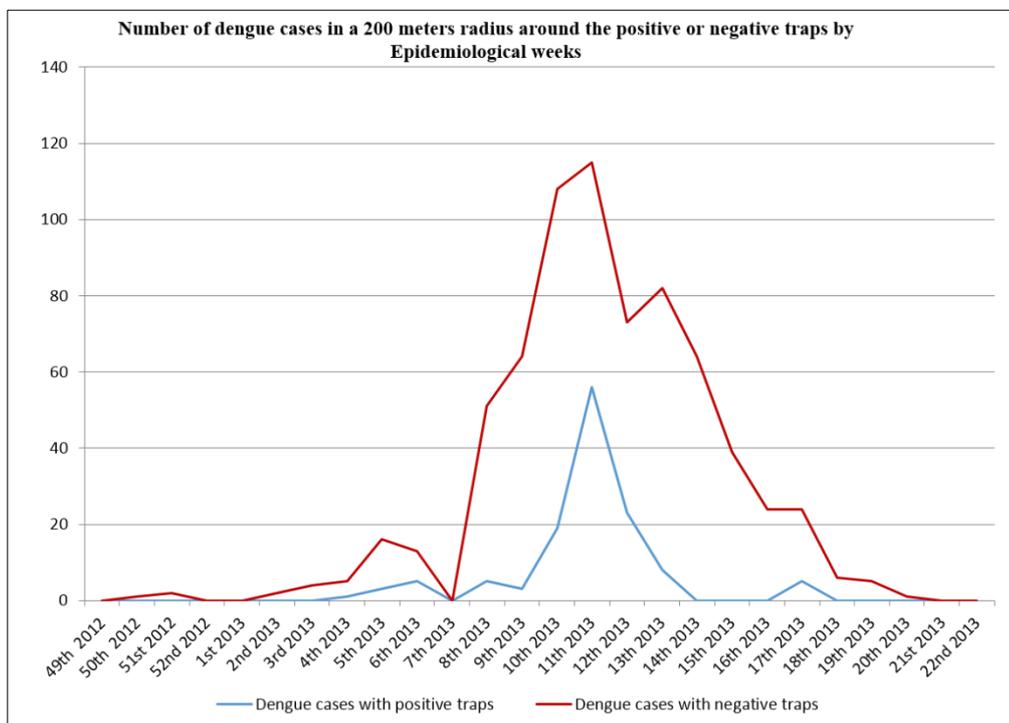


Figure 8: The comparison between the positive and negative traps installed in the neighborhood. The red line represents all positive traps with human dengue cases around them (200 meters). The blue line represents all negative traps with human dengue cases around them (200 meters). In this figure, the values are absolute numbers.

2. ARTIGOS CIENTÍFICOS

ARTIGO II

ANÁLISE ESPACIAL DE UM INDICADOR ENTOMOLÓGICO PARA DENGUE E O RISCO DE OCORRÊNCIA DA DOENÇA EM UM BAIRRO DO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP.

Parra, MCP1; Favaro, EA1; Dibo, M2; Eiras, AE3, Kroon, EG3; Mondini, A5; Nogueira, ML1; Chiaravalloti-Neto, F4.

1 FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto;

2 SUCEN – Superintendência de Controle de Endemias;

3 UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais;

4 USP – Universidade de São Paulo;

5 UNESP – Universidade Estadual Júlio Mesquita/FCFAR-Araraquara.

ABSTRACT

The dengue virus is a major problem of public health in the world. The main vector of the four dengue serotype (DENV 1-4) is *Aedes aegypti* mosquitos. Without a commercially available vaccine, vector infestation control is the most important tool to decrease dengue dispersion. The spatial analysis through GIS has been used to evaluate and identify the factors associated with the risks of dengue spread in certain areas. The aim of this study was to evaluate temporal and spatial distribution of adult *Aedes aegypti* females and its your correlation with the relative risk for the dengue occurrence in a neighborhood of São José do Rio Preto – SP. BG-MosquititoTM and the BG-SentinelTM traps were installed weekly. TerraView, ArcGIS and R softwares were used to construct maps of infestation and relative risk for dengue occurrence. Spatial analysis

associated to adults traps can be used as an entomological index and can be used to create the maps of relative risk for disease occurrence.

INTRODUÇÃO

A dengue é um dos principais problemas de saúde pública do mundo, cerca de 390 milhões de pessoas são acometidas pela doença anualmente, ocasionando em torno de 20 mil mortes. É causada pelo vírus Dengue (DENV) que é subdividido em quatro sorotipos (DENV1-4) (1). É transmitida ao homem pela picada da fêmea de mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti*, apresenta trajetória evolutiva, onde desenvolveu comportamento sinantrópico e antropofílico. É altamente adaptado a ambientes criados pelo homem (2,3,4).

Com o aumento da disseminação do vetor ao redor do mundo e com a falta de uma vacina específica para dengue, ferramentas para captura e monitoramento do vetor tem ajudado os programas de controle em áreas urbanas (5). Diferentes modelos de armadilhas têm se mostrado eficazes para este tipo de monitoramento. Armadilhas do tipo “Ovitampas” que capturam e quantificam ovos do vetor em residências tem demonstrado ser ferramentas significantes quando correlacionadas com a incidência de dengue na mesma região.

Diferentes autores utilizaram armadilhas de captura de mosquitos adultos em estudos realizados no Brasil e perceberam que quando comparadas com outras metodologias as mesmas apresentam fácil manipulação e operacionalização (6, 7, 8). Em pesquisa realizada na Polinésia Francesa por Hapairai et al (9) no qual realizaram a comparação entre o uso das armadilhas BG-Mosquitito™ e BG-Sentinela™ com iscas humanas os autores concluem que ambas as armadilhas são tão eficientes quanto as

iscas humanas. No mesmo estudo as armadilhas também foram comparadas a aspiradores manuais e neste caso as armadilhas se mostraram mais eficientes e foram capazes de capturar um número maior de mosquitos.

É de interesse da epidemiologia o entendimento na dinâmica da transmissão de doenças ao longo do tempo e do espaço (10). E a associação desse interesse com as técnicas de análise espacial permite que a distribuição das doenças seja analisada tanto no espaço, no tempo ou em ambos. O primeiro relato dessa associação pode ser considerado a pesquisa realizada por John Snow, que a utilizou para analisar no espaço e no tempo uma epidemia de cólera na cidade de Londres UK, em 1854 (11).

Epidemiologia espacial avançou muito ao longo do tempo, hoje temos os Geographical Information System (GIS) nos quais é possível realizar análises espaciais precisas e, quando associadas à epidemiologia verificamos a dispersão de diferentes fatores associados a doenças (12). A formação de clusters pode ser dividida em diferentes tipos que podem ser baseados na população, no evento, no ambiente ou na característica principal da doença (10).

De acordo com Nogueira e Amaral (13), as representações espaciais podem ser realizadas através da interpolação dos dados geográficos com os dados pontuais. Com o progresso computacional e das técnicas de mapeamento, a avaliação da qualidade dos atributos direcionados a este tipo de análise estão cada vez mais precisos. Dentre as diferentes metodologias podemos destacar a técnica de Krigagem, que é um processo de estimativa geoestatístico, que realiza uma estimativa e fornece o possível “erro” associado a esta estimativa (14).

A análise espacial e os GIS podem ser utilizados em epidemiologia de dengue para avaliar e identificar os fatores de risco associados na disseminação da doença em uma determinada localidade. Neste caso, os dados geográficos são utilizados para identificar regiões críticas que estão relacionadas com a modulação da dinâmica da doença (15, 16, 17). Pesquisadores da Tailândia empregaram ferramentas de análise espacial para compreender a dinâmica da dengue e concluíram que estas ferramentas podem avaliar a difusão espacial da doença e também a verificação de hotspots para a transmissão da doença naquele país (18).

Diante deste panorama o objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição no tempo e no espaço dos indicadores entomológicos de *Aedes aegypti* fêmea em fase adulta e a sua correlação espacial com o risco relativo de ocorrência de dengue em um município do noroeste paulista.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Área de Estudo

O município de São José do Rio Preto, localizado no noroeste do estado de São Paulo (20°49'11"S e 49°22'46"W), Brasil, situado à 498m acima do nível do mar, com população estimada em 434.039 habitantes e IDHM de 0,797 em 2010 (19), ocupa uma área territorial de 431.963 km². Apresenta clima tropical com temperatura anual média de 25°C e precipitação anual de aproximadamente 1.200mm. Nos últimos cinco anos 45.709 casos foram notificados, destes 19.226 casos foram registrados no ano de 2013 (20). O bairro selecionado para realização do trabalho foi Solo Sagrado localizado na zona norte do município, composto por 26 setores censitários, sendo que 19 foram

selecionados para a instalação das armadilhas. O bairro apresenta aproximadamente 7.800 domicílios e população de 24.960 habitantes e ocupa uma área de 227.8 hectares. Pesquisa que avaliou os setores censitários de maior risco para ocorrência de dengue no período de 1995 a 2010 mostrou que os setores censitários do Solo Sagrado foram considerados de maior risco, em média, por três períodos anuais, variando do mínimo de uma vez a seis vezes (21).

2. Instalação das Armadilhas e Identificação dos Mosquitos

As coletas foram realizadas com 31 armadilhas, sendo 26 armadilhas BG-MosquititoTM (22) e 05 BG-SentinelTM (23), entre Setembro de 2012 a Maio de 2013 (Semanas Epidemiológicas 36/2012 a 20/2013). As armadilhas foram instaladas as segundas e quintas-feiras e retiradas as terças e sextas-feiras, permanecendo em cada residência por 24 horas. A periodicidade da atividade foi semanal, com a instalação de armadilhas em 62 residências. A distância escolhida está de acordo com o raio de voo de *Aedes aegypti*, que normalmente não exerce voo em raios maiores do que 150 metros (24).

As armadilhas foram instaladas no peri-domicílio, em locais cobertos e protegidos, próximos a vasos ou folhagens, em uma residência por quadra. Todos os dados relativos à coleta foram registrados em boletim apropriado que continha as informações - endereço, número da armadilha, data da instalação, data da retirada, número de mosquitos coletados (separados por espécie e gênero). Após a retirada das armadilhas, os mosquitos foram identificados no Laboratório de Vetores, utilizando-se chaves taxonômicas específicas (25, 26)

3. Casos de Dengue

As informações relativas aos casos de dengue 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. Para a produção dos mapas de risco relativo foram utilizadas as informações dos casos de dengue autóctones confirmados (positivo-negativo) por exame laboratorial.

Os casos de dengue autóctones confirmados (positivos - negativos) por exame clínico-epidemiológico foram considerados apenas para a construção da Figura 1 onde são apresentados todos os casos de dengue do bairro.

4. Geocodificação dos endereços

A geocodificação foi realizada por meio dos endereços tanto das residências onde as armadilhas foram instaladas quanto dos casos de dengue confirmados e negativos. Os programas TerraView 4.2.2 (INPE) e ArcGIS 9.1(ESRI) com a utilização da base cartográfica de arruamento do bairro Solo Sagrado em projeção UTM (Universal Terminal Mercator) foram utilizados para a produção dos mapas temáticos (Figuras 3 e 4).

5. Análise dos Dados

Os indicadores entomológicos obtidos a partir do número de fêmeas coletadas pelas armadilhas semanalmente foram agrupados em quinzenas, durante o período de Setembro de 2012 a Maio de 2013 (Semanas epidemiológicas 36/2012 a 20/2013). O primeiro agrupamento para a formação de quinzenas se deu entre as Semanas Epidemiológicas 36-37/2012 (para as armadilhas) e 37-38/2012 (para os casos de dengue) e o último agrupamento se deu entre as Semanas Epidemiológicas 18-19/2013 (para as armadilhas) 19-20/2013 (para os casos de dengue). Esta diferença de uma

semana é devido ao período de incubação extrínseco do vírus que é de aproximadamente sete dias. Utilizamos a técnica de Krigagem ordinária para a construção dos mapas de infestação do bairro, onde foi realizada a interpolação estatística dos indicadores entomológicos através do pacote geoR do programa estatístico R (27), usando para isto os métodos de estimação dos mínimos quadrados ponderados e generalizados, sendo que ponderação foi definida por meio de um semivariograma. O semivariograma utilizou os parâmetros pepita, contribuição e amplitude (28).

Para a análise do risco relativo de ocorrência de dengue no bairro durante o período do estudo usamos um modelo que pudesse descrever tanto o padrão espacial de transmissão quanto as áreas com maior ou menor risco espacial de ocorrência de dengue. Para esta análise utilizamos o programa estatístico R, através da biblioteca EPIGAM (29) considerando somente as coordenadas geográficas para isto. O modelo foi construído da seguinte maneira: a variável era a ocorrência de casos (0) e os controles (1) – neste modelo foram considerados controles todos os casos suspeitos de dengue com exame laboratorial negativo. A localização dos casos e dos controles no espaço foi testada como uma variável preditora ou independente (30).

A comparação entre os mapas de infestação e os mapas do risco relativo de ocorrência de dengue no bairro foi feita visualmente.

RESULTADOS

1. Coleta e captura de mosquitos

Foram realizadas 1.765 coletas durante o período, coletando um total de 797 mosquitos *Aedes aegypti* fêmeas (Tabela). Nas quinzenas 52/2012-1/2013 e 1-2/2013 não foram instaladas armadilhas devido aos feriados de final de ano.

Tabela: Quantidade de armadilhas instaladas, total de fêmeas de *Aedes aegypti* capturadas, quantidade de casos de dengue confirmados por exame laboratorial e quantidade de casos de dengue descartados (negativos) por exame laboratorial.

Quinzenas		Fêmeas <i>Aedes aegypti</i> Capturadas	Quantidade de armadilhas instaladas	Casos Dengue	Casos suspeitos
Semanas Epidemiológicas Armadilhas	Semanas Epidemiológicas Casos de dengue			Positivos	descartados
				Confirmados exame laboratorial	Confirmados negativo por exame laboratorial
36 th - 37 th 2012	37 th - 38 th 2012	9	75	0	10
38 th - 39 th 2012	39 th - 40 th 2012	15	106	0	14
40 th - 41 st 2012	41 st - 42 nd 2012	24	83	0	6
42 nd - 43 rd 2012	43 rd - 44 th 2012	57	112	0	6
44 th - 45 th 2012	45 th - 46 th 2012	19	84	1	5
46 th - 47 th 2012	47 th - 48 th 2012	79	84	0	13
48 th - 49 th 2012	49 th - 50 th 2012	57	112	1	5
50 th - 51 st 2012	51 st - 52 nd 2012	34	113	4	4
52 nd 2012 - 1 st 2013	1 st - 2 nd 2013	0	0	9	15
2 nd - 3 rd 2013	3 rd - 4 th 2013	120	112	8	23
4 th - 5 th 2013	5 th - 6 th 2013	145	113	25	65
6 th - 7 th 2013	7 th - 8 th 2013	19	114	47	127
8 th - 9 th 2013	9 th - 10 th 2013	39	114	124	262
10 th - 11 th 2013	11 th - 12 th 2013	51	115	243	322
12 th - 13 th 2013	13 th - 14 th 2013	25	115	206	279
14 th - 15 th 2013	15 th - 16 th 2013	56	116	139	306
16 th - 17 th 2013	17 th - 18 th 2013	48	112	65	132
18 th - 19 th 2013	19 th - 20 th 2013	0	85	20	67
	Total:	797	1765	892	1661

2. Casos de Dengue

Durante o período do estudo, foram notificados pela vigilância epidemiológica do município um total de 2.937 casos suspeitos da doença (Figura 1). Destes 1.228 foram confirmados como casos de dengue positivos, sendo que 892 foram confirmados por exame laboratorial e 336 confirmados por critérios clínico-epidemiológico. Já os considerados negativos somam um total de 1.709 casos, sendo que 1.661 foram considerados negativos por exame laboratorial e 48 foram considerados negativos através de critérios clínico-epidemiológicos.

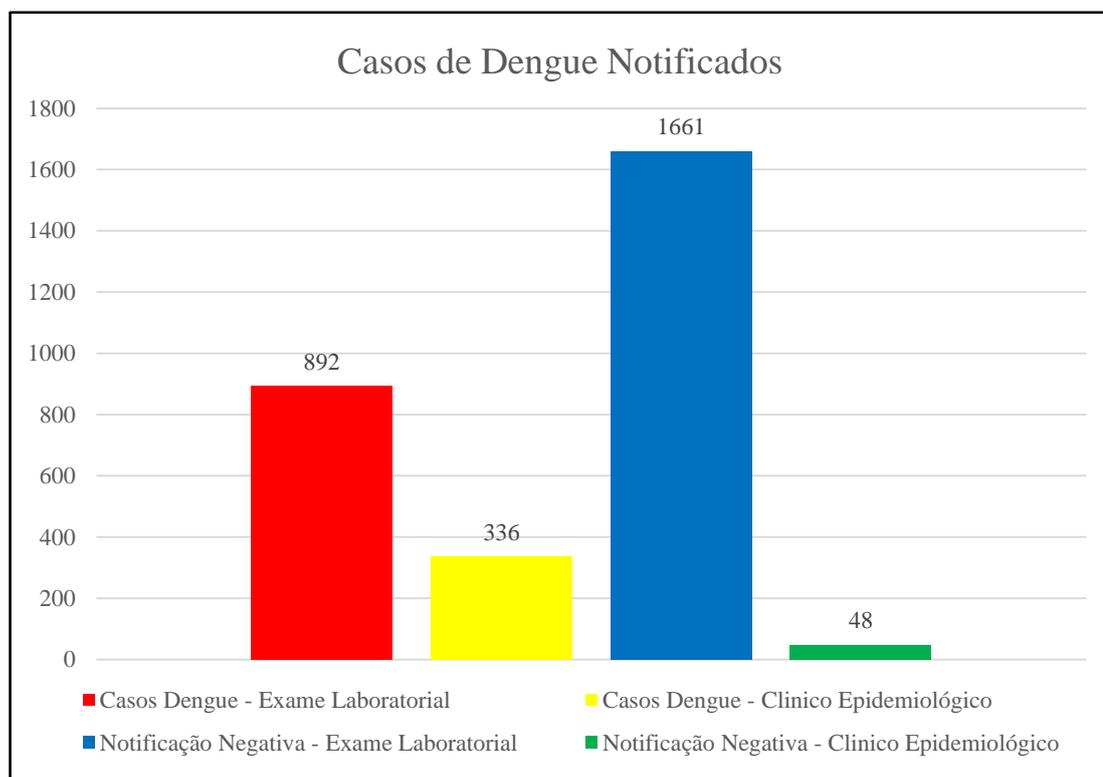


Figura 1: Número de casos de dengue notificados no bairro Solo Sagrado durante o período do estudo. Os casos foram separados de acordo com o tipo de exame que foi realizado para confirmação.

Na Figura 2 temos a comparação entre o número de casos de dengue e a quantidade de mosquitos *Aedes aegypti* fêmeas capturadas pelas armadilhas no período do estudo. Nesta Figura podemos observar a evolução dos casos de dengue e a quantidade de fêmeas capturadas, no decorrer do tempo. As diferenças de quantidade de espécimes coletadas pode estar relacionadas com as diferenças de temperatura e precipitação durante o período. As armadilhas capturaram o maior número de fêmeas na quinzena 5-6/2013. Já os casos de dengue começam a surgir gradualmente a partir da quinzena 51-52/2012, tendo o ápice de casos na quinzena 11-12/2013. As quinzenas estão divididas em duas linhas abaixo do gráfico, na primeira linha temos as quinzenas relativas à ocorrência dos casos de dengue e na segunda linha temos as quinzenas referentes as armadilhas.

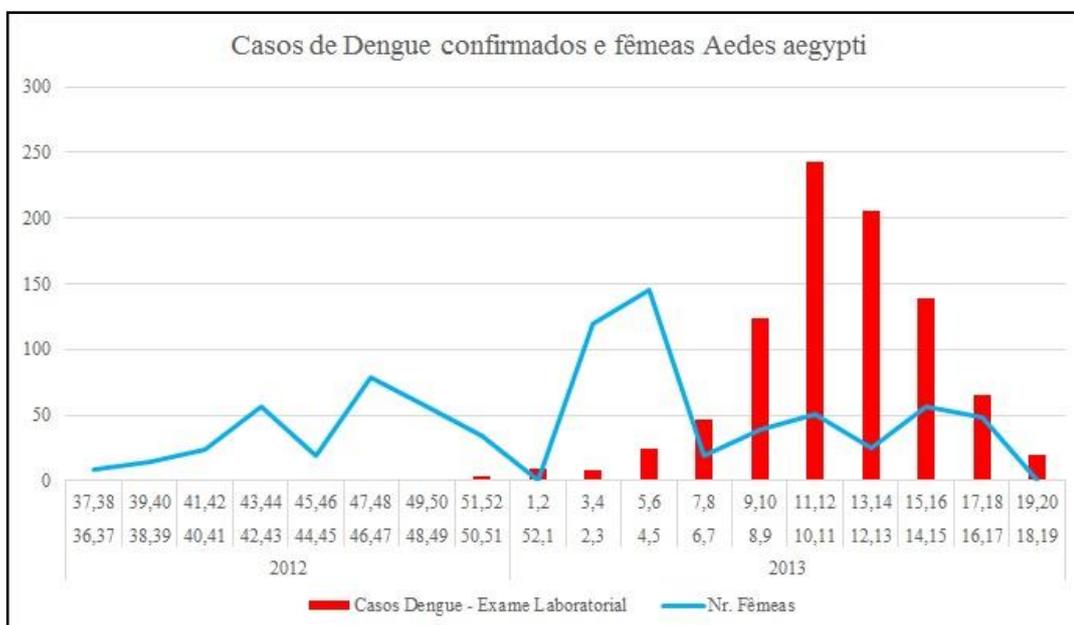


Figura 2: Comparação por quinzena entre o número de casos de dengue confirmados e o número de fêmeas capturadas pelas armadilhas durante o período do estudo.

3. Geocodificação dos Endereços

A geocodificação dos endereços pode ser vista nas Figuras 3 e 4. Na Figura 3 temos a representação de todas as quinzenas relacionadas à instalação das armadilhas, nela podemos destacar a captura de fêmeas durante todo o período do estudo. Essas fêmeas foram capturadas uniformemente por toda a área e o ápice de fêmeas capturadas se deu na quinzena 4-5/2013. A Figura 4 representa as quinzenas dos casos de dengue, estes começam a surgir gradualmente na quinzena 49-50/2012 com apenas um caso notificado, progredindo acentuadamente até atingir seu ápice na quinzena 11-12/2013, diminuindo nas quinzenas seguintes, porém persistindo até a última quinzena.

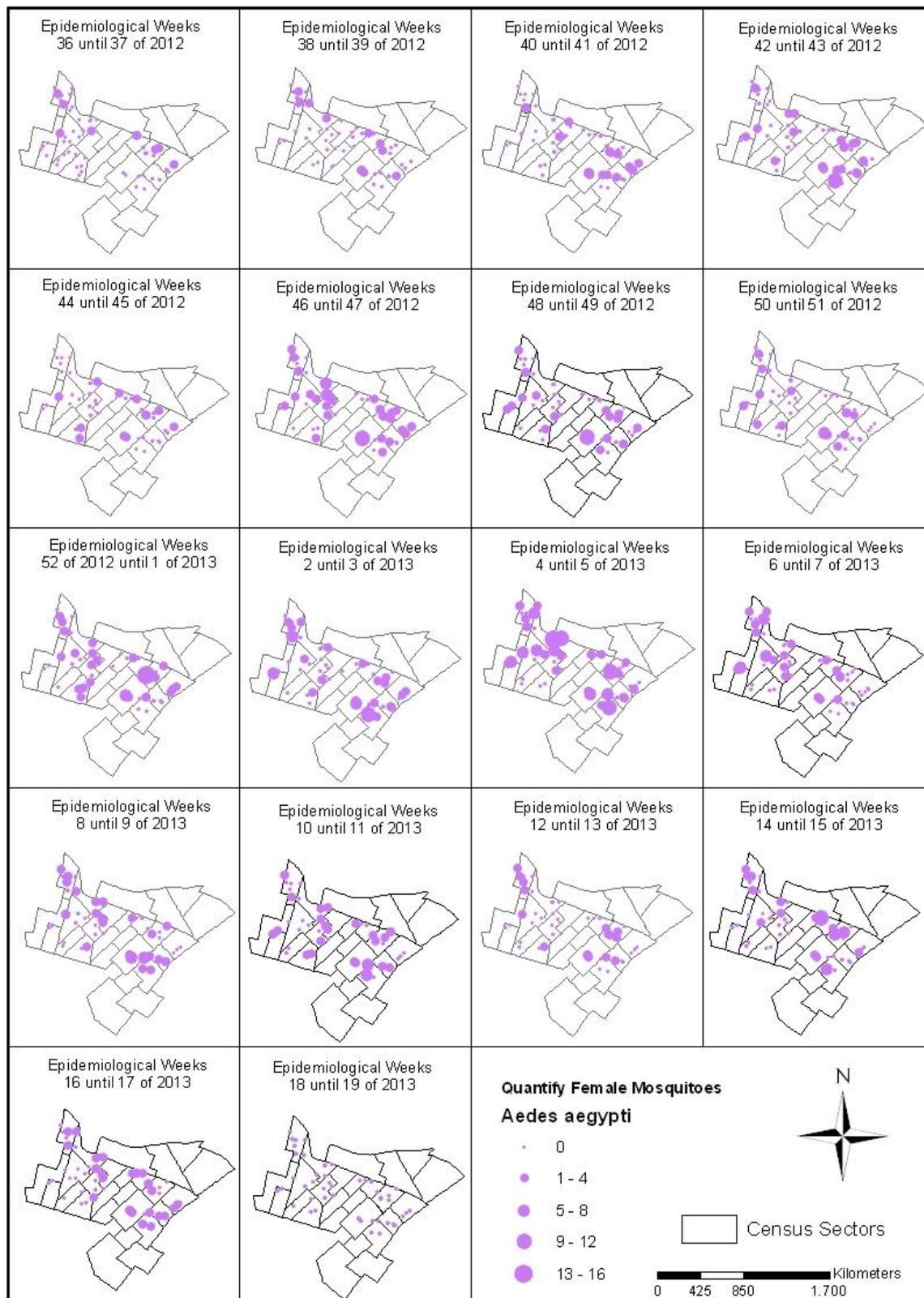


Figura 3: Mostra todos os endereços das residências onde foram instaladas as armadilhas BG-Mosquitito e BG-Sentinel. Os círculos lilás representam as armadilhas e os tamanhos são diferenciados pela quantidade de fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* capturados pelas mesmas.

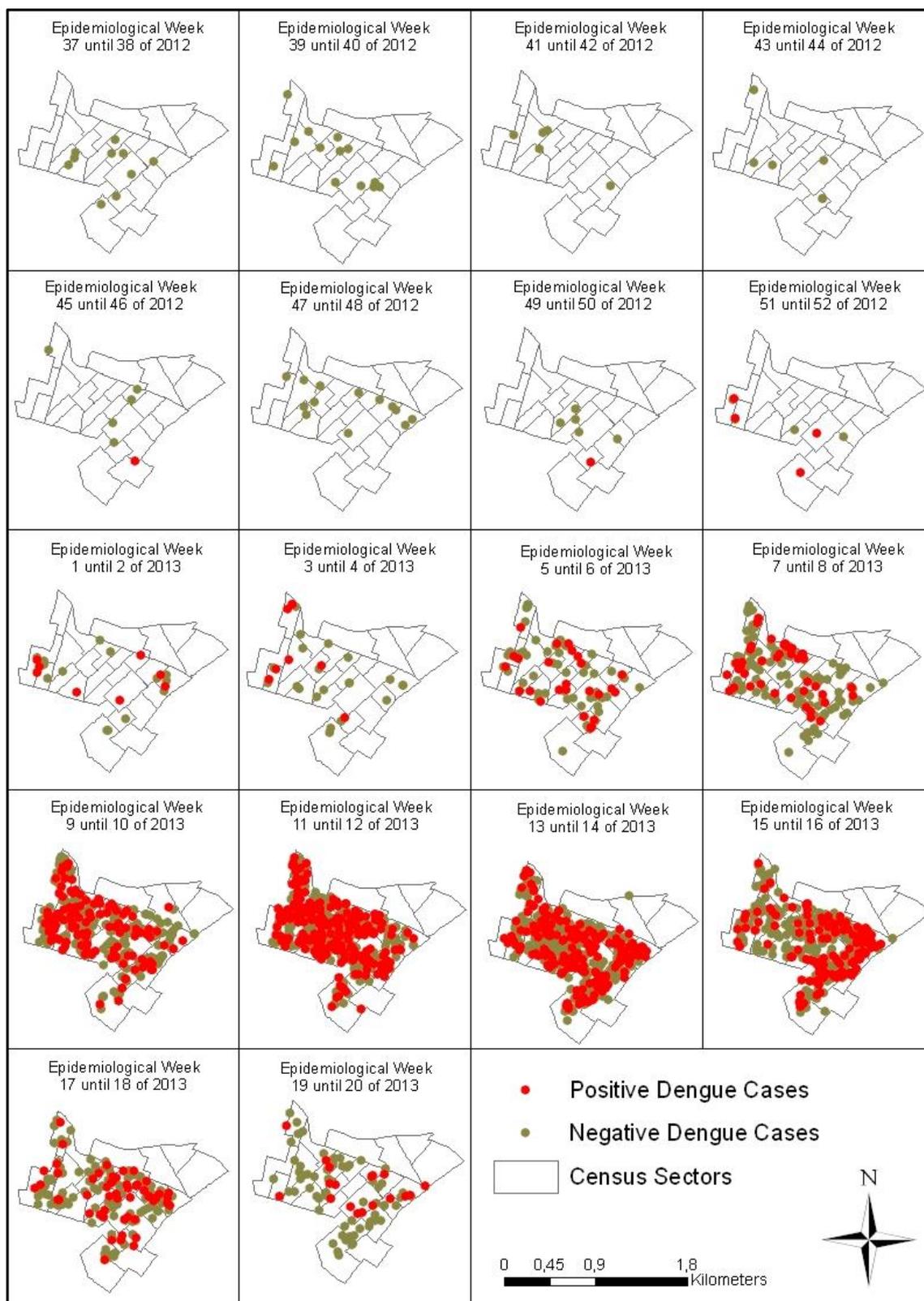


Figura 4: Mostra todos os endereços de moradores com suspeitas de dengue no bairro trabalhado. Os círculos vermelhos representam os casos de dengue positivos para o vírus DENV, confirmados por exame laboratorial e os círculos marrons representam os casos de dengue notificados que foram considerados negativos para os vírus DENV através de exame laboratorial.

4. Análise dos Dados

Na Figura 5 é possível ver todos os mapas com os índices de infestação de fêmeas de *Aedes aegypti*. Onde percebemos que há uma padronização da infestação praticamente por toda a área. Nas quinzenas 44-45/2012 e 2-3/2013 não há diferenças de tonalidades devido às mesmas apresentarem a mesma média de infestação para toda a área trabalhada. Como a técnica de Krigagem trabalha com amostragem e estimativa de valores para as áreas não trabalhadas, é realizada uma média de infestação para as áreas ao redor de uma armadilha, quanto mais próxima a uma armadilha positiva maiores serão os índices de infestação, quanto mais distantes menores serão estes índices, porém no caso destas duas quinzenas (44-45/2012 e 2-3/2013) a média para toda a área foi à mesma, não havendo diferenças entre os locais mais próximos e mais distantes das armadilhas, isto se deve ao fato de que as armadilhas coletaram poucos mosquitos fêmeas nestes períodos.

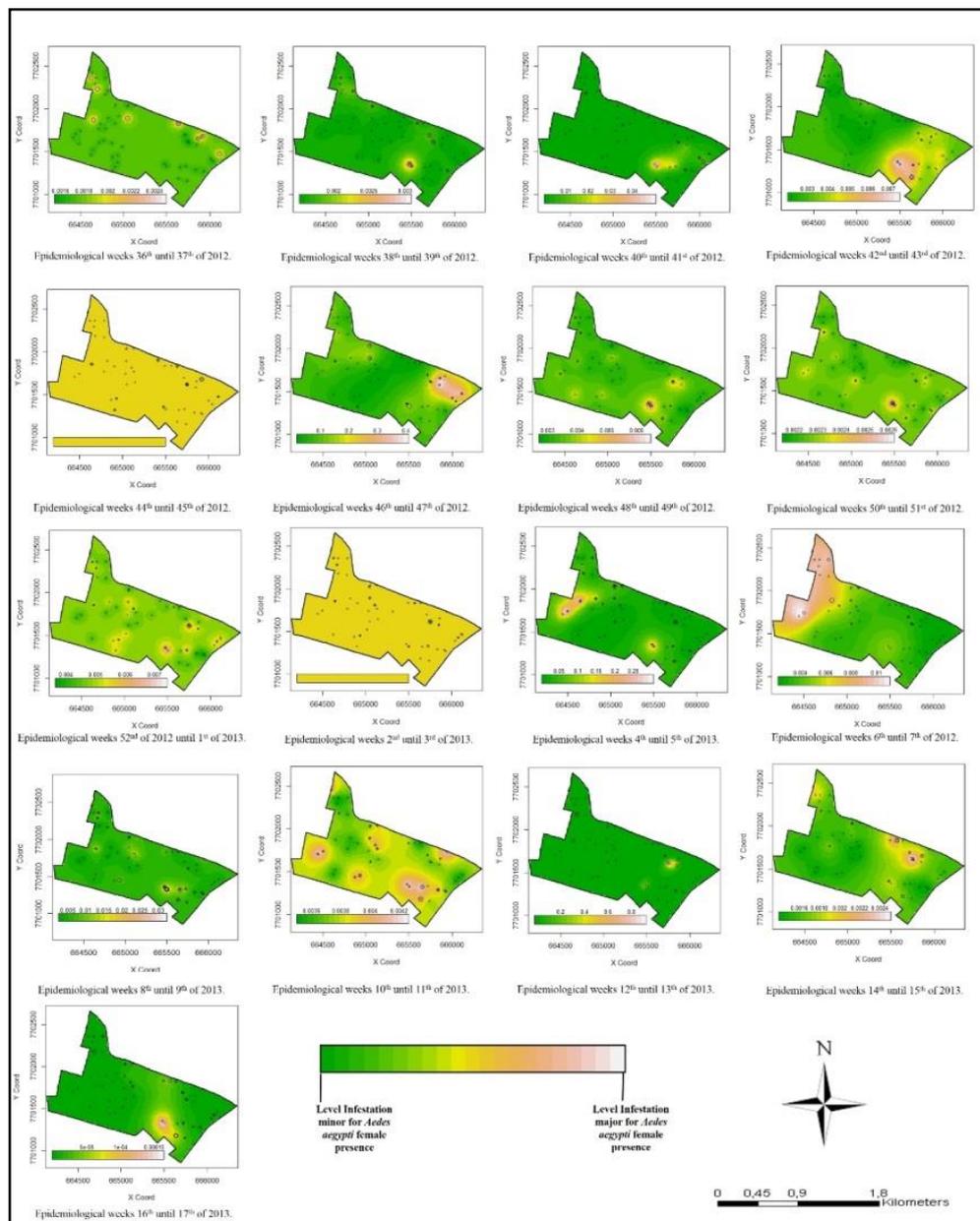


Figura 5: Apresenta os índices de infestação por fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* em todas as quinzenas trabalhadas. Quanto mais próximas às cores estão do verde menores são os índices de infestação quanto mais próxima a cor laranja maiores os índices de infestação.

Na figura 6 temos a comparação entre os índices de infestação vetorial e os níveis de risco relativo para a ocorrência de dengue. Esta comparação foi realizada visualmente entre quinzenas. Sendo que as quinzenas dos mapas do índice de infestação sempre iniciam uma semana antes do que as semanas do risco relativo.

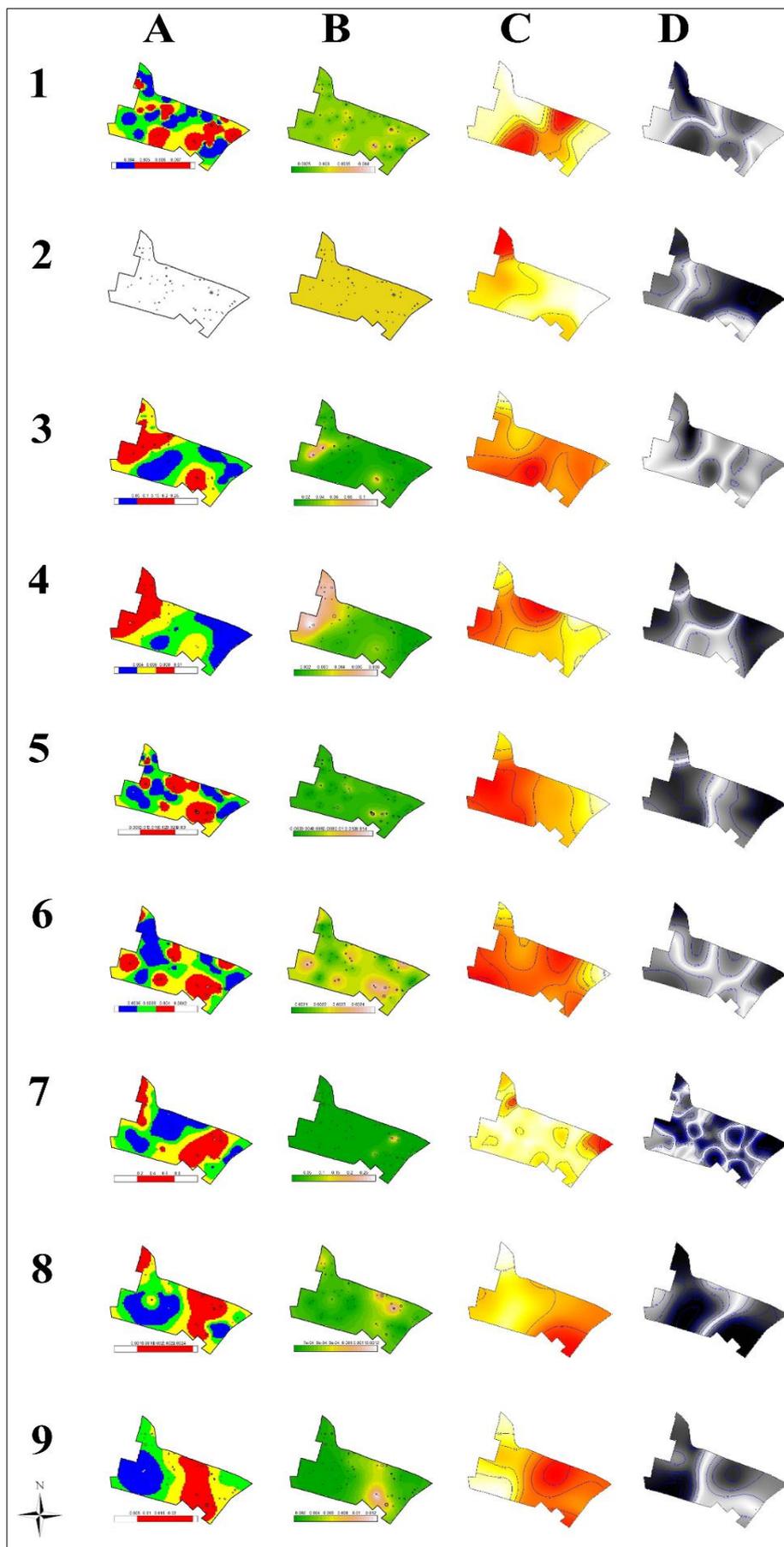


Figura 6: Comparação entre os índices de infestação vetorial e os níveis de risco relativo para a ocorrência de dengue. As letras A, B, C e D representam em todas as quinzenas: o índice de infestação vetorial, intervalo de confiança do índice de infestação vetorial, nível de risco relativo para a ocorrência de dengue e índice de significância referente ao risco relativo, respectivamente. As linhas de 1 a 9 representam as quinzenas, sendo a linha 1 formada pelas quinzenas 52/2012 – 1/2013 (armadilhas) e 1/2/2013 (casos de dengue). A linha 2 é formada pelas quinzenas 2-3/2013 (armadilhas) e 3-4/2013 (casos de dengue). A linha 3 é formada pelas quinzenas 4-5/2013 (armadilhas) e 5-6/2013 (casos de dengue). A linha 4 é formada pelas quinzenas 6-7/2013 (armadilhas) e 7-8/2013 (casos de dengue). A linha 5 é formada pelas quinzenas 8-9/2013 (armadilhas) e 9-10/2013 (casos de dengue). A linha 6 é formada pelas quinzenas 10-11/2013 (armadilhas) e 11-12/2013 (casos de dengue). A linha 7 é formada pelas quinzenas 12-13/2013 (armadilhas) e 13-14/2013 (casos de dengue). A linha 8 é formada pelas quinzenas 14-15/2013 (armadilhas) e 15-16/2013 (casos de dengue). A linha 9 é formada pelas quinzenas 17-18/2013 (armadilhas) e 19-20/2013 (casos de dengue).

Ao observarmos a Figura 6, na linha 1 que representa as quinzenas 52/2012-1/2013 e 1-2/2013, percebemos que existe uma relação entre os índices de infestação vetorial e a ocorrência de dengue, mapas nas colunas A e C, respectivamente. Essa relação pode ser vista quando analisamos a região noroeste e centro-oeste do bairro nos mapas estas regiões apresentam altos índices que se sobrepõem nas duas situações. Também é possível observarmos regiões que apresentam ausência de risco para a ocorrência de dengue, devido à baixa incidência de mosquitos e casos, estas áreas aparecem nos mapas representados pela cor azul (mapa A) e branco (mapa C). Já nos mapas presentes nas colunas B e D temos os mapas de intervalo de confiança dos índices de infestação e significância dos mapas de risco relativo, respectivamente.

A mesma situação foi detectada também nas linhas 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9, onde as regiões com maior risco relativo de ocorrência da doença se sobrepõem as regiões com maiores índices de infestação vetorial, sendo também possível a verificação de áreas com ausência de risco para a ocorrência de dengue. A única quinzena que não podemos observar a relação entre os mapas é na linha 2 (Quinzena 2-3/2013 e 3-4/2013) devido ao fato de que nesta quinzena não houve diferenças nos índices de infestação. Portanto, na quinzena em questão não podemos afirmar que os índices de infestação estão diretamente relacionados à ocorrência de dengue na região.

Algumas áreas em todas as quinzenas apresentam tonalidade próxima ao vermelho nos mapas C, essas áreas são consideradas “*hotspots*” ou regiões de risco aumentado para a transmissão da doença, ou seja, necessitam de maior atenção por parte das autoridades de saúde por apresentarem elevado risco de ocorrência da doença.

Nas linhas 2, 7, 8 e 9, correspondentes aos mapas de significância do risco relativo (mapas D), temos níveis de significância de $p=0,05$ nos resultados, mostrando assim que a confiabilidade dos resultados é alta. As demais quinzenas apesar de não apresentarem um p significativo, apresentaram resultados significativos e que na grande maioria ficaram entorno de $p= 0,1$.

DISCUSSÃO

Neste estudo, foi examinada a distribuição espacial dos indicadores entomológicos do mosquito *Aedes aegypti* na fase adulta e o risco relativo de ocorrência de casos de dengue, de Setembro de 2012 à Maio de 2013, num total de 9 meses de trabalho. Neste período foi possível verificar que os mapas dos indicadores entomológicos quando comparados aos mapas de risco relativo de ocorrência de dengue detectam regiões do bairro que apresentam risco relativo de ocorrência de dengue elevados.

Percebemos que existe um padrão sazonal tanto para os casos da doença quanto para o número de fêmeas capturadas. Apesar das armadilhas terem capturado fêmeas durante todo o período do estudo, nota-se que na quinzena 4-5/2013 ocorreu o pico da infestação. Já os casos de dengue começaram a aparecer na quinzena 51-52/2012, apresentando o pico de ocorrência da doença na quinzena 11-12/2013. Portanto, levando em consideração o período de incubação extrínseco da doença (31) podemos ressaltar a relação entre estas duas variáveis. Em trabalho realizado na Região Metropolitana de Fortaleza, Magalhães et al (32) também observou um padrão sazonal da dengue, além da relação entre as áreas com maior infestação do vetor e a espacialidade da incidência desta doença. Ainda de acordo com Zeller et al (33), existem inúmeros aspectos

envolvidos na transmissão dos arbovírus, destacando a influência das condições ambientais (variações climáticas, agricultura, urbanização, etc.) como também da re-emergência ou reintrodução destes vírus em uma população susceptível.

Considerando que a introdução do sorotipo DENV-4 do vírus da dengue se deu no ano de 2011 no município (34), a população nesta ocasião, não apresentava imunidade adquirida a este sorotipo, ou seja, ela se apresentava susceptível para a difusão doença. Deste modo, o período deste estudo é considerado ideal para a verificação da transmissão e ocorrência da doença na área, devido à introdução de um novo sorotipo. Este fato foi descrito por vários autores que, dentre outros fatores, consideraram o estado imunológico da população como primordial para a ocorrência da doença em uma determinada localidade (35, 36, 37).

Como o controle do vetor é a única maneira de se conter o avanço da dengue, muitas estratégias são utilizadas atualmente para a obtenção dos indicadores entomológicos. Neste panorama as equipes de campo trabalham voltadas no emprego de diversos métodos como a pesquisa larvária direta, armadilhas de ovos e larvas e captura de adultos. Na maior parte dos países, incluindo o Brasil, os métodos mais usados são o Índice de Breteau, Predial e de Recipientes, porém estas três metodologias não levam em consideração o principal indicador entomológico para dengue que é a produtividade de mosquitos dos criadouros. Outros métodos como positividade e número médio de ovos por armadilha de oviposição, número de larvas e/ou pupas por 100 casas inspecionadas, número de criadouros por 1000 pessoas, são indicadores entomológicos que descrevem informações epidemiológicas importantes para o controle do vetor, no entanto são de difícil operacionalização (38, 39, 40,41). Todos estes indicadores entomológicos apesar de descreverem a ecologia do vetor e serem metodologias mais

baratas, não são capazes de descrever a realidade do local, de estimar a abundância dos adultos e nem podem ser utilizados para se determinar áreas de riscos de ocorrência da doença (42, 43). Os índices de infestação vetorial de mosquitos adultos constituem uma variável mais eficiente, pois, descrevem a realidade do vetor no local, além de poderem ser associados a capacidade vetorial de transmissão da doença e podendo assim se desenhar regiões com maior risco para a ocorrência da doença (43, 44, 45).

Em estudo realizado por Cavalcante et al (12), na cidade de Palmas – TO, os autores utilizaram técnicas de análise espacial e verificaram os principais pontos (*hotspots*) para a ocorrência da doença, onde alguns destes pontos não eram trabalhados pelas equipes de campo do município por se tratar de áreas comerciais sem residências mas que necessitavam de uma maior atenção dos gestores de saúde por apresentarem altos índices de infestação vetorial. Estes resultados vêm de encontro com os obtidos por este estudo, pois os mapas de risco relativo detectaram áreas do bairro que necessitam de maior atenção das equipes de campo por apresentarem risco de ocorrência de dengue elevado, e no caso deste estudo o bairro apresenta área de residências e que, portanto, os criadouros estão próximos aos moradores, pois as regiões com maiores índices nos mapas de infestação se sobrepõem aos hotspots de ocorrência da doença.

Em estudo realizado por García et al (46), com o emprego de ferramentas de análise espacial para criar mapas de risco para a ocorrência de dengue em duas cidades do México, verificaram que os meses de maior risco epidemiológico para a ocorrência da doença nas localidades foram os meses de Julho, Agosto e Setembro. Para esta análise, os autores utilizaram o índice de densidade de adultos (IDA), índice este que representa o mais próximo à realidade, visto que este índice leva em consideração o

número de espécimes que realmente são capazes de transmitir a doença, pois em outras fases da vida do vetor nem todos os espécimes coletados poderiam chegar à vida adulta e assim transmitir a doença. Neste estudo, utilizamos o número de fêmeas adultas para criar os mapas de infestação do bairro, e verificamos que existe uma relação entre estes índices de infestação com os mapas de risco para a ocorrência da doença.

A associação das ferramentas de análise espacial e do GIS, também foram empregadas por Sanchez et al (47), onde relacionaram os indicadores entomológicos com os casos de dengue, associação esta que também foi empregada no presente estudo para a composição de áreas de risco para a ocorrência da doença. Esta relação pode ser vista maioria das quinzenas, salvo aquelas em que não houve diferenças nos índices de infestação. Em contrapartida em estudo realizado por Cavalcanti et al (12), os autores utilizaram a associação entre os índices de infestação predial e casos de dengue e os mesmos notaram que a ocorrência de dengue naquela localidade não estava necessariamente associada aos focos de infestação do vetor, podendo estes estarem associados a outros fatores que não foram levados em consideração no estudo.

O uso de técnicas de geoestatística, como a Krigagem, auxilia na estimativa dos indicadores entomológicos de uma área geográfica, onde é possível a identificação dos locais com maiores aglomerações do evento estudado (48). Esse evento pode ser visto em nossos resultados; foram construídos mapas de infestação onde ficou nítido que os índices de infestação são maiores em determinadas áreas, principalmente áreas ao noroeste e centro-oeste do bairro.

Cavalcanti et al (12), descrevem diversas limitações operacionais no uso de análise espacial, principalmente a grande diversidade loco regional e de territorialização

das cidades, impossibilitando a formação de agrupamentos e suas correlações o que torna difícil a análise geográfica. Em nosso estudo também encontramos algumas limitações principalmente relacionadas às equipes de campo, estas limitações ficaram evidentes nas quinzenas com feriados nacionais e em quinzenas com longos períodos de chuva que diminuíram o número de armadilhas instaladas e conseqüentemente diminuíram o número de fêmeas coletadas. Apesar destas limitações, o estudo demonstra uma associação entre as áreas com maiores índices de infestação com risco relativo aumentado para a ocorrência da doença em diferentes quinzenas.

Portanto, podemos concluir que com a utilização de técnicas de geoestatística associadas a indicadores entomológicos de mosquitos adultos e casos de dengue é possível a detecção de áreas com risco relativo elevado de ocorrência de dengue. Áreas estas que devem ser priorizadas em relação ao emprego de medidas de vigilância e controle.

REFERÊNCIAS

- 1 - World Health Organization - WHO. (2009) Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition.
- 2 - Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, et al. (2006) Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitos captured with MosquiTRAPs in Mirassol. *J Vector Ecol* 31: 285-291.
- 3 - Dibo MR, Chiaravalloti-Neto F, Battigaglia M, Mondini A, Fávaro EA, et al. (2005) Identification of the best ovitrap installation sites for gravid *Aedes (Stegomyia) aegypti* in residence in Mirassol, state of São Paulo, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 339-343.

- 4 - Natal D.(2002) *Biologia do Aedes aegypti*. Biológico, São Paulo, v.64, n.2, p.205-207.
- 5 - Regis LN, Acioli RV, Silveira-JR. JC, De Melo-Santos MAV, Da Cunha MCS, et al. (2014) Characterization of the spatial and temporal dynamics of the dengue vector population established in urban areas of Fernando de Noronha, a Brazilian oceanic island. *Acta Tropica* 137; 80–87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.010>.
- 6 - De Figueiredo RMP, Mourão MPG, Abi-Abib YEC, De Oliveira CM, Roque R, et al. (2013) 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* 46(2):221-222
<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-1096-2013>
- 7 - Maciel-De-Freitas R, Eiras AE, De Oliveira RL.(2006) 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, Vol. 101(3): 321-325.
- 8 - Maciel-De-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB. (2008) Mosquito traps designed to capture *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females: preliminary comparison of Adultrap, MosquiTRAP and backpack aspirator efficiency in a dengue-endemic area of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 103(6): 602-605.
- 9 - Hapairai LK , Joseph H , Sang MAC , Melrose W, Ritchie SA , et al. (2013) 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*. <http://www.bioone.org/doi/full/10.1603/ME12270>.

10 - Fritz CE, Schuurman N, Robertson C, Lear S. (2013) A scoping review of spatial cluster analysis techniques for point-event data. *Geospatial Health* 7(2), pp. 183-198.

11 - Câmara G, Monteiro AM, Fucks SD, Carvalho, MS. (1997) Análise Espacial de dados Geográficos. Cap 1. Análise Espacial e Geoprocessamento.

12 - Cavalcante MPR, De Oliveira C, Simão FB, Lima PR, Monteiro PS. (2013) Análise geoespacial: um estudo sobre a dengue. *Acta Paul Enferm.* 2013; 26(4):360-8.

13 - Nogueira JDL, Do Amaral RF. (2009) Comparação entre os métodos de interpolação (Krigagem e Topo to Raster) na elaboração da batimetria na área da folha Touros – RN. Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Natal, Brasil, 25-30 abril, INPE, p. 4117-4123.

14 - Landim PMB. (2010) Introdução a análise estatística de dados geográficos multivariados. DGA, IGCE, UNESP/Rio Claro, Texto Didático 15, 229 pp.

Disponível: <http://www.rc.unesp.br/igce/aplicada/textodi.html>

15 - Ali M, Wagatsuma Y, Emch M, Breiman RF. (2003) 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.* 69: 634-640.

16 - Wu PC, Lay JG, Guo HR, Lin CY, Lung SC, et al. (2009) Higher temperature and urbanization affect the spatial patterns of dengue fever transmission in subtropical Taiwan. *Sci. Total Environ.* 407: 2224-2233.

17 - Mondini A, Chiaravalloti-Neto F. (2008) Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city.

[Science of The Total Environment](#) 393: 2-3

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.010>

- 18 - Jeefoo P, Tripathi NK, Souris M (2011) 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/ijerph8010051 .
- 19 -
<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=354980&search=sao-paulo%7Csao-jose-do-rio-preto>. Acessado em 28-04-2014.
- 20 - http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_dengue.html . Acessado em 28-04-2014.
- 21 - Chiaravalloti-Neto F. (2010) Estudo da ocorrência de dengue em cidade de porte médio do estado de São Paulo. Tese de Livre Docência. Faculdade de Saúde Pública da USP.
- 22 - Biogents. Manual for the Mosquitito. Available from: <http://www.biogents.com>
- 23 - Biogents. Manual for the BG-Sentinel. Available from: http://www.bgsentinel.com/bilder/Manual_BG-Sentinel.pdf 23/8/2012.
- 24 - [Reiter P](#), [Amador MA](#), [Anderson RA](#), [Clark GG](#). (1995) Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *Am J Trop Med Hyg.* 52(2):177-9.
- 25- Forattini OP. (2002) *Culicidologia Médica*, volume 2. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo. 864 p.
- 26 - Consoli RAGB, Oliveira RL. (1998) Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. 1ª Reimpressão. Rio de Janeiro: Fiocruz.
- 27 - <http://www.r-project.org/>

28 - Ribeiro JR PJ, Diggle P. (2001) GeoR: a packpage for geostatistical Analysis R-NEWS, 1(2):15-18. June.

29 - EPIGEO – Laboratório de Análise Espacial de Dados Epidemiológicos do Departamento de Saúde Coletiva da FCM/UNICAMP.

30 - Stephan C. (2008) Distribuição espacial do risco de acidente de trabalho entre trabalhadores precarizados de Piracicaba. [Tese de Doutorado] Campinas, SP. Universidade de Campinas.

31 - Focks DA, Daniels E, Haile DG, Keesling JE. (1995) A simulation model of the epidemiology of urban dengue fever: literature analysis, model development, preliminary validation and samples of simulation results. Am J Trop Med Hyg Am J Trop Med Hyg Am J Trop Med Hyg Am J Trop Med Hyg; 53: 489-506. **Apud** Donalísio MR, Glasser CM. (2002) Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. Rev. Bras. Epidemiol. Vol. 5, Nº 3.

32 - Magalhães GB. (2012) O uso do geoprocessamento e da estatística nos estudos ecológicos em epidemiologia: O caso da dengue em 2008 na região metropolitana de Fortaleza. Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde. HYGEIA, ISSN: 1980-1726.

33 - Zeller H, Marrama L, Sudre B, Van Bortel W, Warns-Petit E. (2013) Mosquito-borne disease surveillance by the European Centre for Disease Prevention and Control. Clinical Microbiology and Infection, Volume 19 Number 8, August 2013. DÓI: 10.1111/1469-0691.12230.

- 34 - Rocco IM, et al First Isolation of Dengue 4 in the State of São Paulo, Brazil, 2011. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 54(1):49-51, January-February, 2012. doi: 10.1590/S0036-46652012000100009.
- 35 - Focks DA. (2003) A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. Gainsvill: World Health Organization.
- 36 - Halstead SB. Successes and failures in dengue control – global experience. Dengue Bull. 2000; 24:60-70.
- 37 - Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. PLOS Med. 2008; 5:e68. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050068.
- 38 - Donalísio MR, Glasser CM. (2002) Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. Rev. Bras. Epidemiol. Vol. 5, Nº 3.
- 39 - Reiter P, Gubler DJ. (1998) Surveillance and control of urban dengue vectors. In: Gubler DA and Kuno G. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever; New York: Cab International.
- 40 - Superintendência De Controle De Endemias. (1997) Manual de Vigilância Entomológica de *Aedes aegypti*. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Governo do Estado de São Paulo.
- 41 - Gomes AC. (1998) Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. Inf. Epidemiol SUS 3:49-57.)

- 42- Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E.(2000) Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med and Hyg.* 62: 11-80.
- 43 - Coelho GE. (2012) Challenges in the control of *Aedes aegypti*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 54(Suppl. 18):S13-S14, October.
- 44- Niño L. (2011) Interpolación espacial de la abundancia larval de *Aedes aegypti* para localizar focos de infestación. *Rev Panam Salud Publica* 29(6).
- 45 - Steffler LM, Marteis LS, Dos Santos RLC. (2011) Fontes de informação sobre dengue e adoção de atitudes preventivas. *Scientia Plena* 7: 067501.
- 46 - García C, García L, Espinosa-Carreón T. L, Ley P C. (2011) Abundancia y distribución de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) y dispersión del dengue en Guasave Sinaloa, México. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)* Vol. 59 (4): 1609-1619, December.
- 47 - Sánchez L, Cortinas J, Pelaez O, Gutierrez H, Concepción D, Stuyft PV. (2010) Breteau Index threshold levels indicating risk for dengue transmission in areas with low *Aedes* infestation. *Trop. Med. Int. Health.* 2010; 15:173-5. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2009.02437.x
- 48 - Niño L. (2008) Uso de la función semivariograma y estimación kriging en el análisis espacial de un indicador entomológico de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Biomédica* 2008; 28:578-86.

3.CONCLUSÕES

As principais conclusões deste estudo são:

- O bairro Solo Sagrado, município de São José do Rio Preto – SP é uma área endêmica com altos índices de infestação do vetor e também um elevado número de casos da doença;
- DENV4 foi o principal sorotipo circulante nos mosquitos do bairro. Todos os *pools* positivos para DENV eram deste sorotipo;
- A circulação do DENV4 se deu tanto em machos quanto em fêmeas de *Aedes aegypti*;
- O uso das armadilhas BG-Mosquitito e BG-Sentinel como possíveis sentinelas para a ocorrência de dengue na área se mostraram ineficientes para este tipo de utilização;
- As armadilhas utilizadas neste estudo se mostraram eficientes para a captura de mosquitos adultos;
- O uso de ferramentas de análise espacial em conjunto com as armadilhas citadas se mostrou eficientes para a localização de *hotspots* de transmissão de dengue, sendo úteis para intervenções pontuais;
- Estas variáveis podem ser utilizadas como indicadores para vigilância entomológica e epidemiológica de dengue.

4. REFÊRENCIAS

- 1 - World Health Organization - WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition. 2009.
- 2 - Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 2013; 496. DOI:10.1038/nature12060.
- 3 - <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/julho/31/Dengue-classica-at---2013.pdf> acessado em 07/10/2014.
- 4 - Boletim Epidemiológico, Secretária de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde, volume 45; nº 23.2014.
- 5 - Chiaravalloti-Neto F. Epidemiologia do dengue nas regiões de São José do Rio Preto e Araçatuba, São Paulo, 1990 a 1996. São Paulo, 1996. [Tese de Doutorado-Faculdade de Saúde Pública da USP].
- 6 - 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.
- 7 - Rocco IM, et al. First Isolation of Dengue 4 in the State of São Paulo, Brazil, 2011. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 54(1):49-51, January-February, 2012. doi: 10.1590/S0036-46652012000100009.
- 8- Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo (CVE) <http://www.cve.saude.sp.gov.br/> acessado em 07/10/2014.
- 9 - Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. *Flavivirus* genome organization, expression and replication. *Annu Rev Microbiol*. 1990; 44:649-688.

- 10 - [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.
- 11 - 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.
- 12 –Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AAC, et al. Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitos captured with MosquiTRAPs in Mirassol. *J Vector Ecol* 2006; 31: 285-291.
- 13 -Dibo MR, Chiaravalloti-Neto F, Battigaglia M, Mondini A, Fávaro EA, et al. Identification of the best ovitrap installation sites for gravid *Aedes (Stegomyia) aegypti* in residence in Mirassol, state of São Paulo, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100: 339-343.
- 14 –Natal D. Biologia do *Aedes aegypti*. *Biológico*, São Paulo,2002; v.64, n.2, p.205-207.
- 15 - Deneger CM. Avaliação das armadilhas MosquiTRAP, BG-Sentinel e BG-Mosquitito como possíveis ferramentas no controle de *Aedes aegypti*. [Tese de Doutorado]. Belo Horizonte. Minas Gerais. Universidade Federal de Minas Gerais. 2014.
- 16 - Donalísio MR, Glasser CM. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. *Rev. Bras. Epidemiol*. 2002; Vol. 5, Nº 3.
- 17 – Wilder-Smith A, Renhorn KE, Tissera H, Bakar SA, Alphey L, et al. Dengue Tools: innovative tools and strategies for the surveillance and control of dengue. *Glob Health Action* 2012, 5: 17273 - DOI: 10.3402/gha.v5i0.17273.

18 - Coelho GE. Challenges in the control of *Aedes aegypti*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 2012;54(Suppl. 18):S13-S14, October.

19 - Breteau H. La fièvre jaune en afrique-occidentale française: Bull World Health Organ 1954;11: 453–481.

20 - 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.

21 - Focks DA. A Review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. Gainsvill: World Health Organization.2003.

22 - 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.

23 - Steffler LM, Marteis LS, dos Santos RLC. Fontes de informação sobre dengue e adoção de attitudes preventivas. Scientia Plena 2011;7: 067501.

24 –www.biogents.com

25 –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>

26 -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.

- 27 - 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.
- 28 - 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>.
- 29 - Cabezas C. Dengue em el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 2005;22: 212-228.
- 30 - Guzman MG, Kouri G. Dengue: uma atualização. Coleção estudos da cidade. 2002; 47: 1-17.
- 31 - Câmara G, Monteiro AM, Fucks SD, Carvalho, MS. Análise Espacial de dados Geográficos. Cap 1. Análise Espacial e Geoprocessamento. 1997.
- 32 - 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.
- 33 - Nogueira JDL, Do Amaral RF. Comparação entre os métodos de interpolação (Krigagem e Topo to Raster) na elaboração da batimetria na área da folha Touros – RN. Anais XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Natal, Brasil, 25-30 abril, INPE, 2009; p. 4117-4123.
- 34 - Landim PMB. Introdução a análise estatística de dados geográficos multivariados. DGA, IGCE, UNESP/Rio Claro, 2010; Texto Didático 15, 229 pp.
- 35 - 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.

36 - 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.

37 - 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>

38 - 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/ijerph8010051 .