

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**

BIBLIOTECA DO INPA

**Controle do Dengue em Manaus-AM:
Estudo da positividade/produtividade larvária, viabilidade dos ovos
e investigação por RT-PCR dos sorotipos do vírus dengue em
Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae)**

Valéria Cristina Soares Pinheiro

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convenio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS Área de concentração em Entomologia.

**Manaus AM
2005**

T
616.921
P6311c
ex 2

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**

BIBLIOTECA DO INPA

**Controle do Dengue em Manaus-AM:
Estudo da positividade/produtividade larvária, viabilidade dos ovos
e investigação por RT-PCR dos sorotipos do vírus dengue em
Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae)**

Valéria Cristina Soares Pinheiro

Orientador: Prof. Dr. Wanderli Pedro Tadei

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convenio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS Área de concentração em Entomologia.

**Manaus AM
2005**

Pinheiro, Valéria Cristina Soares

Controle do Dengue em Manaus-AM: Estudo da positividade/produzitividade larvária, viabilidade dos ovos e investigação por RT-PCR dos sorotipos do vírus dengue em *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) / Valéria Cristina Soares Pinheiro. – 2005.

xxii+160 f.: il.

Tese (Doutorado) - INPA/ UFAM, Manaus, 2005.

1. *Aedes aegypti* 2. Controle do Dengue 3. Densidade larvária 4. Oviposição 5.

RT-PCR . Título

CDD 19. ed. 616.968

SINOPSE

Estudou-se a influência dos índices pluviométricos nas médias de positividade e produzitividade dos recipientes artificiais usados pelo *Aedes aegypti* em um bairro de Manaus no período de 1999 a 2001. Analisou-se a viabilidade dos ovos de *A. aegypti* em diferentes condições: no insetário e em área externa, em três tipos de armazenamento por diferentes períodos. Utilizou-se a técnica de RT-PCR para investigação dos sorotipos do vírus dengue em *A. aegypti* circulantes em Manaus em 2003.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, Controle do Dengue, Densidade larvária, Oviposição, RT-PCR.

Dedicatória

*A minha querida sobrinha Morgana (In
memoriam), um anjo que passou muito rápido
por essa vida, e deixou muita saudade.*

“A única limitação real em suas habilidades está no nível de seus desejos. Se desejar algo com a força suficiente, não haverá limites para o que possa conseguir.”

Brian Tracy

AGRADECIMENTOS

À Deus que sempre ilumina meu caminho e me deu coragem para enfrentar os muitos momentos de dificuldades para realizar esse sonho.

Aos meus pais, Abilemar e Concita, e a tia Sessé pelo apoio amor irrestrito e dedicação constantes

Aos meus irmãos e sobrinhos pelo carinho e apoio.

À Universidade Estadual do Maranhão por permitir meu afastamento possibilitando a realização do Doutorado e especialmente ao Prof. Aluisio Bittencourt, chefe do Depto de Ciências pelo incentivo e apoio a minha qualificação.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Coordenação de pesquisas em Ciências da Saúde – CPCS, Laboratório de Malária e Dengue e Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela possibilidade de realizar o curso de Doutorado.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

Ao Dr. Wanderli Pedro Tadei, pelos ensinamentos da Ciência e da Vida, por acreditar no meu potencial científico e pela amizade nesses anos de convivência.

À Fundação Nacional de Saúde na pessoa do Dr. Antonio Evandro Melo de Oliveira, pelo apoio recebido por meio da FUNASA - Regional do Amazonas e da Fundação de Vigilância e Saúde, no desenvolvimento das atividades desse trabalho.

Aos chefes dos Distritos da Alvorada, Cachoeirinha e Cidade Nova por todo apoio recebido. E em especial à Luzia Mustafá que sempre me atendeu com eficiência e presteza quando solicitada.

À equipe de Agentes de Saúde dos bairros Coroados, D. Pedro e Praça XIV pela ajuda na coletas dos dados utilizados neste trabalho.

Aos Drs. Paulo Pimenta e Nágila Costa Segundino pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

À equipe da Seção de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas, na pessoa do Dr. Pedro Fernando C. Vasconcelos, pela colaboração na realização das análises de PCR. E especialmente à Dra. Ana Cecília R. Cruz pelos ensinamentos, paciência e amizade demonstrados durante minha permanência no laboratório de Molecular e a MSc Eliana Pinto e a Bioquímica Patrícia Barros pela dedicação e o auxílio na realização das análises de PCR e isolamento viral.

À Dra. Suely Costa, pela sugestões nas análises estatísticas.

Às amigas Sílvia, Eleilza e Raquel pelo companheirismo e apoio.

Aos amigos de Caxias que em diversos momentos foram companheiros de apartamento: Carlos, Limeira e Josy.

Aos grandes amigos que mesmo a distância sempre estiveram presente dando estímulo e apoio: Elenice, Elmary, Claudene, Limeira, Dircilene, Gilvaldo, Auri, Deusa, Wilsa e em Manaus a Claudine.

RESUMO

Esse trabalho abordou diferentes parâmetros entomológicos importantes para o controle do dengue na cidade de Manaus: (1) O estudo dos recipientes artificiais com a realização de coletas diárias em um bairro no período de 1999 a 2001, para analisar a influência dos índices pluviométricos na positividade e produtividade dos recipientes artificiais usados pelo *Aedes aegypti*; (2) Avaliação da viabilidade dos ovos de *A. aegypti* em condições de laboratório e em área externa, por meio da realização de testes com ovos mantidos em diferentes períodos e em diversos tipos de armazenamento; (3) Investigação por RT-PCR dos sorotipos do vírus dengue circulantes em Manaus no ano de 2003, em *A. aegypti* capturados em vários bairros da cidade, onde havia registros de casos clínicos de dengue. A transmissão transovariana do vírus foi analisada com a utilização das formas imaturas do vetor.

As análises das médias de positividade nos três anos, permitiram constatar aumento nos valores de 1999 para 2000 e queda em 2001. Verificou-se um padrão marcante de sazonalidade para positividade cujas médias mais elevadas ocorrem predominantemente nos meses chuvosos. Em relação à produtividade, as médias sofreram redução no decorrer dos três anos, e não foi constatado um padrão sazonal como na positividade. Os recipientes com maiores médias de positividade e produtividade foram peças e materiais e pneus, que apresentaram 36,08 e 33,43 larvas, respectivamente.

Os resultados dos experimentos da viabilidade dos ovos de *A. aegypti* demonstraram que a média de eclosão foi bem maior no insetário – 32,38 , do que na área externa – 7,46. As taxas de eclosão são elevadas até 4 meses – 48%, no entanto, a eclosão foi observada até 8 meses, em percentuais muito baixos – 0,02%. Verificou-se ainda que o dessecamento

é o principal fator envolvido na perda da viabilidade dos ovos, o que foi comprovado pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura, realizada em ovos de diferentes períodos.

Os resultados dos testes com a RT-PCR em *A. aegypti* revelaram uma taxa de infecção de 18% para o sorotipo DENV 3 (15 lotes positivos dos 82 analisados), sendo detectados mosquitos positivos coletados em 15 bairros de Manaus. Esses dados permitiram concluir que a população está sob risco de sofrer uma epidemia ocasionada pelo sorotipo DENV 3 que pode ser acompanhada de aumento dos casos de FHD. Portanto, torna-se necessária a adoção de medidas de vigilância eficientes, que identifiquem os sorotipos circulantes. A utilização da técnica da RT – PCR, para o monitoramento da circulação viral em mosquitos, apresenta-se como uma importante alternativa na prevenção das epidemias de dengue, pois permite identificar com rapidez e total confiabilidade os níveis de disseminação do vírus em determinadas áreas.

ABSTRACT

The present study addresses important entomological parameters for the dengue control in the city of Manaus: (1) The study of artificial containers with daily collections in a neighbourhood from 1999 to 2001, in order to analyze the influence of the rainfall index on the positivity and productivity of the artificial containers used by the *A. aegypti*. 2) Evaluation of the viability of the eggs of *A. aegypti* under laboratory conditions and in an outdoor area, by the performance of tests with eggs kept under several kinds of storage; 3) Investigation through RT-PCR of the dengue virus serotypes circulating in Manaus in de 2003, on *A. aegypti* specimens captured in various neighbourhoods of the city, where there was a record of clinical cases of dengue. The virus transovarial transmission was analysed by using the vector's immature forms.

The analyses of the positivity averages throughout the three years, made it possible to notice the raise on the positivity values from 1999 to 2000 and drop in 2001. A marked pattern of seasonality was found for positive values, whose highest averages occurred predominantly in the rainy months. Regarding productivity the averages underwent a reduction through the course of the three years, and there was no seasonality pattern as shown on the positive values. Containers with the highest positivity and productivity averages were tools, construction material and tyres, which presented 36.08 and 33.43 larvae, respectively.

The findings of the *A. aegypti* eggs viability experiments showed that the hatching average was much higher in the insectariums – 32.38, than in the outdoor area – 7.46. The hatching rates increased up to 4 months – 48%, however, by 8 months they dropped to low rates – 0.02%. Desiccation was also found to be the main factor involved on the loss of

viability from the eggs, which was confirmed through scanning electron microscopy imaging carried out on eggs from different periods.

The findings from the tests on *A. aegypti* mosquitoes with the RT-PCR showed an infection rate of 18% for the DENV 3 serotype (15 positive lots out of the 82 analysed), being detected positive mosquitoes that were collected from 15 neighbourhoods of Manaus. These findings allowed concluding that the population is running the risk of having to put up with the occurrence of an epidemic brought about by the DENV 3 serotype that may be accompanied by the increase of FHD cases. Hence, it becomes necessary to adopt efficient surveillance measures, which will identify the serotypes circulating. The RT – PCR technique for monitoring the viral circulation in mosquitoes, shows to be an important method on the prevention of dengue epidemics, since it makes it possible to identify the virus dissemination levels in determined areas quickly and reliably.

ÍNDICE

FICHA CATALOGRÁFICA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
ÍNDICE.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xxi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Arbovírus.....	1
1.2 Família Flaviviridae.....	2
1.3 Vírus Dengue.....	4
1.3.1 Ciclo de Transmissão.....	4
1.4 Histórico do Dengue.....	7
1.5 Dengue no Brasil.....	9
1.6 Dengue em Manaus.....	10
1.7 Estratégias de prevenção e controle do dengue.....	11
2. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	13
CAPÍTULO I: Relação da positividade/produtividade larvária de recipientes artificiais de <i>A. aegypti</i> com os índices pluviométricos de Manaus-Amazonas.....	22
1. INTRODUÇÃO.....	22
2. OBJETIVOS.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28

3.1 Área de Estudo.....	28
3.2 Divisão Geográfica de Manaus.....	29
3.3 Amostragem.....	33
3.4 Análise dos resultados.....	37
4. RESULTADOS.....	41
4.1 Análise da Positividade.....	45
4.2 Análise da Produtividade.....	54
5. DISCUSSÃO.....	61
6. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	75
7. ANEXOS.....	85
CAPITULO II: Avaliação da viabilidade de ovos de <i>A. aegypti</i> (Diptera, Culicidae)	
em diferentes condições de armazenamento na	
Amazônia.....	94
1. INTRODUÇÃO.....	94
2. OBJETIVOS.....	97
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	98
3.1 Formação de ovoteca.....	98
3.2 Contagem e armazenamento dos ovos.....	100
3.3 Testes de viabilidade.....	104
3.4 Análise em microscopia eletrônica de varredura – MEV.....	105
3.5 Análise Estatística.....	106
4. RESULTADOS.....	107
4.1. Análise Estatística.....	107

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	115
5. DISCUSSÃO.....	120
6. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	126
 CAPÍTULO III: Investigação dos sorotipos do vírus dengue e da transmissão transovariana em mosquitos <i>A. aegypti</i> (Diptera, Culicidae) de Manaus-Amazonas, com a Técnica de RT-PCR.....	
1. INTRODUÇÃO.....	129
2. OBJETIVOS.....	133
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	134
3.1 Coleta dos espécimes.....	134
3.2 Preparação dos espécimes.....	137
3.3 Extração do RNA viral.....	138
3.4 Transcriptase Reversa-RT e Semi-Nested-PCR	138
3.5 Isolamento Viral.....	138
3.6 Identificação dos vírus isolados.....	139
3.7 Sequenciamento.....	139
4. RESULTADOS.....	140
5. DISCUSSÃO.....	145
6. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	151
7. ANEXO.....	156
CONCLUSÕES FINAIS.....	158

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

- Figura 1.** Mapa da cidade de Manaus-AM por zonas e bairros.....30
- Figura 2.** Limite do bairro Coroado com a Mata da UFAM (Manaus-AM).....31
- Figura 3.** Área de depressão característica de alguns locais do bairro Coroado (Manaus-AM).....32
- Figura 4.** Diversidade de imóveis encontrados no bairro Coroado (Manaus-AM).....32
- Figura 5.** Recipientes potenciais no lixo em área de residência do bairro Coroado (Manaus-AM).....35
- Figura 6.** Coleta das larvas de *A. aegypti* nos recipientes no bairro Coroado (Manaus-AM).....36
- Figura 7.** Índices pluviométricos da cidade de Manaus (AM) – 1999 a 2001.....36
- Figura 8.** Médias mensais de recipientes pesquisados no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).....42
- Figura 9.** Médias observadas por imóvel dos recipientes pesquisados por grupos no período de jan/1999 a dez/2001, no bairro Coroado (Manaus-AM).....43
- Figura 10.** Médias dos recipientes pesquisados no bairro Coroado e índices pluviométricos no período de jan/1999 a dez/2001, no bairro Coroado (Manaus-AM).....44
- Figura 11.** Série temporal dos índices pluviométricos no período de jan/1999 a dez/2001 em Manaus (AM)45

- Figura 12.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da positividade anual dos recipientes no bairro Coroadó (Manaus-AM) - jan/99 a dez/01.....47
- Figura 13.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da positividade mensal dos recipientes no bairro Coroadó (Manaus-AM) - jan/99 a dez/01.....48
- Figura 14.** Médias de positividade dos recipientes no bairro Coroadó e índices pluviométricos de Manaus (AM) no período de jan/99 a dez/01.....48
- Figura 15.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da positividade dos recipientes por grupos no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.....49
- Figura 16.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da interação da positividade dos recipientes por ano/meses no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.....50
- Figura 17.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da interação da positividade dos recipientes por ano/grupo no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.....51
- Figura 18.** Médias de positividade mensais dos recipientes por grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM).....53
- Figura 19.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da produtividade anual dos recipientes no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.....55
- Figura 20.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da produtividade mensal dos recipientes no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.56
- Figura 21.** Representação gráfica das médias transformadas em Box-Cox da produtividade dos recipientes por grupos no bairro Coroadó (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.....57

Figura 22. Representação gráfica das médias da interação da produtividade dos recipientes por ano/meses no bairro Coroado (Manaus-AM) – jan/99 a dez/01.	58
Figura 23. Médias de produtividade dos recipientes no bairro Coroado e índices pluviométricos de Manaus (AM) no período de 1999 a 2001.	59
Figura 24. Número de casos de dengue e índices pluviométricos de Manaus (AM), no período de jan/99 a dez/01.	60

CAPITULO II

Figura 1. Armadilha para ovos de <i>A. aegypti</i> em áreas peridomiciliar.	98
Figura 2. Etapas da formação da ovoteca de <i>A. aegypti</i> para os experimentos de viabilidade.	99
Figura 3. Copo plástico usado para deposição dos ovos.	100
Figura 4. Tipos de armazenamento em que os ovos de <i>A. aegypti</i> foram mantidos.	101
Figura 5. Locais onde os lotes de ovos de <i>A. aegypti</i> foram mantidos por diferentes períodos.	103
Figura 6. Bacias plásticas usadas para observação da eclosão das larvas dos ovos de <i>A. aegypti</i> .	104
Figura 7. Contagem das larvas eclodidas.	105
Figura 8. Médias de eclosão das larvas dos ovos armazenados na área externa e no insetário, transformados por Box-Cox.	109

Figura 9. Médias de eclosão das larvas dos ovos de <i>A. aegypti</i> nos três tipos de armazenamento, transformados por Box-Cox.....	106
Figura 10. Médias de eclosão das larvas dos ovos de <i>A. aegypti</i> armazenados em diferentes períodos, transformadas por Box-Cox.....	112
Figura 11. Taxa de eclosão das larvas dos lotes de ovos de <i>A. aegypti</i> armazenados em tempos diferentes.....	112
Figura 12. Médias de eclosão das larvas dos ovos de <i>A. aegypti</i> armazenados na área externa e no insetário e nos três tipos de armazenamento, transformadas por Box-Cox...	113
Figura 13. Taxas diárias de eclosão das larvas dos ovos de <i>A. aegypti</i>	114
Figura 14. MEV do ovo de <i>A. aegypti</i> de 2 dias	116
Figura 15. MEV do ovo de <i>A. aegypti</i> com 6 meses de armazenamento.....	116
Figura 16. MEV do ovo de <i>A. aegypti</i> eclodido, mostrando diferentes fases da saída da larva.....	117
Figura 17. MEV do ovo de <i>A. aegypti</i> mostrando diferentes níveis de murchamento.....	118
Figura 18. MEV do ovo de <i>A. aegypti</i> envolvido por fungos.....	119
 CAPITULO III	
Figura 1. Mapa da cidade de Manaus (AM).	134
Figura 2 A e B. Coletas de alados de <i>A. aegypti</i> nas residências usando o capturador elétrico de sucção.....	136

Figura 3. Coleta de larvas de <i>A. aegypti</i> em recipientes artificiais nas residências.....	137
Figura 4. Produto de RT-PCR em gel de agarose 2% corado com Brometo de Etídio.....	142
Figura 5. Anticorpos monoclonais para Imunofluorescência Indireta testados, identificando sorotipo DENV 3 em cultura de células C6/36.....	143
Figura 6. Anticorpos monoclonais para Imunofluorescência indireta em cultura de células C6/36 não infectadas.....	143

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

- Tabela 1.** Quantificação dos tópicos analisados nas coletas de *A. aegypti* realizadas no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).....41
- Tabela 2.** Análise de Variância (ANOVA) da positividade para os fatores individuais (Anos, Meses e Grupos) e suas interações.....46
- Tabela 3.** Valores do teste de Análise de Variância (ANOVA) para os fatores analisados e suas interações.....54

CAPITULO II

- Tabela 1.** Quantidade de ovos de *A. aegypti* usados nos testes de viabilidade em diferentes períodos.....107
- Tabela 2.** Análise de Variância (ANOVA) da viabilidade dos ovos de *A. aegypti* armazenados em diferentes condições para os fatores analisados e suas interações.....108
- Tabela 3.** Média de eclosão das larvas dos ovos de *A. aegypti* nos dois ambientes.....108
- Tabela 4.** Média de eclosão das larvas dos ovos nos três tipos de armazenamento.....109
- Tabela 5.** Médias de eclosão das larvas dos ovos armazenados em tempos diferentes...111
- Tabela 6.** Médias de eclosão das larvas dos ovos mantidos na área externa e no insetário, nos três tipos de armazenamento.....113

CAPITULO III

Tabela 1. Quantidade de formas imaturas e adultos de <i>A. aegypti</i> capturados nos bairros de Manaus-AM no período de fevereiro a maio de 2003.....	140
Tabela 2. Relação dos pools de mosquitos positivos na RT-PCR por bairros em Manaus-AM.....	141
Tabela 3. Análise de Homologia de nucleotídeos da amostra AR 671089 com 8 amostras obtidas no banco de dados GenBank.....	144

1. INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL

O dengue é a virose que nas últimas décadas se tornou um dos principais problemas de saúde pública mundial. Ocorre nas regiões tropicais e subtropicais, predominantemente nas áreas urbanas e suburbanas (Soper, 1944; Gubler, 1997; Jacobs, 2000; WHO, 2000). Nos últimos 30 anos ocorreu a expansão mundial da doença, principalmente na Ásia, Pacífico, na África e nas Américas, que registram anualmente cerca de 50 a 100 milhões de casos. Na Ásia e nas Américas também vem ocorrendo o agravamento dos casos, com o aumento das formas hemorrágicas (PAHO, 1985; Gubler, 1998; WHO, 2002).

Dentre os fatores que contribuem para a ressurgência do dengue, pode-se citar o crescimento acelerado das populações, intensa circulação de pessoas entre as regiões, deficiência dos programas de controle dos vetores e o surgimento da resistência dos vetores aos inseticidas (Gubler, 1998).

1.1 Arbovírus

A palavra arbovírus é originária da expressão inglesa **arthropod-borne** acrescida da palavra vírus. Designa-se neste grupo os vírus mantidos na natureza, mediante transmissão biológica entre hospedeiros vertebrados susceptíveis e artrópodes hematófagos ou de hospedeiro artrópode a hospedeiro artrópode através da via transovariana e possivelmente da via venérea (Beaty & Marquardt, 1996). Estes vírus multiplicam-se e produzem viremia nos vertebrados, também se multiplicam nos tecidos de artrópodes e são passados a novos vertebrados susceptíveis através da picada do inseto, após um período de incubação. Este período dura de cinco a seis dias até algumas semanas, durante o qual o vírus multiplica-se nos tecidos do inseto, até atingir as glândulas salivares e, a partir desse momento, poderá ocorrer transmissão (WHO, 1985; Calisher, 1998).

O mecanismo de transmissão dos arbovírus envolve uma complexa interação do vírus, do vetor invertebrado e do hospedeiro vertebrado. A competência do vetor, que é a habilidade para tornar-se infectado e transmitir o vírus para o hospedeiro vertebrado, é determinado por múltiplos fatores, incluindo o vírus, a estrutura genética do vetor, a concentração viral no hospedeiro vertebrado infectado, a temperatura do ambiente, autogenia, as glândulas salivares, e as barreiras do estômago e outros fatores menos conhecidos (Calisher, 1998).

A região amazônica brasileira é considerada o maior reservatório de arbovírus do mundo. Cerca de 186 tipos diferentes de arbovírus já foram identificados nesta região, dos quais 157 foram isolados e descritos pela primeira vez no Brasil, 86 já foram comprovados como tipos novos para a ciência e 34 estão associados a infecções humanas na Amazônia (Travassos da Rosa *et al.*, 1986, 1998, 2001; Pinheiro *et al.*, 1998; Vasconcelos *et al.*, 2001; Tavares-Neto *et al.*, 2004). Dentre estes, muitos são transmitidos por mosquitos e constituem sérios problemas global ou regional de saúde pública, tais como os vírus do Dengue, Febre Amarela (FA), vírus da Encefalite Equina Japonesa (EEJ), vírus da Encefalite de São Luis (ESL).

Atualmente, a maioria dos arbovírus está distribuída em cinco famílias: Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Rhabdoviridae e Reoviridae. Estas famílias podem conter alguns membros que não são necessariamente arbovírus (Karabatsos, 1985; Beauty & Bishop, 1988; Travassos da Rosa *et al.*, 1998).

1.2 Família Flaviviridae

Os Flavivirus são pequenos vírus envelopados, com tamanho variando entre 40 e 50nm de diâmetro, quimicamente compostos por proteínas, carboidratos, fosfolipídios e RNA. O RNA é a estrutura genômica, possui fita simples de mais ou menos 11 kb.

Análises bioquímicas da organização e multiplicação viral demonstraram que os vírus desta família são similares em morfogênese, morfologia e estratégia de multiplicação (Westaway *et al.*, 1985; Chambers *et al.*, 1990; Barbosa, 1996).

A família Flaviviridae possui 70 membros, sendo 69 pertencentes ao gênero *Flavivirus*, que corresponde ao grupo B dos arbovírus e um *Simiam Hemorrhagic Fever*, não classificado (Karabatsos, 1985). Muitos *Flavivirus* são arbovírus e são mantidos na natureza pela transmissão de vetores artrópodes hematófagos (mosquitos ou carrapatos) para hospedeiros vertebrados (mamíferos, exceto morcegos, marsupiais ou pássaros) quando o artrópode realiza o repasto sanguíneo. As viroses podem também ser transmitidas de forma transovariana, que ocorre quando os patógenos são transmitidos aos descendentes pelos pais. É verificada em mosquitos e carrapatos. Alguns vírus apresentam especificidade de hospedeiros vertebrados (por exemplo, somente primatas), enquanto outros possuem uma variedade ampla (pássaros, mamíferos, etc.). A transmissão geralmente origina-se a partir da viremia no hospedeiro vertebrado, e a presença do vírus na secreção da glândula salivar do artrópode (Murphy *et al.*, 1995).

A ocorrência de patogenicidade nas espécies de vertebrados é elevada, contudo ainda não foi observada em artrópodes. Cerca de 30 *Flavivirus* causam doenças em humanos, variando de doença febril com ou sem irritação na pele, até quadros bastante graves, como febres hemorrágicas, encefalites ou hepatites (Murphy *et al.*, 1995).

No gênero *Flavivirus* estão incluídos muitos vírus transmissores de doenças de grande importância epidemiológica. Dentre os transmitidos por mosquitos pode-se citar da febre amarela (FA), vírus dengue (DEN), encefalomielite de St. Louis (SLE) e Rocio (ROC).

1.3 Vírus Dengue

Os vírus dengue constituem um complexo antigênico da família Flaviviridae, do gênero *Flavivirus* (Calisher *et al.*, 1989). O primeiro isolamento do vírus DENV foi realizado em 1943, por Kimura & Hotta. No entanto, por terem publicado o trabalho em uma revista (Nippon Igaku) de circulação restrita, esta informação foi pouco divulgada. Coube a Albert Sabin, em 1944, o registro oficial dos primeiros isolamentos dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 (*apud*. Vasconcelos, 1999).

Atualmente são reconhecidos quatro sorotipos imunologicamente distintos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), que ocasionam a febre do dengue, doença infecciosa não contagiosa que apresenta duas formas clínicas principais: a febre clássica do dengue (FD) e a febre hemorrágica do dengue (FHD), com ou sem choque. A infecção por um sorotipo produz imunidade permanente contra reinfecção pelo sorotipo causador da infecção, mas apenas imunidade temporária contra os outros (PAHO, 1994; Nogueira *et al.*, 2000; Guzman & Vázquez, 2002; Rigau-Pérez *et al.*, 2002).

1.3.1 Ciclo de Transmissão

Os vírus dengue são transmitidos ao homem através da picada de dípteros hematófagos do gênero *Aedes*. Nas Américas, *Aedes aegypti* é o principal e talvez único vetor, visto que *Aedes albopictus* Skuse, 1894, vetor secundário na Ásia e no Pacífico, até o momento não tem sido implicado na transmissão dos vírus dengue no continente (Gubler *et al.*, 2001; Degallier *et al.*, 2003; Lourenço-de-Oliveira *et al.*, 2003; Gratz, 2004). Estudos desenvolvidos em diferentes regiões vêm demonstrando a existência de outros vetores potenciais, como *A. albopictus* e *Aedes polynesiensis* Marks, 1951 nas Filipinas, Indonésia e Ilhas do Pacífico e *Aedes africanus* na África (Gubler, 1987, 1998; Travassos da Rosa *et al.*, 1997).

A. aegypti é o mais importante vetor do dengue e transmissor da febre amarela em áreas urbanizadas; é provavelmente originário da África (Christophers, 1960; Belkin, 1962; Cookman & Lebrun, 1986) e sua introdução nas Américas está ligada ao tráfico de escravos daquele continente (Kettle, 1992). Atualmente encontra-se dispersamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais, compreendidas principalmente entre 45° de latitude Norte e 35° de latitude Sul, e dentro das zonas isotermiais de 20° C (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994).

Trata-se de um mosquito de hábitos predominantemente sinantrópicos e antropofílicos, possuindo grande capacidade adaptativa aos criadouros artificiais com água não poluída. É essencialmente doméstico e bem adaptado às temperaturas mais elevadas e às precipitações pluviométricas abundantes. A oviposição ocorre em recipiente contendo água com certo grau de poluição e protegidos do sol, como tanques, caixas d' água, cisternas, vasilhames descartáveis e outros. Os ovos constituem-se na principal forma de resistência do *A. aegypti*, podendo permanecer viáveis por cerca de um ano. O período de vida do mosquito adulto varia de acordo com a região, em áreas temperadas vivem cerca de um mês, enquanto nas tropicais essa expectativa de vida tende à redução em aproximadamente uma ou duas semanas. O tempo transcorrido entre a eclosão do ovo e a forma adulta, em condições favoráveis varia em torno de 10 dias (Gadelha & Toda, 1985; Ministério da Saúde, 1987; Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994; Forattini, 2002).

No continente americano, os vírus dengue foram introduzidos pelas cidades, visto que o vetor tem hábitos essencialmente urbanos. A transmissão ocorre de homem a homem através da picada do *A. aegypti*. As pessoas são infectantes nos primeiros dias da doença, quando o vírus circula no sangue. O período de incubação do dengue no homem (período intrínseco) é de 3 a 15 dias, tendo um tempo médio em torno de 5 a 6 dias. O mosquito se torna infectado, quando realiza o repasto sangüíneo em indivíduos infectados que se

encontram no período de viremia. No mosquito, o período de incubação varia de 8 a 11 dias, a partir do qual se torna infectante, e assim permanece pelo resto da vida (OMS, 1987; Pontes & Ruffino-Netto, 1994; Travassos da Rosa *et al.*, 1997).

O homem é o principal hospedeiro do vírus, embora haja evidência de transmissão silvestre similar ao da febre amarela (FA) nos continentes africano e asiático, do qual participariam primatas não humanos (Rodhain, 1991). Essa hipótese foi reforçada com o isolamento de várias amostras de dengue, de mosquitos silvestres no Oeste da África (5 espécies de *Aedes* previamente incriminados no ciclo silvestre da febre amarela) e a partir de sangue de um macaco, *Erythrocebus patas* (WHO, 1986, Gubler, 1997a).

Nas Américas, ainda não foi demonstrada a ocorrência de um ciclo de manutenção silvestre para os vírus dengue. O registro da detecção de anticorpos neutralizantes de dengue em índios de uma localidade remota de Bolívia, sem a presença do *A. aegypti* não é evidencia suficiente para comprovação do ciclo silvestre (Monath, 1990; Travassos da Rosa *et al.*, 1997; Forattini, 2002).

No ciclo de transmissão do dengue, a interação do meio ambiente, do agente etiológico, da população de hospedeiros e de vetores, determinarão a dinâmica de transmissão do vírus. No entanto, há fatores associados ao hospedeiro que favorecem a circulação viral. Por exemplo, as mulheres e as crianças pequenas, que permanecem durante o período diurno em suas habitações, estão em maior contato com a população de mosquitos infectantes. Portanto, sexo, idade, condições imunológicas, condições de saúde e a profissão podem determinar uma dinâmica diferenciada de transmissão (Melo, 1994; Pontes & Ruffino-Netto, 1994; Gubler, 1998; 2004).

Outro parâmetro relevante no ciclo de transmissão são os níveis virêmicos no homem. Viremias maiores fornecem doses maiores do vírus aos mosquitos que, sobrevivendo ao período de incubação extrínseco, poderão transmiti-los. Indivíduos com

taxas virêmicas menores podem não infectar os mosquitos, mesmo que a densidade seja alta (Gubler, 1997).

Em relação ao vetor, dentre os parâmetros que podem alterar substancialmente a transmissão do dengue, podemos destacar a densidade de fêmeas, idade no momento da infecção, preferência e disponibilidade de hospedeiros, repastos sucessivos e competência vetorial (Gubler, 1997).

1.4 Histórico do Dengue

O dengue é uma doença muito antiga, os registros mais remotos relatam epidemias nas Índias Ocidentais em 1635 (Gubler, 1998) e em Jacarta e no Cairo, em 1779 (Halstead, 1980). Logo após, em 1780, surge a primeira descrição clínica dessa enfermidade, em uma epidemia na Filadélfia, nos Estados Unidos (MS/FNS, 1996).

De acordo com Henchal & Putnak (1990), no século XIX e primeiras décadas do século XX, houve um aumento de casos da doença, com registro de epidemias que atingiram todos os continentes, desde a Ásia (Zanzibar, 1823 e 1870; Calcutá, 1824, 1853, 1871 e 1905 e Hong Kong, 1901), chegando à América (Antilhas, 1827 e Estados Unidos, 1922), Pacífico (1925-26; 1942) atingindo até mesmo a Europa (Grécia, 1927-28) e o Japão (1942-45).

Na década de 50, ocorreram os primeiros casos da forma hemorrágica, diagnosticados em crianças nas Filipinas – 1953, e na Tailândia - 1958 (Gubler, 1998; OMS, 2001). Nos anos subseqüentes, por todo o Sudeste Asiático e Pacífico Sul, houve uma progressiva disseminação de casos que se tornaram epidêmicos. O aparecimento das formas hemorrágicas do dengue, causou tanto o aumento como o agravamento dos casos, pois esta forma da doença provoca um índice de mortalidade mais elevado do que a forma clássica, principalmente em crianças (WHO, 1990; Gubler, 1998).

O dengue foi registrado nas Américas há mais de 200 anos. No século passado ocorreram grandes epidemias, na região entre os portos do Caribe e Costa Atlântica dos Estados Unidos, devido a intensificação do transporte comercial entre estes países. As primeiras epidemias de dengue clássico ocorreram na região do Caribe e no Norte da América do Sul em 1963-64, 1968-69, 1972-78 (OMS, 2001).

Durante as décadas de 1950 e 1960, a Organização Pan Americana de Saúde – OPAS, desenvolveu uma campanha que erradicou o mosquito *A. aegypti* de grande parte das Américas do Sul e Central. Nesse período as epidemias ficaram restritas há algumas ilhas da região do Caribe. No entanto, a descontinuidade do Programa de Erradicação pelos Estados Unidos, Venezuela e Ilhas do Caribe e a Guiana, contribuiu para a reintrodução do vetor e a ressurgência do dengue, a partir da década de 70 (Gubler, 1997). Deste período em diante, verificou-se nas Américas o crescimento explosivo dos casos, culminando em epidemias na maioria dos países.

Diversos fatores estão envolvidos na re-emergência da doença, destacando-se: a dispersão do vetor *A. aegypti* por países da América, Ásia, África; o aumento do tráfego entre os países, devido a modernização dos meios de transporte, principalmente o aéreo; a circulação de vários sorotipos do dengue, o que favorece a ocorrência de surtos epidêmicos em intervalos menores (Gubler, 1998).

Nas décadas de 80 e 90 continuaram a ocorrer epidemias nos países da América, sendo notificados os primeiros casos de FHD, que aconteceram em Cuba, em 1981 (Kouri, 1986; OMS, 1987). Essa epidemia foi causada por uma cepa do sorotipo DENV 2 originária do sudeste da Ásia. A rápida dispersão desse sorotipo e a introdução do sorotipo DENV 3 em 1994, contribuiu para o crescimento dos casos de FHD no continente, de

maneira que em 1997, 18 países nas Américas tinham casos confirmados de febre hemorrágica – FHD (OMS, 2001; Gubler, 2002; 2004).

1.5 Dengue no Brasil

O Brasil permaneceu por mais de 20 anos sem ocorrências de dengue, desde a erradicação do *A. aegypti* do território brasileiro em 1955. A dispersão dos vírus dengue pelos países vizinhos levou a reintrodução do dengue no Brasil em 1981, com uma epidemia ocasionada pelos sorotipos 1 e 4, em Boa Vista, Estado de Roraima (Osanai *et al.*, 1983; Travassos da Rosa *et al.*, 1998). Daí o dengue reapareceu em 1986 no Estado do Rio de Janeiro, iniciando a grande epidemia causada pelo dengue sorotipo 1 (Schatzmayr *et al.*, 1986), que atingiu cerca de 95.000 casos até 1987 (Figueiredo, 1998).

Da região Sudeste o dengue sorotipo 1 expandiu-se pelo Nordeste do Brasil causando epidemias em Alagoas e no Ceará, entre 1986 e 1993 (Vasconcelos *et al.*, 1995). Também foram relatados casos de dengue nos Estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais e São Paulo (Pontes & Ruffino-Netto, 1994). Em 1990, ocorreram epidemias nos Estados do Mato Grosso do Sul (MS, 1992) e no Rio de Janeiro (Nogueira *et al.*, 1990; Cunha & Netto, 1991) e em várias cidades dos Estados de São Paulo e Minas Gerais (Figueiredo *et al.*, 1992; Serufo *et al.*, 1993).

O sorotipo 2 do dengue foi diagnosticado de casos autóctones pela primeira vez no Brasil, em 1990, no Estado do Rio de Janeiro. A introdução desse sorotipo provocou a primeira epidemia de dengue hemorrágico no país, ocorrida no mesmo Estado em 1990-1991 (Nogueira *et al.*, 1990). A seguir, esse sorotipo expandiu-se até atingir os Estado do Tocantins e Alagoas, causando febre viral indiferenciada e febre de dengue clássico (Vasconcelos *et al.*, 1993). Em 1994, o dengue sorotipo 2 foi introduzido no Estado do

Ceará, ocasionando uma grande epidemia em Fortaleza, com ocorrência de casos de síndrome do choque do dengue (SCD) e FHD (Vasconcelos *et al.*, 1995).

O maior número de casos de dengue no Brasil, ocorreu em 1998, sendo registrados cerca de 560 mil casos. Nos dois anos seguintes houve uma redução acentuada nas notificações, chegando a 238 mil em 2000 (MS, 2001). Em 2001, foi detectado o sorotipo 3 na cidade do Rio de Janeiro, e a co-circulação dos 3 sorotipos (DENV 1, DENV 2 e DENV 3), ocasionou uma grande epidemia com registro de 164.559 notificações (Passos *et al.*, 2004). A expansão do sorotipo 3 pelo país deu-se de forma muito rápida, de maneira que em 2004, três anos após o primeiro isolamento, o DENV 3 está presente em 23 estados (MS, 2004).

Embora tenha ocorrido uma redução de 78,3% no número de casos entre os anos de 2003 e 2004, a co-circulação de três sorotipos, expõe a população a grande risco de epidemias de dengue, principalmente de febre hemorrágica. Além da suscetibilidade da maior parte da população ao DENV 3, este sorotipo possui cepa mais virulenta, estando incriminado em casos mais graves da doença (Gubler *et al.*, 1979, Gubler, 1997; Guzman *et al.*, 1998; Isturiz *et al.*, 2000).

1.6 Dengue em Manaus

O dengue foi introduzido no Estado do Amazonas pela capital Manaus, em 1998 quando provocou a primeira epidemia com 13.873 casos. O mosquito transmissor *A. aegypti*, já se encontrava na cidade desde 1996 (FUNASA/CRDA, 1999). A maioria de casos diagnosticados foi ocasionado pelo sorotipo DENV 1, detectado em março; o segundo sorotipo DENV 2 foi detectado em novembro deste mesmo ano (Figueiredo *et al.*, 2002).

Nos anos seguintes, a implementação de várias medidas de controle levou à redução significativa no número de casos, ficando em torno de 6.000 em 2000. Em 2001, houve

uma elevação nas ocorrências, totalizando 18.505 casos, sendo que ocorreram 55 casos de FHD. Em 2002 foi isolado pela primeira vez o sorotipo DENV 3 do soro de pacientes de Manaus e em 2003, apesar da redução das ocorrências (3029 casos), novos casos de FHD voltaram a ocorrer (SINAM, 2004).

1.7 Estratégias de prevenção e controle do dengue

Em 1996, foi criado o Programa de Erradicação do *A. aegypti*, cujas ações estavam centradas no combate do vetor, com aplicação de inseticidas. No controle de adultos aplicavam-se inseticidas (piretróides) para reduzir a densidade vetorial objetivando impedir a circulação viral. Contra as formas imaturas, usava-se o tratamento focal, com aplicação do Temephós, um organofosforado (nome comercial abate). O contínuo aumento dos casos de dengue nas últimas décadas mostrou a pouca eficiência dessas estratégias, com a continuidade das epidemias por todo o país e a introdução de um terceiro sorotipo. Em face da gravidade da situação foram realizadas mudanças no conjunto das ações de modo a reduzir o impacto do dengue no país, dentre estas, o fortalecimento da vigilância entomológica (MS, 2002).

No Estado do Amazonas, onde o vetor *A. aegypti* foi recentemente introduzido, ainda são restritos os estudos sobre os processos adaptativos dessa espécie frente às condições climáticas e geográficas peculiares da região. Os níveis elevados de dispersão desse vetor e a incidência elevada dos casos de dengue nos últimos anos, determinaram o fortalecimento dos Programas de Controle na região. No entanto, para um planejamento eficiente é necessário o conhecimento das estratégias desenvolvidas pelo vetor, principalmente aquelas diretamente relacionadas com a manutenção dos índices vetoriais, tais como, a diversidade de criadouros utilizados, os mecanismos de dispersão que garantam a sobrevivência da espécie e a influência dos fatores climáticos das estações nos índices de densidade larvária.

No sentido de contribuir por meio da pesquisa entomológica no esclarecimento de alguns aspectos mencionados anteriormente, este trabalho abordou três tópicos, descritos em forma de capítulos, sintetizados abaixo:

Capítulo I - De 1999 a 2001 realizou-se um amplo estudo sobre os recipientes artificiais usados pelo *A. aegypti*, para conhecer o potencial de positividade e produtividade desses recipientes e avaliar a influência dos índices pluviométricos de cada estação na densidade larvária.

Capítulo II - Avaliou-se a viabilidade dos ovos de *A. aegypti* em condições de laboratório e em área externa, por meio da realização de testes com ovos mantidos em diferentes períodos e em diversos tipos de armazenamento.

Capítulo III - Por meio da técnica de RT-PCR foi realizada a detecção dos sorotipos do vírus dengue circulantes em Manaus no ano de 2003, em *A. aegypti* capturados em vários bairros da cidade, onde havia registros de casos clínicos de dengue. A transmissão transovariana do vírus foi analisada com a utilização das formas imaturas do vetor.

2. BIBLIOGRAFIA CITADA

2. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Barbosa, M.L. 1996. Dengue: revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 56(1):27-45.
- Beaty, B.J.; Bishop, D.H.L. 1988. Bunyavirus-vector interactions. *Virus. Res.*, 10:289-302.
- Beaty, B.J.; Marquardt, W.C. 1996. *The Biology of Disease Vectors*. University Press of Colorado, Colorado. 632p.
- Belkin, J.N. 1962. *The mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae)*. Berkeley, University of California Press, 2 Vols.
- Calisher, C.H. 1998. Evolutionary, ecological and Taxonomic relationships between arboviruses of Florida, U. S. A., and Brazil. *In: Travassos da Rosa, A.P.A.; Vasconcelos, P.F.C.; Travassos da Rosa, J.F.S. (Eds.). An overview of Arbovirology in Brazil and neighbouring countries*. Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará. p.32-41.
- Chambers, T.J.; Hahn, C.S.; Galler, R.; Rice, C.M. 1990. Flavivirus Genome Organization, Expression, and Replication. *Ann. Rev. Microbiol.*, 44:1-68.
- Christophers, R.S. 1960. *Aedes aegypti the Yellow Fever Mosquito*. Cambridge University Press, London. 739p.
- Consoli, R.A.G.B.; Lourenço-de-Oliveira, R. 1994. *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*. Fiocruz, Rio de Janeiro. 228p.
- Cookman, J.E.; Lebrun, R.A. 1986. *Aedes aegypti* larvae in Partsmouth, Rhode Island. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 2:96-7.
- Cunha, R.V.; Netto, G.F. 1991. Aspectos clínico-epidemiológicos do dengue hemorrágico no Município do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 24(Supl.2):123.

- Degallier, N.; Teixeira, J.M.S.; Soares, S.S.; Pereira, R.D.; Pinto, S.C.F.; Chaib, A.J.M.; F. Vasconcelos, P.F.C.; Oliveira, E. 2003. *Rev. Saude Pública*, 2003:37(3):386-7.
- Figueiredo, L.T.M.; Owa, M.A.; Carlucci, R.H. 1992. Estudos sobre o diagnóstico laboratorial e sintomas do dengue durante epidemia ocorrida na região de Ribeirão Preto, SP., Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 34(2):121-130.
- Figueiredo, L.T.M. 1998. History, present and future of Dengue Fever in Brazil. *In: Travassos da Rosa, A.P.A.; Vasconcelos, P.F.C.; Travassos da Rosa, J.F.S. (Eds.). An overview of Arbovirology in Brazil and neighbouring countries.* Instituto Evandro Chagas, Belém, PA. 154-163p.
- Figueiredo, R.M.P.; Bastus, M.S.; Lima, M.J.L.; Almeida, T.M.C.; Alecrim, W.D. 2002. Dinâmica da sorologia e isolamento viral na epidemia de dengue em Manaus (1998 – 2001). *Rev. Soc. Brás. Med. Trop.*, 35(Supl I):94.
- FUNASA/CRDA, 1999. – Fundação Nacional de Saúde, Coordenadoria Regional do Amazonas. *Relatório de Atividades-Planejamento de Febre Amarela e Dengue.* Manaus. 18p.
- Forattini, O.P. 2002. *Culicidologia Médica.* Vol.2. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 860p.
- Gadelha, D.P.; Toda, A.T. 1985. Biologia e comportamento de *Aedes aegypti*. *Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.*, 37:376-396.
- Gratz, N.G. 2004. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.*, 18:215-227.
- Gubler, D.J.; Suharyono, W.; Sumarmo; Wulur, H.; Jahja, E.; Sulianti Saroso, J. 1979. Virological surveillance for dengue haemorrhagic fever in Indonesia using the mosquito inoculation technique. *Bull. Wrld. Hlth. Org.*, 57:931-936.

- Gubler, D.J. 1987. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas. *P. R. Health Sci.*, J. 6:107-111.
- Gubler, D.J. 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: Kuno D.G.G. (Editor). *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. New York: CAB International.
- Gubler, D.J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11:480-96.
- Gubler, D.J. ; Reiter, P.; Ebi, K.L.; Yap, W.; Nasci, R.; Patz, J.A. 2001. Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases. *Environ. Health Perspectives*, 109(Suppl. 2)223-233.
- Gubler, D. J. 2002. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends Microbiol.*, 10(1):100-3.
- Gubler, D. J. 2004. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 27:319-330.
- Guzman, M.; Huelva, G.; Saenz, E.; Quiroz, E.; De los Reyes, J.; Balmaseda, A. 1998. Reintroduccion del dengue 3 en las Americas: 1994-1996. *Arch. Venez. Med. Trop.* 2:8-19.
- Guzman, M.G.; Kouri, G. 2002. Dengue: an update. *Lancet. Infect. Dis.*, 2:33-42.
- Halstead, S.B. 1980. Dengue haemorrhagic fever. A public health problem and a field for research. *Bull. Wrld. Hlth. Org.*, 58:1-21.
- Henchal, E.A.; Putnak, J.R. 1990. The dengue viruses. *Clin. Microbiol. Rev.*, 3:376-396.

- Isturiz, R.E.; Gubler, D.J.; Brea del Castillo, J. 2000. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 14:121-40.
- Jacobs, M. 2000. Dengue: emergence as a global health problem and prospects for control. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 94:7-8.
- Karabatsos, N. 1985. *International Catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of vertebrates*. American Public Health Association, San Antonio, 1041p.
- Kettle, D.S. 1992. *Medical and Veterinary Entomology*. C. A. B. Internacional, Wallingford, Oxon, UK. 658p.
- Kouri, G.; Gusman, M.S.; Bravos, S. 1986. Dengue hemorrágico en Cuba: crônica de una epidemia. *Bol. Oficina Sanit. Panam.*, 100(3):322-329.
- Kourí, G.; Guzmán, M.G.; Valdés, L.; Carbonell, I.; Rosario, D.; Vázquez, S. *et al.* 1998. Reemergence of dengue in Cuba: A 1997 epidemic in Santiago de Cuba. *Emerg. Infect. Dis.*, 4:89-92.
- Lourenço de Oliveira, R.; Vazeille, M.; de Filippis, A.M.; Failloux, A.B. 2003. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United states, and the Cayman Islands. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 69:105-114.
- Melo, N.V. 1994. Controle de endemias: Dengue e Febre Amarela. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 27(Supl. IV):740-744.
- MS - Ministério da Saúde. 1987. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. *Ações de Controle da Febre Amarela e Dengue no Brasil*. Brasília. 84p.

- MS - Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 1992. Séries históricas de agravos e doenças transmissíveis. *Informe Epidemiológico do SUS*, 1:1-25.
- MS - Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 1996. *Manual de Dengue - Vigilância Epidemiológica e Atenção ao Doente*. DEOPE, Brasília. 79p.
- MS - Ministério da Saúde, 2001. *Plano de Intensificação das Ações de Controle do Dengue*. Brasília, 231p.
- MS - Ministério da Saúde, 2002. Programa Nacional de Controle da dengue. Brasília, 32p.
- MS - Ministério da Saúde – SVS, 2004. *Dengue - Boletim da semana 16/2004*. Brasília. 13p.
- Monath, T.P. 1990. Flavivirus. In: Fields, B. N. (Editors). *Virology*. New York, Raven Press Ltda, v.1, p.763-814.
- Murphy, F.A.; Fauquet, C.M.; Bishop, D.H.L.; Ghabrial, S.A.; Jarvis, A.W.; Martelli, G.P.; Mayo, M.A.; Summers, M.D. 1995. *Virus Taxonomy*. Classification and Nomenclature of Viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology. Supplement 10. Springer Verlag, Wien-New York, 586p.
- Nogueira, R.M.R.; Miagostovich, M.P.; Lampe, E.; Schatzmayr, H.G. 1990. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85: 253.
- Nogueira, R.M.R.; Miagostovich, M.P.; Schatzmayr, H.G. 2000. Molecular epidemiology of dengue viruses in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 16(1): 205-211.
- OMS - Organização Mundial de Saúde. 1987. *Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle*. Genebra. 79p.

- OMS - Organização Mundial de Saúde, 2001. *Dengue Hemorrágica*. Diagnóstico, Tratamento, Prevenção e Controle. 2ª Ed. Santos Editora. São Paulo, 84p.
- Osanai, C.H.; Travassos da Rosa, A.P.A.; Tang, A.T.; Amaral, R.S.; Passos, A.C.; Tauil, P.L. 1983. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 25(1):53-54.
- Passos, M.N.P.; Santos, L.M.J.G.; Pereira, M.R.R.; Casali, C.G.; Fortes, B.P.M.D., *et al.*, 2004. Diferenças clínicas observadas em pacientes com dengue causadas por diferentes sorotipos na epidemia de 2001/2002, ocorrida no município do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 37(4):293-295.
- PAHO – Pan American Health Organization. 1985. Control and eradication of *Aedes aegypti*. *Resolution XXVI of the XXXI meeting of Direction Council of Pan American Health Organization*. Washington, 98p.
- PAHO – Pan American Health Organization. 1994. *Dengue and Dengue Haemorrhagic fever in the Americas: Guidelines for prevention and control*. Washington, 98p.
- Pinheiro, F.P.; Travassos da Rosa, A.P.A.; Vasconcelos, P.F.C.; 1998. An overview of Oropouche fever epidemics in Brazil and neighbour countries. *In: Instituto Evandro Chagas: 50 anos de Contribuição às Ciências Biológicas e à Medicina Tropical* (Instituto Evandro Chagas, ed.), v. 1, Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará. p. 187-192.
- Pontes, R.J.S.; Ruffino-Netto, A. 1994. A dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. *Rev. Saúde Pública*, 28(3):218-227.
- Projeto Geo Cidades: *Relatório ambiental urbano integrado: Informe GEO*. Disponível em: http://www.pmm.am.gov.br/meio_ambiente/geo_cidades.htm . Acesso em 2004.

- Rigau-Pérez, J.G.; Ayala-López, A.; Gargía-Rivera, E.J.; Hudson, S.M.; Vorndam, V.; Reiter, P.; Cano, M.P.; Clark, G.G. 2002. The reappearance of dengue-3 and a subsequent dengue-4 and dengue-1 epidemic in Puerto Rico in 1998. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67:355-362.
- Rodhain, F. 1991. The role of monkeys in the biology of dengue and yellow fever. *Compar. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 14:9-19.
- Schatzmayr, H.G.; Nogueira, R.M.R. Travassos da Rosa, P.A. 1986. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro - 1986. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81: 245-246.
- Serufo, J.C.; Souza, A.M.; Tavares, V.A.; Jammal, M.C.; Silva, J.G. 1993. Dengue in the South-eastern region of Brazil: Historical analysis and epidemiology. *Rev. Saúde Públ.*, 27(3):157-167.
- SINAM - Sistema de Informação Nacional. Disponível em: <http://www.saude.am.gov.br/saude/compulsorias.php> . Acesso em 2004.
- Soper, F.L. 1944. Yellow fever. In: Taylor BZ, (Editor). *Clinical tropical medicine*. New York City: Paul B Hoeber; p.391-420.
- Tavares-Neto, J.; Freitas-Carvalho, J.; Nunes, M.R.T.; Rocha, G.; Rodrigues, S.G.; Damasceno, E.; Darub, R.; Viana, S.; Vasconcelos, P.F.C. 2004. Pesquisa de anticorpos contra arbovírus e o vírus vacinal da febre amarela em uma amostra da população de Rio Branco, antes e três meses após a vacina 17D. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 37:1-6.
- Travassos da Rosa, A.P.A.; Shope, R.E.; Travassos da Rosa, J.F.S.; Nakauth, C.M.; Vasconcelos, P.F.C.; 1986. Aspectos virológicos dos arbovírus. In: *Instituto Evandro Chagas: 50 anos de Contribuição às Ciências Biológicas e à Medicina Tropical* (Instituto Evandro Chagas, ed.), v. 1, p. 365-373, Belém: Fundação Serviços de Saúde Pública.

- Travassos da Rosa, A.P.A.T, Rosa J.F.S.T.; Pinheiro, F.P.; Vasconcelos, P.F.C. 1997. Arboviroses. In: Leão, R.N.Q. (Coord.). *Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico*. CEJUP/Universidade do Estado do Pará: Belém, p. 208-225.
- Travassos da Rosa, A.P.A.; Travassos da Rosa, J.F.S.; Nakauth, C.; Travassos da Rosa, E.S.; Hervé, J.P.; Vasconcelos, P.F.C. 1998. The first laboratory confirmed cases of dengue fever in Brazil: vírus isolation and serological results In: Travassos da Rosa, A.P.A.; Vasconcelos, P.F.C.; Travassos da Rosa, J.F.S. (Eds.). *An overview of Arbovirology in Brazil and neighbouring countries*. Instituto Evandro Chagas, Belém, PA. p.164-167.
- Travassos da Rosa, A.P.A.; Turell, M.J.; Watts, D.M.; Powers, A.M.; Vasconcelos, P.F.C.; Jones, J.W. *et al.* 2001. Trocara vírus: a newly recognized *Alphavirus* (Togaviridae) isolated from mosquitoes in the Amazon basin. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 64: 93-97.
- Vasconcelos, P.F.C.; Travassos da Rosa, E.S.; Travassos da Rosa, J.F.S.; Freitas, R.B.; Degalier, N.; Rodrigues, S.G.; Travassos da Rosa, A.P.A. 1993. Epidemia de febre clássica de dengue causada pelo sorotipo 2 em Araguaina, Tocantins, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 35(2):141-148.
- Vasconcelos, P.F.; Menezes, D.B.; Melo, L.P.; Pessoa, E.T.F.; Rodrigues, S.G.; Rosa, E.S.T.; Timbó, M.J.; Coelho, I.C.B.; Montenegro, F.; Rosa, J.F.S.; Andrade, F.M.O.; Travassos da Rosa, A.P.A. 1995. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará State, Brazil. *Inst. Med. Trop. São Paulo*, 37(2):253-255.
- Vasconcelos, P.F.C. 1999. *Estudo de epidemias de dengue: uso e significado dos inquéritos soro-epidemiológicos transversais*. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, 224p.
- Vasconcelos, P.F.C.; Costa, Z.G.; Rosa, E.S.T.; Luna, E.; Rodrigues, S.G.; *et al.* 2001. Epidemic of jungle yellow fever in Brazil, 2000: implications of climatic alterations in disease spread. *J. Med. Virol.*, 65: 598-604.

Westaway, E.G.; Brinton, M.A.; Gaidamovich, S.Ya.; Horzinek, M.C.; Igarashi, A.; Kaariainen, L.; Lvov, D.K.; Porterfield, J.S.; Russell, P.K.; Trent, D.W. Flaviviridae. *Intervirol*, 24(4):183-92.

WHO -World Health Organization. 1985. *Arthropod borne and Rodent-borne Viral Diseases*. Technical Report Series 719. Geneva.

WHO - World Health Organization. 1986. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. *Technical Report Series*, nº. 737.

WHO - World Health Organization. 1990. Epidemiology of dengue fever dengue haemorrhagic fever. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 65(14): 104-106.

WHO - World Health Organization. 2000. Strengthening the implementation of the global strategy for dengue fever/dengue hemorrhagic fever prevention and control. *World Health Organization*, Geneva, Switzerland.

WHO - World Health Organization. 2002. *TDR strategic direction: Dengue*. Geneva, Switzerland. Disponível em: www.who.int/tdr . Acesso em: 2003.

CAPÍTULO I

CAPÍTULO I

RELAÇÃO DA POSITIVIDADE/PRODUTIVIDADE LARVÁRIA DE RECIPIENTES ARTIFICIAIS DE *Aedes aegypti* COM OS ÍNDICES PLUVIOMÉTRICOS DE MANAUS-AMAZONAS.

1. INTRODUÇÃO

A expansão global do *A. aegypti* facilitou a dispersão do vírus dengue, tornando essa doença um dos principais problemas de saúde pública da atualidade (Tauil, 2002; Isturiz *et al.*, 2000; Gubler, 2004a). Fatores demográficos e sociais contribuem para a manutenção dessa doença em níveis epidêmicos, podendo-se destacar o crescimento acelerado das populações em áreas urbanas, a disponibilidade de recipientes descartáveis da sociedade moderna e a ineficiência dos sistemas de recolhimento e tratamento do lixo (Gubler, 2004b).

Os recipientes artificiais ao serem descartados e ficarem expostos no ambiente, ou serem utilizados como depósitos de armazenamento de água tornam-se potenciais criadouros do mosquito *A. aegypti*. Esse mosquito tornou-se domesticado e adaptado ao ambiente humano, e suas fêmeas são capazes de realizar a postura em qualquer tipo de recipiente artificial em que possa ocorrer o desenvolvimento dos ovos (Christophers, 1960; Gadelha & Toda, 1985; Gubler, 1998; Forattini, 2002).

Trabalhos realizados em diferentes países mostram a diversidade de criadouros utilizados pelo mosquito. Em Cingapura, na década de 60, o principal criadouro era armadilha de formigas (Chan *et al.*, 1971), em Porto Rico, eram bebedouros de animais (Moore *et al.*, 1978). Os recipientes utilizados para armazenamento de água destacam-se

como criadouros preferenciais do mosquito, pois têm uma variação muito grande tanto de tipos de material (ferro, borracha, alumínio e outros) como de tamanho e são encontrados com grande frequência nas mais diversas regiões (Chan, 1985; Foo *et al.*, 1985; Schultz, 1993; Chadee & Rahaman, 1999; Carneiro *et al.*, 2000; Pontes *et al.*, 2000; Pinheiro & Tadei, 2002).

Em Manaus, o *A. aegypti* encontrou as condições adequadas para sua dispersão, pois nas últimas décadas a cidade sofreu um intenso processo de crescimento populacional. A população de Manaus saltou de 300 mil habitantes, na década de 70 para mais de 1,5 milhões na virada do século XXI. Esse crescimento desordenado provocou a redução da qualidade de vida da maior parte da população com reflexos diretos nas condições de saúde, higiene e moradia. As condições geográficas também são favoráveis, já que a cidade é cortada por um complexo sistema hidrográfico, constituído por quatro bacias. Destas, duas estão situadas integralmente dentro da cidade – do igarapé de São Raimundo e do igarapé do Educandos, os quais são formados por vários igarapés, que nos últimos anos, vêm sendo invadidos e poluídos. As moradias, a maioria, em forma de palafitas, estão localizadas sobre espelhos d'água ou em áreas sujeitas à inundações. Essa população, desassistida das mínimas condições de saneamento, lança todo o lixo e detritos nos corpos d'água, agravando ainda mais o problema ambiental (Projeto Geo Cidades, 2002).

Nesse contexto, em 1996 foi registrada a presença do *A. aegypti* na cidade de Manaus e no Estado do Amazonas (FUNASA/ Coordenadoria Regional do Amazonas - CRDA, 1999). Todas as condições favoreceram a dispersão do mosquito, de maneira que nos dois anos iniciais os níveis de infestação atingiram índices muito elevados - infestação Predial com valores entre 2,0 e 6,0% e Índice de Breteau entre 1,80 e 8,86%, o que propiciou a circulação do vírus dengue e a ocorrência de epidemias de grande

porte como a de 1998 com 13.873 casos e de 2001 com 18.505 casos (SINAM-AM, 2004).

Outro fator que favoreceu a manutenção do vetor na região, são os fatores climáticos com características essencialmente tropicais, e a existência de uma estação chuvosa que se estende por até oito meses, na qual se registra índices pluviométricos elevados.

Há vasta literatura sobre a influência dos fatores climáticos na incidência de mosquitos, com ênfase para a pluviometria. Bates (1949), afirma que a pluviometria é o principal fator relacionado com a distribuição dos mosquitos nas regiões tropicais. O autor acrescentou que em regiões temperadas, o fator preponderante são as estações do ano.

No Brasil, vários autores demonstraram a influência climática na fauna de Culicidae, também encontraram a maior densidade de mosquitos nos períodos chuvosos (Forattini *et al.*, 1968; Neves, 1972, Guimarães & Arlé, 1984; Guimarães *et al.*, 1991, 1994 a, b; Lopes *et al.*, 1985, Lopes, 1996; 1997).

As medidas de densidade larvária de *A. aegypti* em relação às condições climáticas tornam-se mais difíceis de serem obtidas devido esse mosquito apresentar hábitos urbanos e pela grande quantidade de criadouros utilizados. No entanto, vários estudos vêm sendo realizados e os resultados obtidos mostraram que de acordo com o local, as características climáticas e também do tipo e localização dos recipientes, pode-se obter diferentes padrões de ocorrência. Em algumas regiões foi possível verificar o aumento da densidade de mosquitos na estação de maior pluviometria (Ho *et al.*, 1971; Moore *et al.*, 1978; Bang *et al.*, 1981; Uribe, 1983), enquanto em outras, esse padrão mostra-se diferenciado, com picos populacionais mesmo em períodos secos (Marquetti *et al.*, 1995).

Além da diversidade de recipientes, a manipulação destes pelo homem permite alterações rápidas que influem nas avaliações. Isso foi verificado em áreas com problemas de abastecimento público de água, em que os moradores tinham o hábito de manter recipientes com água armazenada para o consumo doméstico. Como estes recipientes sofrem ação direta do homem, ocorre pouca influência da chuva na produção de larvas (Ho *et al.*, 1971). Os vasos de plantas mantidos no interior das residências, seguem o mesmo padrão de comportamento.

Atualmente, as intensas alterações climáticas, provocam mudanças bruscas que interferem nos valores de temperatura e pluviometria, que por sua vez, causam intensas modificações nos níveis populacionais dos insetos. Moore *et al.* (1978) consideram que a influência dos efeitos climáticos sobre a abundância de insetos só é determinada após uma análise de pelo menos 5 a 10 anos de observação. Coletas realizadas em períodos menores, permitem o acompanhamento dos índices, mas se sabe que estes não são padrões definitivos.

No Brasil já foram realizados inúmeros trabalhos avaliando os índices vetoriais e os fatores climáticos (Pereira, 1996; Rebêlo *et al.*, 1999; Glasser & Gomes, 2002; Rosa-Freitas *et al.*, 2003; Gonçalves-Neto & Rebêlo, 2004). No Estado do Amazonas, onde a infestação pelo *A. aegypti* ocorreu em 1996 (FUNASA – CRA, 1999), essa relação ainda é pouco estudada. Dados de Pinheiro & Tadei, (2002) obtidos no estudo sobre os recipientes preferenciais do *A. aegypti* em Manaus e a comparação dos índices larvários entre os meses das estações seca e chuvosa, mostrou valores mais elevados para a última. No entanto, diante da complexidade do tema, torna-se necessário o aprofundamento desse estudo.

Com esse propósito, no presente trabalho, deu-se continuidade à pesquisa iniciada em 1999 (Pinheiro, 2000; Pinheiro & Tadei, 2002), cujas coletas se estenderam

até 2001, dando ênfase às medidas dos índices larvários nos recipientes - positividade e produtividade médias e, como esses fatores sofrem influência da pluviometria da região.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar a positividade e a produtividade larvária dos recipientes artificiais de *A. aegypti* em relação aos índices pluviométricos de Manaus-AM no período de 1999 a 2001.

2.2 ESPECÍFICOS

2.2.1 Calcular o índice Predial e o índice de Breteau para comparação dos índices de infestação larvária nos três anos de estudo;

2.2.2 Avaliar as médias de positividade e produtividade dos recipientes artificiais de *A. aegypti* com os índices pluviométricos das estações chuvosa e seca;

2.2.3 Correlacionar os casos de dengue do período de 1999 a 2001 com os índices pluviométricos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

Manaus está localizada no centro geográfico da Amazônia (3° 08' 07" de latitude sul e a 60° 01' 34" de longitude oeste), sua superfície é de 11.458,5 Km², sendo apenas 3,3% desse total correspondente à área urbana. Atualmente, Manaus apresenta uma população total de 1.403.796 habitantes, com uma concentração de 99,35% na área urbana – 1.394.724 habitantes (IBGE, 2000).

O clima classificado como Equatorial Quente e Úmido, enquadrado no tipo "Afi" da classificação de Köppen (1984). Segundo esta classificação, a zona climática "A" corresponde a Clima Tropical, praticamente sem inverno e com temperatura média para o mês mais frio sempre superior a 18°C. O tipo climático "f" indica a ocorrência de chuvas durante o ano, com precipitação superior a 60mm no mês mais seco, que em Manaus corresponde a setembro. A variedade climática "i" (indica isotermia), já que não há grande diferenciação entre verão e inverno, com variações anuais de temperatura média que não atingem 5°C (Aguiar, 1995).

A região onde se insere a cidade apresenta apenas duas estações, ao longo do ano:

Chuvosa (Inverno) – entre os meses de novembro e junho, período em que a temperatura é mais amena; Seca (Verão) – de julho a outubro, período de sol intenso e temperaturas elevadas, em torno de 38°C, atingindo cerca de 40°C, no mês de setembro, o mais quente do ano.

O período de maior precipitação vai de maio a junho, sendo março o mês de maior precipitação, quando chove quase diariamente e ocorrem as cheias do rio Negro. O período mais seco, de vazante, corresponde aos meses de outubro a dezembro.

O clima representa a síntese dos parâmetros médios de toda a região (Aguiar, 1995). Segundo as “Normais Meteorológicas” (dados do Instituto Nacional de Meteorologia - INMET de 1961/1990) são os seguintes os dados relativos à cidade de Manaus:

Temperatura:

Média Compensada: 26,7°C

Média das Máximas: 31,5°C

Média das Mínimas: 23,2°C

Umidade Relativa:

Média: 83%

Precipitação:

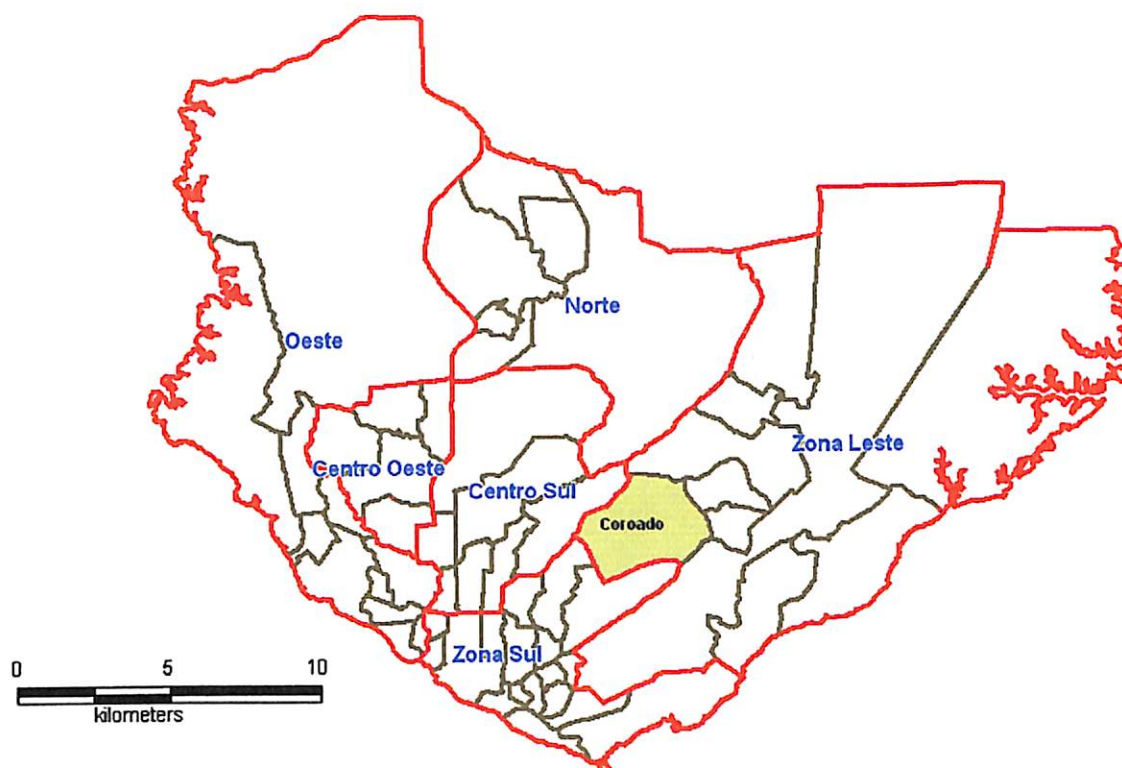
Total acumulado (média anual): 2.291,8mm

Dias de chuva (média anual): 190 dias

A área urbana de Manaus abrange quatro bacias hidrográficas, todas contribuintes da grande bacia do rio Negro. Duas bacias encontram-se integralmente dentro da cidade – do igarapé de São Raimundo e do igarapé do Educandos – e duas parcialmente inseridas na malha urbana – do igarapé do Tarumã-Açu e do rio Puraquequara.

3.2 Divisão Geográfica de Manaus

A cidade de Manaus possui 56 bairros que estão distribuídos por seis zonas geográficas (Figura 1).



Fonte: DUMA / IBAM, 2002 sobre base cartográfica da Prefeitura Municipal de Manaus

Figura 1. Mapa da cidade de Manaus-AM por zonas e bairros.

As coletas para o levantamento dos índices larvários de *A. aegypti* nos recipientes artificiais foram realizadas no bairro Coroado, no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2001.

O bairro está situado na zona Leste da cidade e surgiu de uma invasão nas décadas de 60-70 e, atualmente encontra-se quase totalmente urbanizado. Possui área de 114.221Km² e uma população de 39.123 habitantes. Este bairro é relativamente isolado, pois uma grande parte faz limite com a mata da Universidade Federal do Amazonas, à esquerda (Figura 2 A e B). O bairro possui uma estrutura irregular, com quarteirões sem limites definidos e as residências apresentam terrenos pequenos e áreas de desníveis com vegetação, caracterizando grandes depressões (Figura 3). Há uma grande diversidade de construções, desde barracos de madeira, pequenas casas de alvenarias até grandes construções com mais de um andar (Figura 4).

**A****B**

Figura 2 – A. Limite do bairro Coroado com a Mata da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). **B.** Ao fundo a mata da UFAM. Manaus-AM.



Figura 3. Área de depressão característica de alguns locais do bairro Coroado, Manaus-AM.



Figura 4. Diversidade de imóveis encontrados no bairro Coroado – Barracos de madeira e construções de alvenaria. Manaus-AM.

3.3 Amostragem

O trabalho de campo foi realizado pelos Agentes de Controle de Endemias que já atuavam no Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) e foram cedidos pela Secretaria de Saúde do Estado do Amazonas, auxiliados por estagiários e Técnicos do Laboratório de Malária e Dengue do INPA. A metodologia das coletas foi a mesma utilizada no trabalho de rotina dos agentes como descrito no Roteiro para Capacitação de Agentes do Programa de Agentes Comunitários de Saúde – PACS e do Programa de Saúde da Família - PSF nas Ações de Controle da Dengue (MS, 1994, 2002).

A coleta dos dados foi realizada por meio de visitas aos domicílios do bairro para verificar a presença de locais que possam ser usados como criadouros pelo *A. aegypti* (Figuras 5 A e B). As larvas e pupas de 3º e 4º estágio encontradas nos recipientes eram recolhidas na sua totalidade, utilizando-se pipetas plásticas e lanternas para facilitar a visualização dos exemplares (Figura 6). Quando necessário, esgotava-se a água do recipiente em bacias plásticas para recolher as larvas, que eram armazenadas em tubos plásticos contendo álcool a 70% e levadas ao Laboratório de Malária e Dengue para contagem e identificação.

Neste trabalho os recipientes foram classificados em 8 grupos distintos, também adotado por Pereira (1996), com acréscimo do grupo outros. Esta classificação permite incluir recipientes semelhantes que possibilita inferir aspectos da utilização doméstica, tamanho e persistência no ambiente. Os agrupamentos apresentam as seguintes características:

Grupo 1 – Vasos – composto por recipientes utilizados para a manutenção de plantas ornamentais. Exemplos: vasos, vasilhas, pratos de vasos ou xaxins, etc.

Grupo 2 - Frascos – composto por recipientes de natureza diversa. Geralmente sem utilidade específica – na maioria das vezes são de pequeno porte e fácil remoção.

Exemplos: frascos, plásticos, latas, potes, copos, pedaços de peças e brinquedos, objetos usados para cobertura de materiais, etc.

Grupo 3 – **Pneus** – composto por pneus, exceto artefatos de pneus que apresentam utilidade específica, por exemplo: vaso de planta, bebedouro de animais, balanço, etc.

Grupo 4 – **Garrafas** – composto por garrafas, geralmente aguardam utilização.

Grupo 5 – **Armazenamento** – composto por recipientes que intencionalmente são utilizados para armazenar água. Exemplo: tambor, barril, galão, garrafões, caixa d'água, etc.

Grupo 6 – **Bebedouros** - composto por recipientes que são abastecidos com água para uso por animais, como cães, gatos, aves, etc.

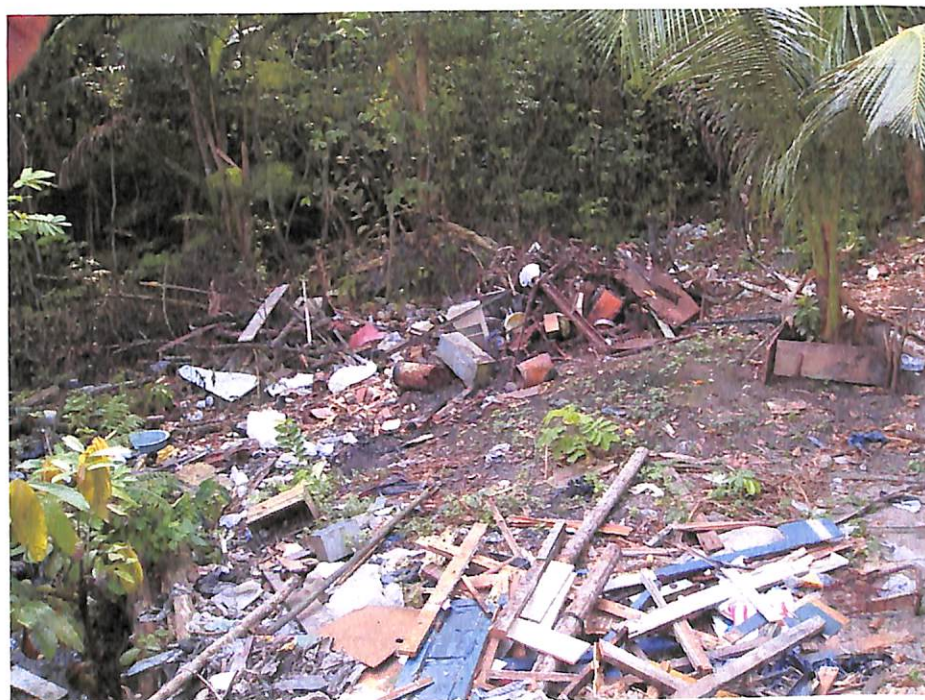
Grupo 7 – **Fixos** – composto por recipientes que fazem parte das edificações. Exemplos: piscinas, ralos, calhas, caixa de descarga, fontes ornamentais, etc.

Grupo 8 – **Peças e Materiais** – composto por materiais de construção e peças de carros e outras máquinas. Geralmente aguardam utilização ou são de difícil remoção.

Grupo 9 – **Outros** – constituído por recipientes variados como partes de eletrodomésticos, caco de vidro em muro, cascas de frutas, vasilha com animais de casco, aparador de churrasqueira etc.



A



B

Figura 5 - A. Lixo com recipientes potenciais em área externa em residência do bairro Coroado e **B.** Quintal de residência do bairro Coroado com grande acúmulo de lixo. Manaus-AM.



Figura 6. Coleta das larvas de *A. aegypti* nos recipientes no bairro Coroado, Manaus-AM.

Como um dos objetivos desse trabalho foi verificar as médias de positividade e produtividade nas estações chuvosa e seca, foram obtidos os índices pluviométricos dos três anos de estudo (Figura 7).

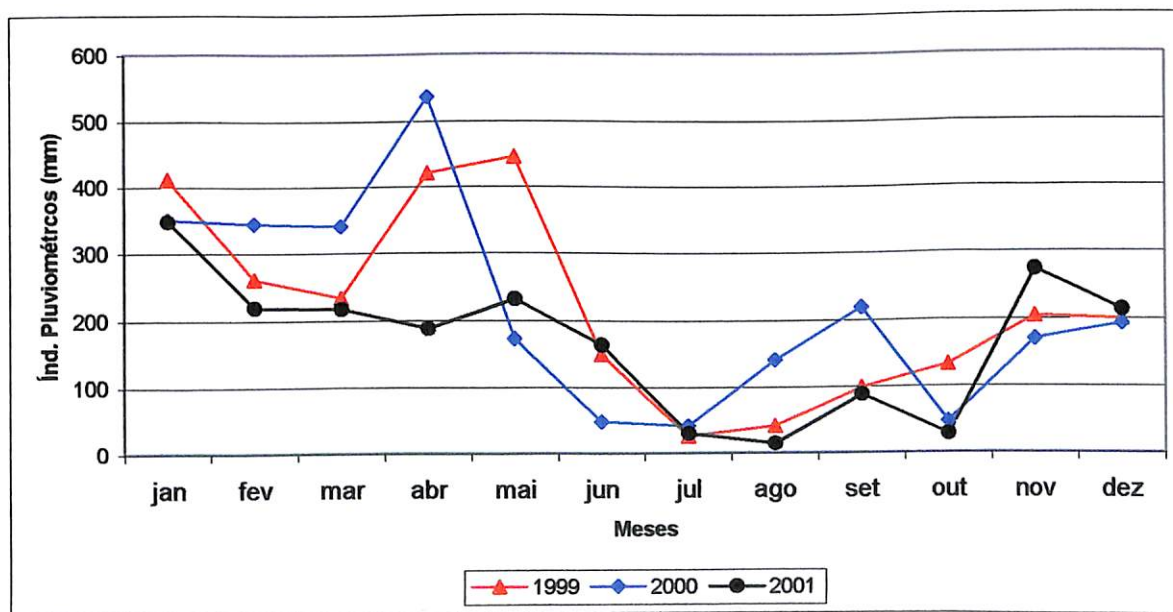


Figura 7. Índices pluviométricos da cidade de Manaus - AM., - 1999 a 2001. Fonte: INMET-AM.

3.4 Análise dos resultados

Os dados foram armazenados em planilhas do Programa Excel, versões 1997 e 2000 e as análises estatísticas realizadas nos softwares: SAS versão 6.11 - 1 e 2, (Statistical Analysis Systems, 1992), STATISTICA 6.0 e Minitab 12.1.

Utilizaram-se análises descritivas para obtenção dos índices larvários comparativos nos três anos de estudo, para recipientes com água e valores de positividade e produtividade. Neste trabalho a positividade foi definida como a quantidade de recipientes encontrados com larvas e/ou pupas divididas pelo total de recipientes com água. Produtividade significa a quantidade de larvas e/ou pupas divididas pelo número de recipientes positivos.

Medidas descritivas usadas:

Média aritmética

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Variância amostral

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

Erro padrão amostral

$$\hat{E}P(\bar{X}) = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Utilizou-se também o índice de Breteau (IB) e o índice Predial (IP), medidas comumente usadas para calcular os níveis de infestação usando-se as formas larvárias (WHO, 1972).

$$IB = \frac{\text{Depósitos positivos} \times 100 \text{ imóveis}}{\text{Imóveis inspecionados}}$$

$$IP = \frac{\text{Nº de recipientes positivos} \times 100 \text{ imóveis}}{\text{Nº de recipientes c/água inspecionados}}$$

Aplicou-se a estatística inferencial para fazer afirmações sobre os parâmetros do modelo com base na evidência amostral. Para tanto, primeiramente, foram feitos testes de normalidade sobre as variáveis – positividade e produtividade. Visto que as mesmas não apresentaram um comportamento de normalidade, utilizou-se a transformação por Box-Cox (1964).

O modelo utilizado para explicar o efeito dos fatores no período de estudo é definido como:

$$y_{ijkl} = \mu_{...} + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

τ_i parâmetro que representa o efeito do i-ésimo nível do fator ano, com $i = 1$ até 3.

β_j parâmetro que representa o efeito do j-ésimo nível do fator meses, com $j = 1, 2, \dots, 12$

γ_k parâmetro que representa o efeito do k-ésimo nível do fator grupos, com $k = 1, 2, \dots, 7$

$(\tau\beta)_{ij}$ parâmetro que indica a influência da interação entre os fatores ano e meses

$(\tau\gamma)_{ik}$ parâmetro que indica a influência da interação entre os fatores ano e grupos

$(\beta\gamma)_{jk}$ parâmetro que indica a influência da interação entre os fatores meses e grupos.

$(\tau\beta\gamma)_{ijk}$ parâmetro que indica a influência da interação entre os fatores ano, meses e grupos.

Realizou-se uma análise exploratória dos dados, utilizando a técnica Análise de Componentes Principais (ACP), para verificar a contribuição de cada variável no modelo. Duas variáveis – grupos de recipientes garrafas e bebedouros – contribuíram menos de 2% no modelo, sendo eliminadas. Segundo Jolliffe, pode-se eliminar as componentes principais que apresentam uma proporção pequena da variância.

Analisaram-se os fatores anos, meses e grupos e as interações entre eles - anos/meses, anos/grupos, meses/grupos – por meio de um arranjo fatorial do tipo $2*7*12$. Foram estabelecidas as seguintes hipóteses sobre o modelo:

Hipóteses

Ho: todos $\tau_i = 0$

H1: Existe pelo menos um $\tau_i \neq 0$

Ho: todos $\beta_j = 0$

H1: Existe pelo menos um $\beta_j \neq 0$

Ho: todos $\gamma_k = 0$

H1: Existe pelo menos um $\gamma_k \neq 0$

Ho: todos $(\tau\beta)_{ij} = 0$

H1: Existe pelo menos um $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Ho: todos $(\tau\gamma)_{ik} = 0$

H1: Existe pelo menos um $(\tau\gamma)_{ik} \neq 0$

Ho: todos $(\beta\gamma)_{jk} = 0$

H1: Existe pelo menos um $(\beta\gamma)_{jk} \neq 0$

Ho: todos $(\tau\beta\gamma)_{ijk} = 0$

H1: Existe pelo menos um $(\tau\beta\gamma)_{ijk} \neq 0$

Para as hipóteses acima se têm as seguintes estatísticas do teste:

Deve-se rejeitar H_0 se α (5%) fixado for menor do que a probabilidade de significância (p-valor). Caso H_0 seja rejeitado, devem-se realizar testes de comparações múltiplas de médias para verificar qual ou quais médias diferem entre si. Utilizou-se o teste de Tukey para as análises de comparações múltiplas (Montgomery, 1991).

Também foi realizado teste de correlação entre os índices pluviométricos e as médias de positividade, de produtividade e para os casos de dengue, dos anos de estudo.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

Realizaram-se coletas para análise dos índices larvários de *A. aegypti* nos recipientes artificiais no bairro Coroado nos anos de 1999 a 2001. A síntese desses dados está demonstrada na Tabela 1. Foram visitados no total 32.161 imóveis, dos quais 2.318 (7,2 %) foram positivos. O maior valor de positividade – 836 (7,8%) foi encontrado no ano 2000 e o menor – 613 (6,4%) em 1999. Do total de 152.068 recipientes com água, registraram-se 2.969 (2,0%) contendo formas imaturas (positivos), registrando-se o maior percentual em 2000 (2,5%). Coletou-se um total de 85.472 imaturos de *A. aegypti*, registrando-se o maior percentual (35,7%) no ano de 1999.

Tabela 1. Quantificação dos tópicos analisados nas coletas de *A. aegypti* realizadas no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

	1999	2000	2001	Total
Imóveis Inspeccionados	9.649	10.638	11.874	32.161
Imóveis Positivos	613 (6,4)	836 (7,8)	869 (7,3)	2.318 (7,2)
Total de recipientes com água	36.392	42.294	73.382	152.068
Recipientes positivos	772 (2,1)	1.070 (2,5)	1.127 (1,5)	2.969 (2,0)
Total de espécimes coletados	30.546 (35,7)	28.822 (33,7)	26.104 (30,5)	85.472
Nº de larvas / imóveis	3,16	2,71	2,20	
Índice Predial	6.35	7.86	7.32	-
Índice de Breteau	8.0	10.0	9.7	-
Nº rec. c/água-imóvel	3,8	3,9	6,2	-
Nº rec. posit/imóv. Posit.	1,3	1,3	1,3	-
Ind. Pluviométrico	4.619.3	4.599.6	4.017.8	-

() = Percentual rec = recipientes posit = positividade imóv. = imóvel Ind = Índice

Foram realizados os cálculos de vários índices usados nos programas de controle - índice de Breteau, índice predial, índice de recipientes e a obtenção das médias de recipientes com água e recipientes positivos por imóvel.

Os resultados apontaram que o maior valor do índice predial (7,86%) foi registrado em 2000 (2,5%) e o menor (6,35%) em 1999. O mesmo ocorreu com o índice de Breteau cujo maior valor (10,0%) foi registrado em 2000 e o menor em 1999 (8,0%). Pode-se observar ainda que em 2001 registrou-se a maior média de recipientes com água por imóvel (6,2%), sendo este valor quase o dobro da média observada nos anos anteriores (3,8% e 3,9%, respectivamente). A média de recipientes por imóveis positivos - 1,3%, foi igual nos três anos de estudo. A observação das médias dos recipientes pesquisados nos três anos foi elevada e não foram verificadas grandes variações mensais. Os valores ficaram entre 4,0 e 5,5, sem registrar padrão de sazonalidade (Figura 8).

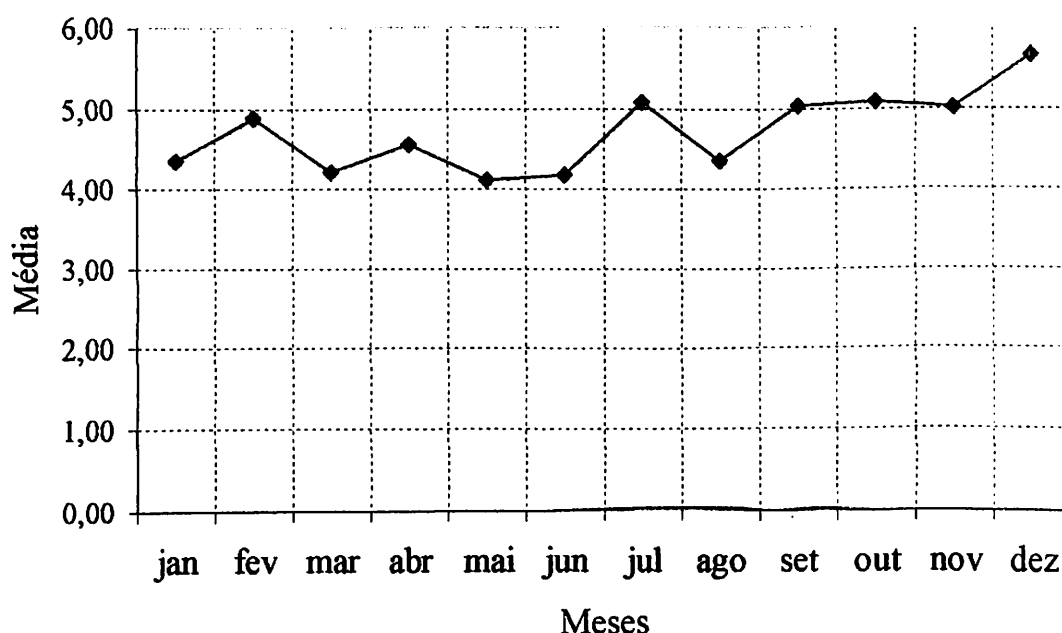


Figura 8. Médias mensais de recipientes pesquisados no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Com relação aos grupos de recipientes pesquisados (Figura 9), frascos e armazenamento apresentaram maiores médias em 2001 - 1,22 e 1,26, respectivamente e pneus, a menor - 0,05. Os grupos peças e materiais, outros e vasos tiveram os valores intermediários, oscilando entre 0,16 e 0,42.

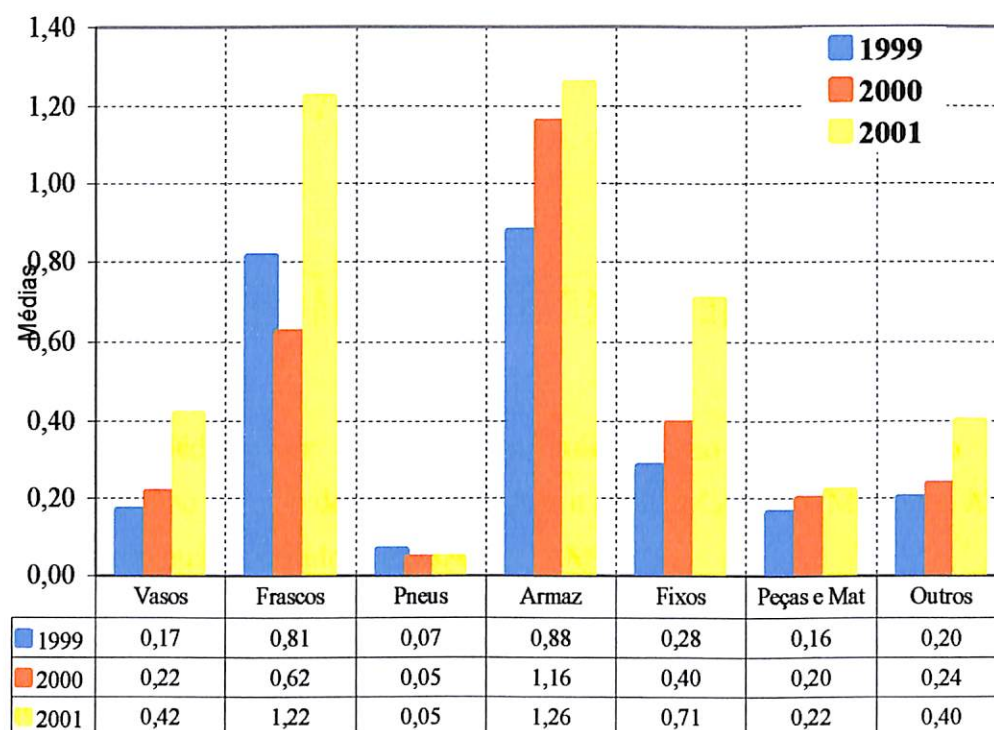


Figura 9. Médias observadas por imóvel dos recipientes pesquisados por grupos no período de jan/99 a dez/01, no bairro Coroadó (Manaus-AM).

A análise entre os recipientes pesquisados e os índices pluviométricos pelo teste de Spearman não mostrou correlação entre esses fatores ($r = -0,27$ e $p > 0,102$) (Figura 10). A visualização dos dados mensalmente durante os três anos mostra que ocorreram elevações nas médias mesmo no período seco, o que indica outros fatores favorecendo a quantidade de recipientes com água.

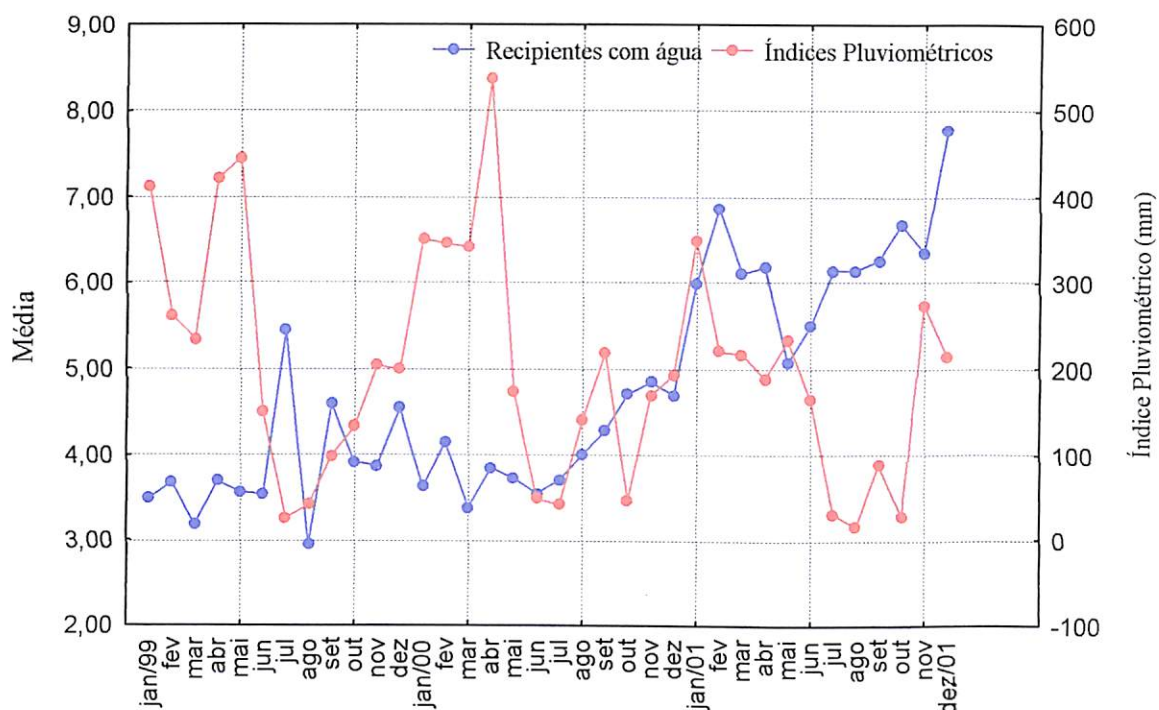


Figura 10. Médias dos recipientes pesquisados no bairro Coroadó e índices pluviométricos no período de jan/99 a dez/01, no bairro Coroadó (Manaus – AM).

Dados pluviométricos cedidos pelo INMET/AM.

Os valores de pluviometria dos três anos mostraram uma redução nos índices pluviométricos de 1999 (4.619,3 mm) a 2001 (4.017,8 mm). Na Figura 11 pode ser observada a tendência de queda nesses índices a cada ano.

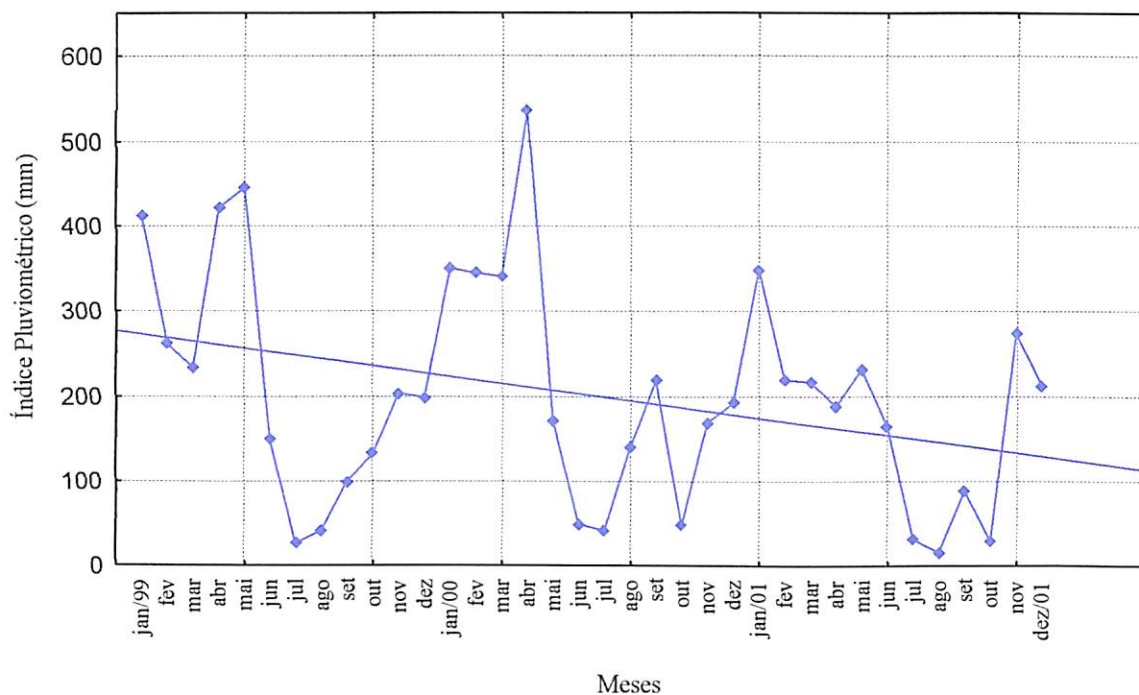


Figura 11. Série temporal dos índices pluviométricos no período de jan/99 a dez/01 em Manaus-AM. Dados cedidos pelo INMET/AM

4.1 Análise da Positividade

Em relação à positividade, a análise de variância (Tabela 2) demonstrou que todos os fatores individuais (anos, meses e recipientes) foram significativos com os valores de F para anos, para meses e recipientes. As análises das interações também foram significativas com os fatores anos/meses, anos/grupos e meses/recipientes.

Tabela 2. Análise de Variância (ANOVA) da positividade para os fatores individuais (Anos, Meses e Grupos) e suas interações.

Fatores	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Teste F	P
Anos	2	0,0238	19,76	0,00001*
Meses	11	0,0087	7,24	0,00001*
Grupos	6	0,0695	57,63	0,00001*
Anos / Meses	22	0,0025	2,06	0,007*
Anos / Grupos	12	0,0064	5,29	0,0001*
Meses / Grupos	66	0,0018	1,47	0,036*

*- significativo

Os resultados dos testes de Tukey são mostrados em forma de tabelas (em Anexo), com as médias originais e na forma gráfica, com os valores transformados por Box-Cox. Considerando-se o fator positividade em cada ano (Anexo 2), pode-se observar que 2001 apresentou a menor média - 0,030, sendo significativamente diferente de 1999 e 2000 que tiveram valores maiores - 0,041 e 0,044, respectivamente. Esta análise demonstrou uma redução significativa na positividade em 2001 em relação aos dois primeiros anos, conforme pode ser visualizado na Figura 12.

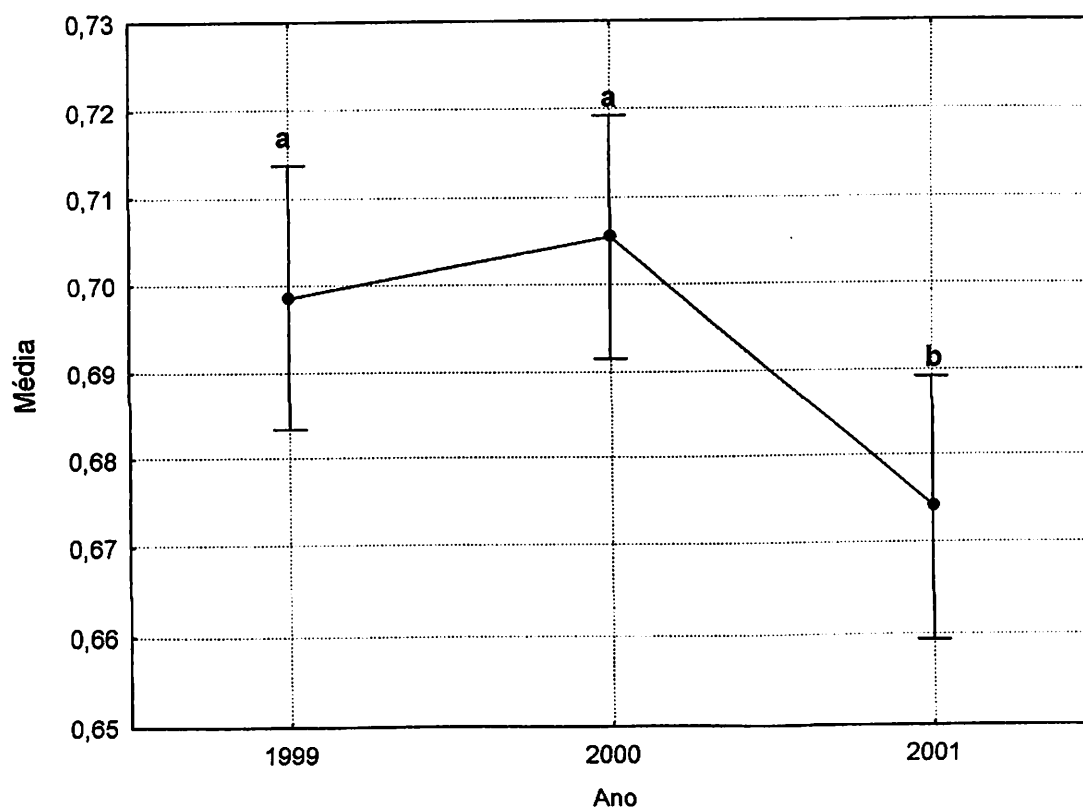


Figura 12. Médias da positividade anual dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 1.

A análise da positividade mensal nos três anos (Figura 13 e Anexo 3) evidenciou a formação de dois grupos que apresentaram diferenças significativas. O grupo que apresentou as maiores médias foi formado pelos meses de janeiro e fevereiro, com respectivas médias de 0,055 e 0,047, enquanto o de menor valor foi formado por agosto - 0,025, julho - 0,027, setembro - 0,029, novembro - 0,033, junho - 0,036, maio - 0,037, outubro - 0,037. Formou-se um terceiro grupo, com médias intermediárias constituído pelos meses de março, abril e dezembro (0,045, 0,044 e 0,042, respectivamente).

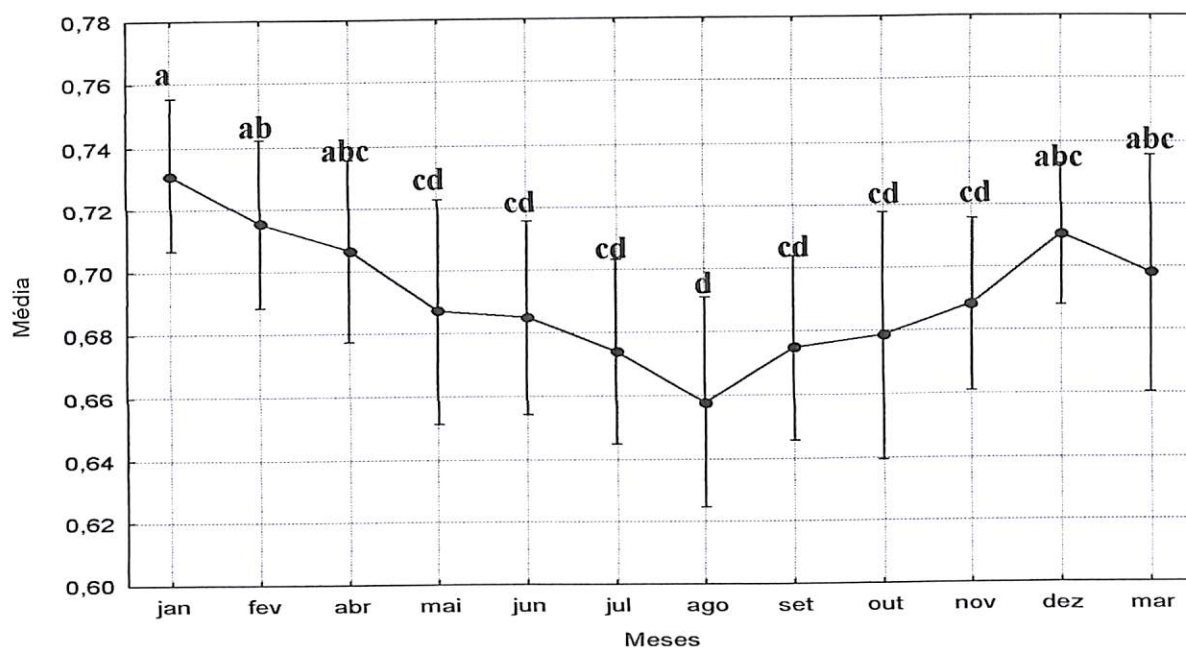


Figura 13. Médias da positividade mensal dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 3.

A análise entre a positividade e os índices pluviométricos mostrou a existência de correlação entre esses fatores apresentando os valores de $r = 0,52$ e $P = 0,001$ (Figura 14).

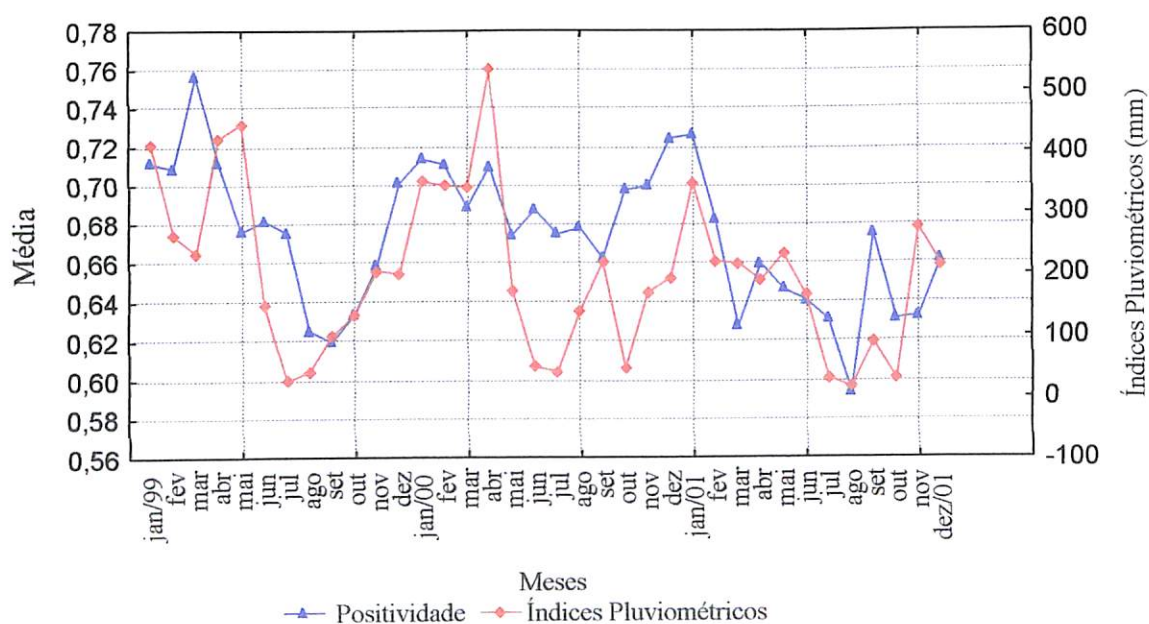


Figura 14. Médias de positividade dos recipientes no bairro Coroado e índices pluviométricos de Manaus no período de jan/99 a dez/01. Dados pluviométricos cedidos pelo INMET/AM.

Na Figura 15, pode-se observar os resultados da positividade dos grupos de recipientes no período de estudo. O Anexo 4 apresenta as médias que reuniram os recipientes em três agrupamentos com diferenças significativas. O grupo formado por pneus e peças e materiais tiveram as maiores médias (0,081 e 0,066) enquanto fixos apresentaram menor positividade - 0,011. O grupo formado por vasos, frascos, armazenamento e outros apresentaram médias intermediárias que variaram de 0,029 até 0,032.

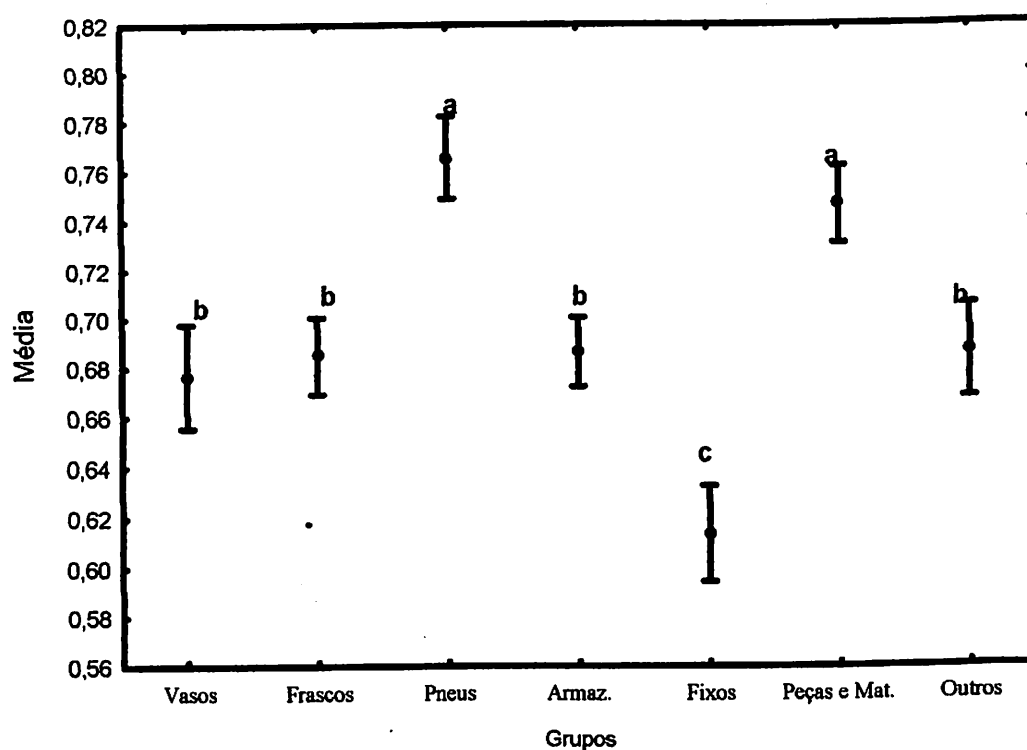


Figura 15. Médias da positividade dos recipientes por grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 4.

Devido ao grande número de fatores de cada variável analisada, optou-se por apresentar os resultados referentes às interações – anos/meses, anos/grupos e meses/recipientes de duas formas: 1 - Tabelas descritivas com dados originais da

positividade; 2 - Gráficos com os valores transformados em Box-Cox, facilitando a visualização dos resultados.

No Anexo 5 estão os dados referentes às médias, desvio-padrão e intervalos de confiança da interação anos/meses. Na Figura 16 é possível observar que os meses de janeiro e fevereiro apresentaram as maiores médias de positividade nos três anos, destacando-se janeiro como o mês que registrou a menor variação nas médias nos três anos de estudo (0,054, 0,059 e 0,053, respectivamente). Constatou-se ainda, que os meses de julho, agosto e setembro tiveram as menores médias, sendo que em agosto de 1999 e 2001 ocorreram os valores mais baixos - 0,016 e 0,014.

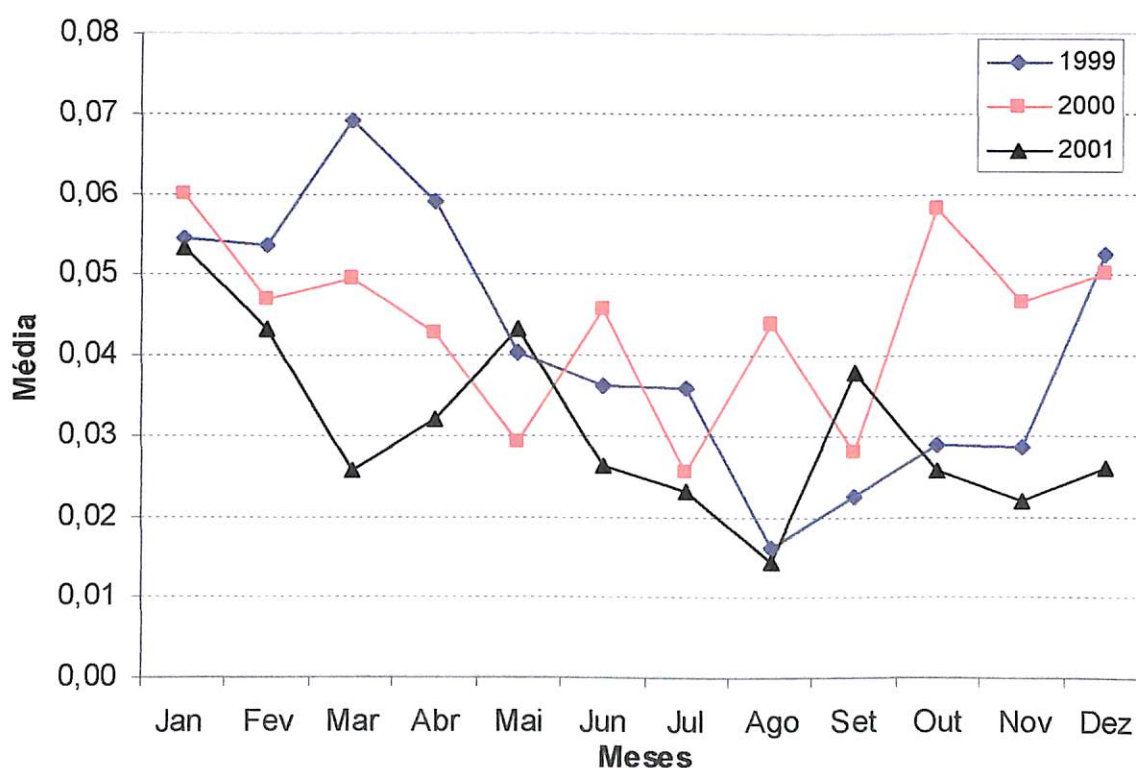


Figura 16. Médias da interação da positividade dos recipientes por ano/meses no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 5.

No Anexo 6 estão os valores da média, desvio-padrão e intervalos de confiança da interação anos/grupos e na Figura 17 a representação gráfica; pode-se observar que o grupo pneus apresentou maior positividade nos três anos, não sofrendo grande redução nas médias (0,085, 0,094 e 0,069, respectivamente), em comparação com os grupos vasos e frascos que em 1999 e 2000 apresentaram valores abaixo de 0,040 e o grupo fixo, o grupo de menor positividade, com médias abaixo de 0,020. O grupo armazenamento teve um comportamento diferenciado dos demais, apresentando um aumento gradativo na positividade - 0,018, 0,027 e 0,041, a cada ano, enquanto o grupo outros, apresentou redução no mesmo período - 0,044, 0,034 e 0,019.

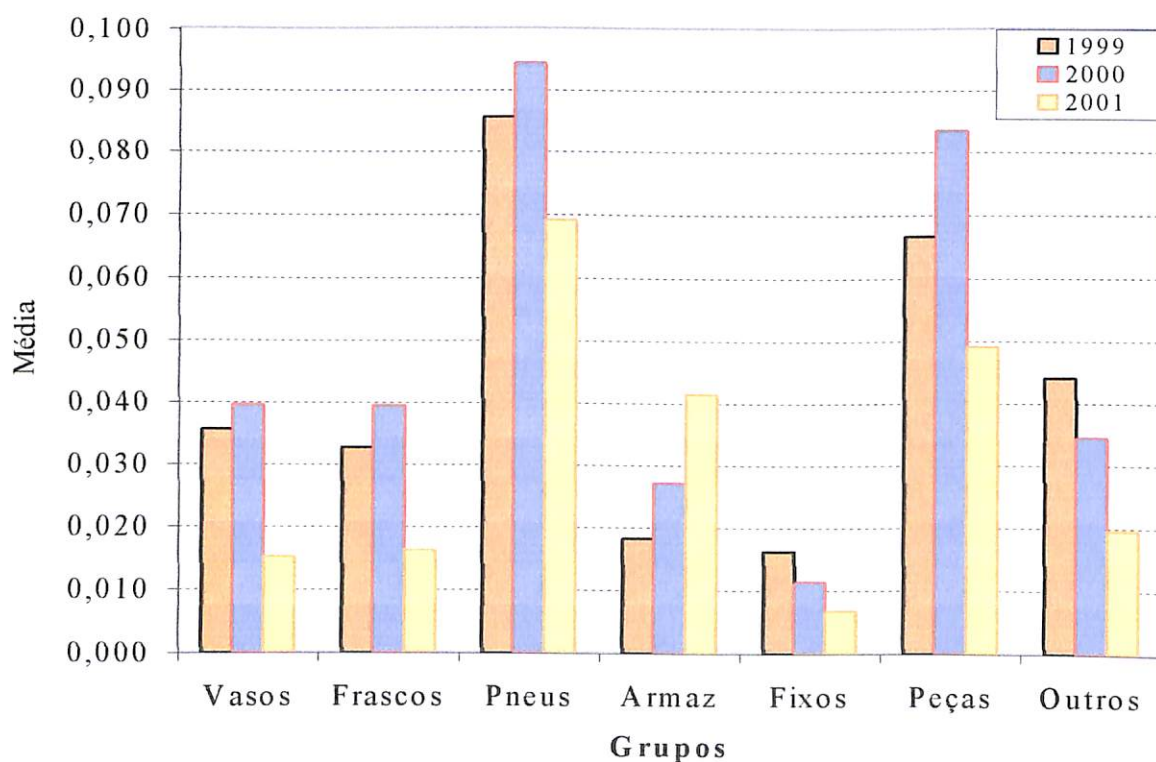


Figura 17. Médias da interação da positividade dos recipientes por ano/grupo no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 6.

No Anexo 7 estão os valores das médias, desvio-padrão e intervalos de confiança da interação meses/grupos. Na Figura 18 é possível observar que a ocorrência de maior positividade no conjunto dos grupos foi verificada nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, destacando-se janeiro como o mês em que os recipientes apresentam médias mais homogêneas, sem ocorrência de grandes reduções na positividade dos recipientes, com exceção de fixos que apresentaram menor positividade em todos os meses. A observação das médias mensais mostra uma elevação dos valores a partir de dezembro, mantendo-se próximos até o mês de abril, excetuando-se os grupos pneus e peças e materiais, que continuam com valores elevados nesses meses.

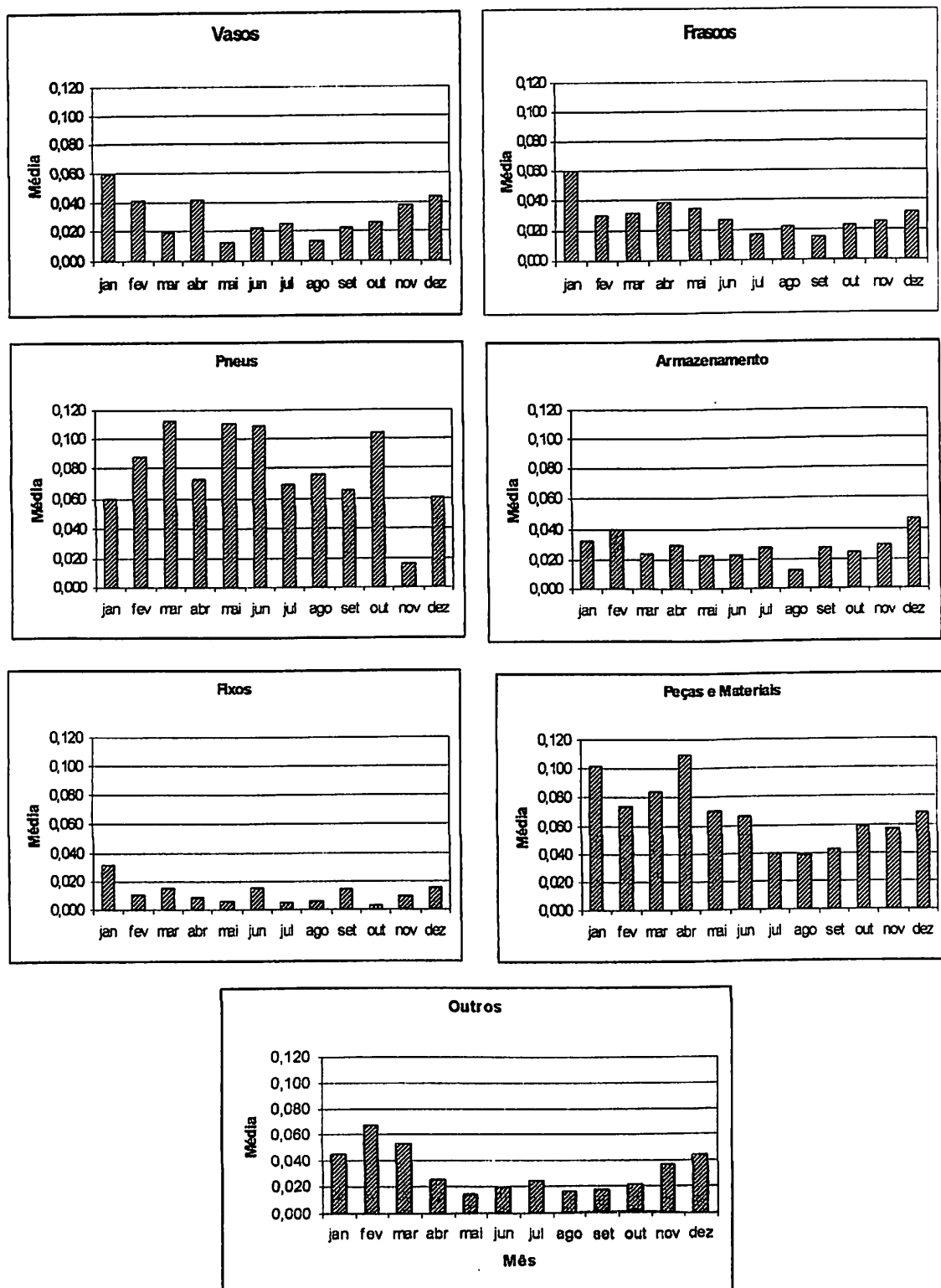


Figura 18. Médias de positividade mensais dos recipientes por grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

4.2 Análise da Produtividade

Na Tabela 3 pode-se observar os testes da Análise de Variância (ANOVA) da produtividade para os fatores individuais (anos, meses e grupos) e as interações entre eles. A análise individual dos fatores mostrou diferenças significativas para Anos, meses e grupos. Os testes das interações entre os fatores mostraram que apenas uma delas foi significativa - anos/meses.

Tabela 3. Valores do teste de Análise de Variância (ANOVA) para os fatores analisados e suas interações.

Fatores	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Teste F	P
Anos	2	0,6837	16,28	0,0001*
Meses	11	0,1244	2,96	0,0020*
Grupos	6	0,1932	4,6	0,0001*
Anos / Meses	22	0,1406	3,35	0,0001*
Anos / Grupos	12	0,0460	1,09	0,3710
Meses / Grupos	66	0,0559	1,33	0,0880

*- significativo

Os resultados dos testes de Tukey são mostrados em forma de tabelas (em Anexo), com as médias originais e na forma gráfica, com os valores transformados por Box-Cox. Os resultados da Análise de Variância mostraram que as médias de produtividade tiveram diferença significativa nos três anos de estudo (Anexo 8). Houve uma nítida redução nas médias a partir de 1999 até 2001 - 35,8, 27,5 e 22,79. Na Figura 19 pode-se observar a queda progressiva na quantidade de imaturos no bairro.

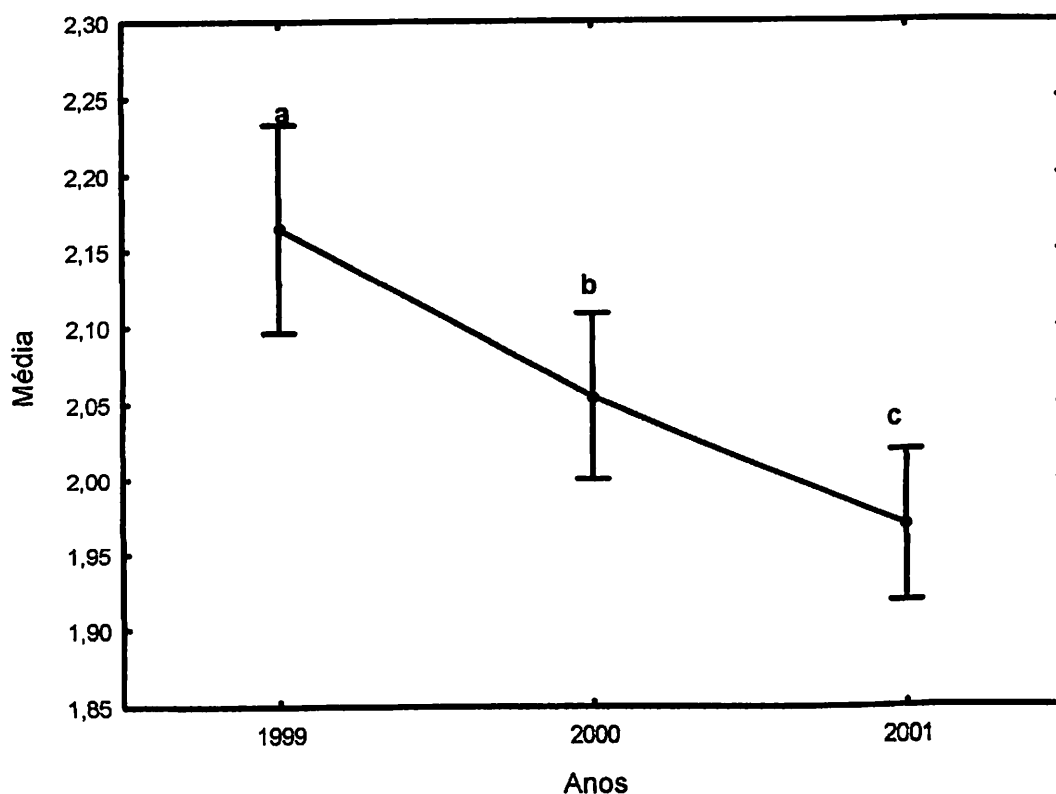


Figura 19. Médias da produtividade anual dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 8.

Os testes da produtividade mensal no período de estudo (Anexo 9) mostraram diferenças significativas entre dois agrupamentos – o de maiores médias, formado pelos meses de novembro e dezembro (39,63 e 35,55, respectivamente) e o de menores médias, formado por janeiro, julho, junho, agosto, abril e março cujas médias oscilaram entre 24,9 e 21,38. Um grupo intermediário foi formado pelos demais meses - fevereiro, outubro, setembro e maio - com médias variando entre 32,27 e 30,61. A distribuição das médias pode ser visualizada na Figura 20.

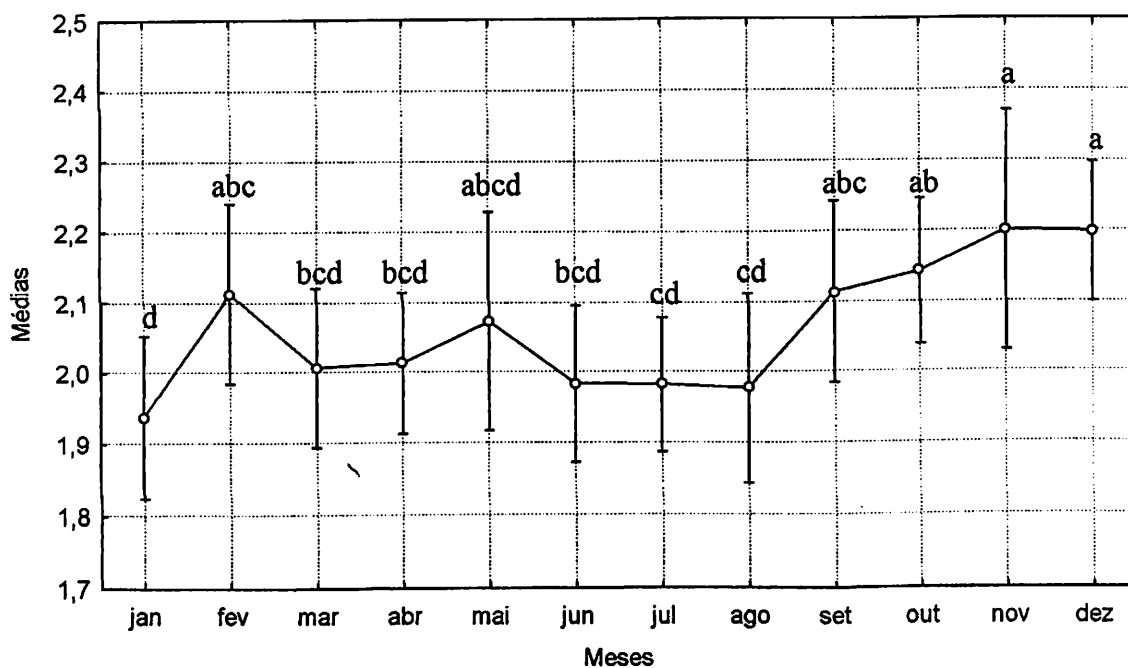


Figura 20. Médias da produtividade mensal dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 8.

No Anexo 10 e na Figura 21 é mostrada a produtividade dos recipientes no período de estudo. A análise demonstrou diferenças significativas entre o grupo de maior produtividade, peças e materiais, com média de 36,08, e o grupo de menor produtividade, formado por outros - 22,8, fixos - 24,96 e vasos - 25,19. Formou-se ainda um grupo intermediário constituído por pneus - 33,43, armazenamento - 29,4 e frascos - 27,66.

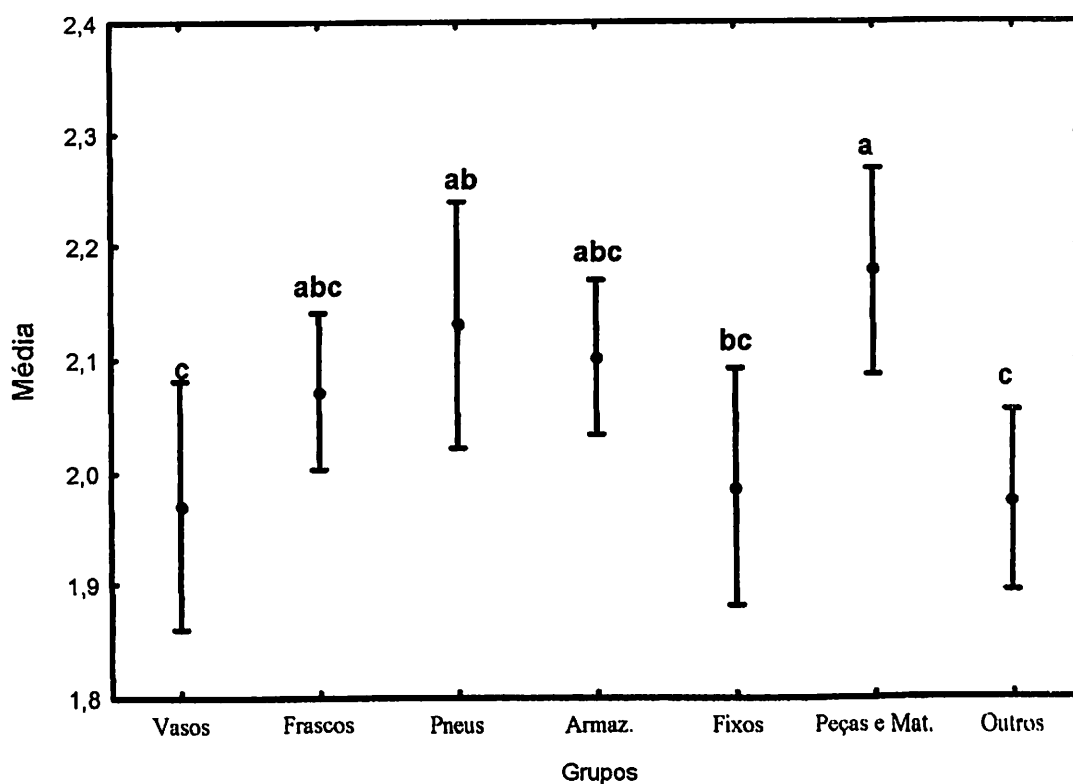


Figura 21. Médias dos recipientes por grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 10.

Pode-se observar os dados referentes às médias, desvio-padrão e intervalos de confiança da interação meses/anos no Anexo 11. Pode-se observar na Figura 22 que as maiores médias de produtividade ocorreram nos meses de novembro e dezembro, sendo que neste último as médias sofreram menor variação, permanecendo muito próximas nos três anos - 33,8183, 34,0257, 38,5643, respectivamente. Os meses de menor produtividade foram junho, julho e agosto. É possível observar claramente a redução no ano de 2001, principalmente de março a junho, a partir de julho ocorre uma elevação nos valores que se mantêm muito próximos até setembro. Nos meses de outubro a dezembro verifica-se uma elevação nas médias.

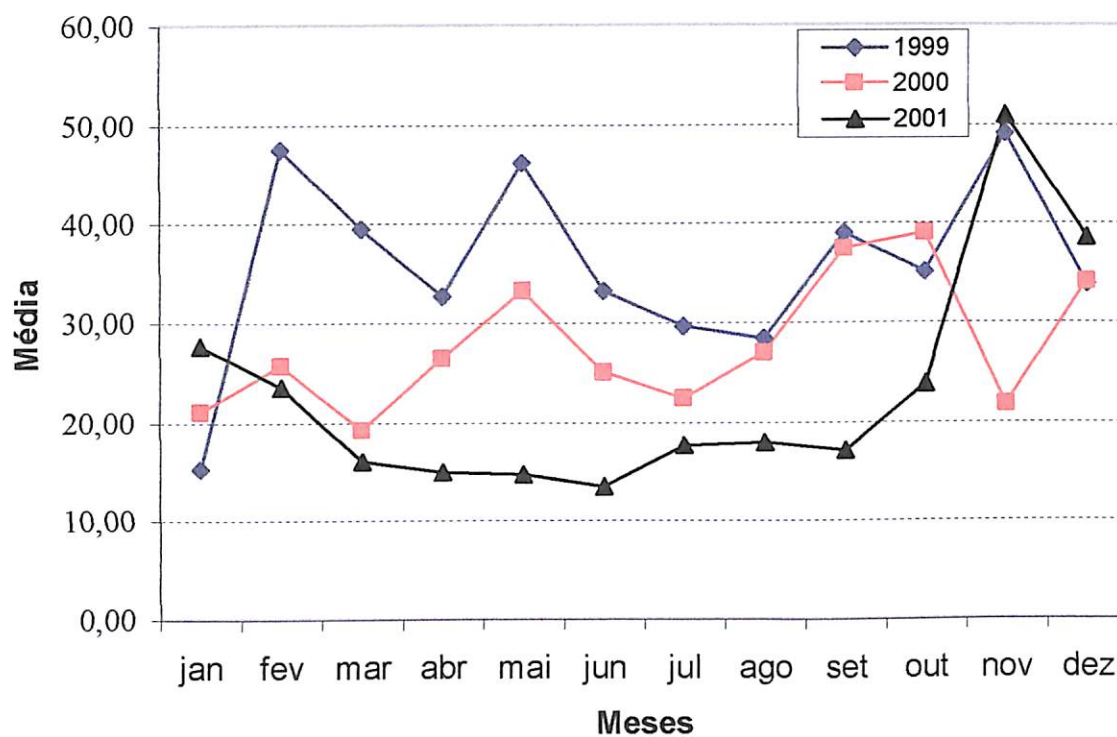


Figura 22. Médias da interação da produtividade dos recipientes por ano/meses no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM). Médias transformadas em Box-Cox e dados originais no Anexo 11.

As análises entre a produtividade e os índices pluviométricos não mostraram existência de correlação entre esses fatores, apresentando os valores de $r = 0,11$ e $P = 0,51$. Na figura 23 é mostrada a distribuição gráfica dos dois fatores.

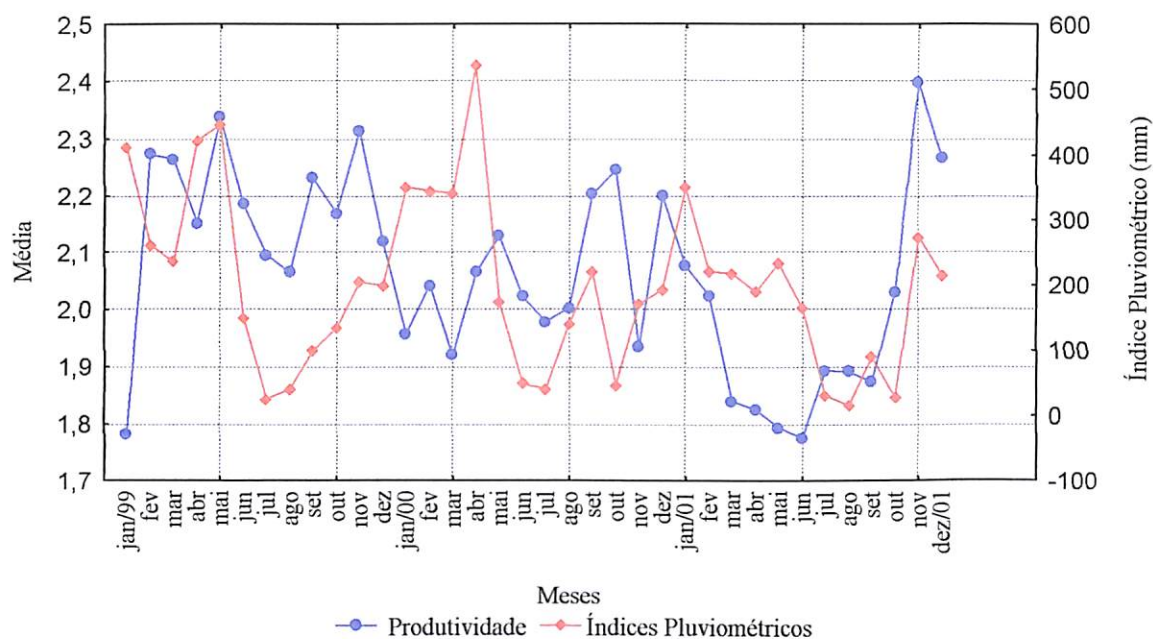


Figura 23. Médias de produtividade dos recipientes no bairro Coroado e índices pluviométricos de Manaus no período de 1999 a 2001. Dados pluviométricos cedidos pelo INMET/AM.

Com o objetivo de obter-se maior número de informações que auxiliassem na discussão dos resultados obtidos, foi analisada também a correlação entre o número de casos de dengue registrados e os índices pluviométricos usando-se o teste de Spearman. Os dados mostraram a existência de correlação entre esses fatores ($r = 0,43$ e $P = 0,000014$). Na Figura 24 é mostrada a distribuição dos casos de dengue e os valores mensais de chuva.

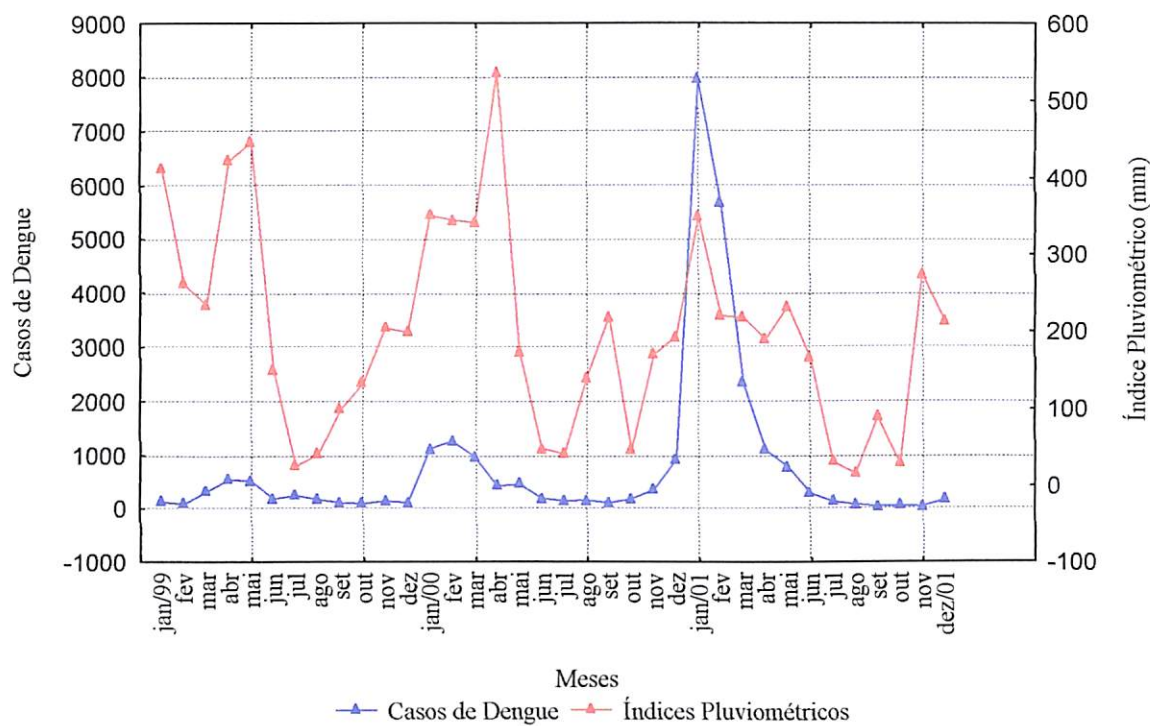


Figura 24. Número de casos de dengue e índices pluviométricos de Manaus no período de jan/1999 a dez/2001. Dados pluviométricos cedidos pelo INMET/AM

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O *A. aegypti* foi registrado em Manaus no ano de 1996 e a partir daí se espalhou por toda a cidade, atingiu índices vetoriais muito elevados e possibilitou a disseminação do vírus dengue. Assim, dois anos depois, em 1998, ocorreu a primeira epidemia de dengue na cidade, com 13.873 notificações (SINAM-AM, 2004). Neste ano, o dengue já tinha se tornado uma doença endêmica em vários Estados do Brasil, e tinha sido isolado o sorotipo DENV 2 no Estado do Rio de Janeiro (Nogueira *et al.*, 1999). Assim, diante da gravidade epidemiológica do dengue no país, a FUNASA - Regional do Amazonas e as Secretarias de Saúde do Estado e do Município de Manaus, procuraram fortalecer as medidas de controle ao vetor, no sentido de conseguir reduzir seus índices e evitar a ocorrência de novas epidemias.

Por tratar-se de uma virose contra a qual não existe ainda vacina e nem medicamentos eficazes, a forma mais viável de evitar a doença, é combater o vetor. Dentre as várias medidas utilizadas para se conseguir a redução dos índices vetoriais, sem dúvida, a eliminação dos criadouros é primordial. Mas, para se alcançar esse objetivo, torna-se necessário o conhecimento dos tipos de recipientes mais utilizados e todas as características referentes a estes, para que possam ser implementadas as medidas adequadas de controle.

Durante o período de estudo – 1999 a 2001, conseguiu-se inspecionar um total de 32.161 imóveis, nos quais foram registrados 152.068 recipientes com água. Este número elevado de imóveis proporcionou um estudo detalhado das características dos recipientes utilizados para a reprodução do *A. aegypti*.

As médias de recipientes com água por imóvel nos três anos foram de 3,8, 3,9 e 6,2, valores muito elevados se comparados às médias encontradas em cidades do Estado de São Paulo - 1,63, em Santos (Pereira, 2001) e 2,1 na região de Araçatuba (Pereira, 1996). É

necessário destacar que não foi observado um padrão de maior ocorrência dos recipientes com água por período, os valores foram muito próximos durante todos os meses, mostrando que a disponibilidade de recipientes é elevada por todo o ano (Figura 8). Levando-se em conta o fato de que o Coroadó é um bairro relativamente urbanizado, que dispõe de serviços regulares de abastecimento de água e coleta de lixo, a média de recipientes encontrada foi elevada. Foi surpreendente o aumento, de quase duas vezes, observado na média no último ano de coleta (2001), quando seria esperada a redução no número de recipientes, já que a população deveria estar mais consciente e participativa em relação aos cuidados para evitar a exposição de recipientes no ambiente. Da mesma forma, o estudo realizado em Catanduva (Estado de São Paulo) também demonstrou que após uma forte campanha que incluía várias atividades educativas sobre o dengue, os números médios de recipientes com água não tiveram alterações significantes (Chiaravalloti Neto, 2003).

Sobre a disponibilidade de recipientes nos domicílios, é necessário analisar o aspecto social envolvido, pois em muitos casos, os recipientes serão potencialmente utilizáveis para venda, doação ou utilização. Isto ocorre principalmente com as garrafas, os frascos e as latas. Desta forma, esse aspecto deve ser levado em consideração na definição das estratégias a serem utilizadas (Madeira *et al.*, 2002; Mazine *et al.*, 1996).

Do total de imóveis inspecionados, 2.318 (7,2%) estavam positivos para presença de larvas e pupas. Esse valor foi maior do que o encontrado na cidade de Marília (Estado de São Paulo) de 4,4% (Mazine *et al.*, 1996). No entanto, os dados do bairro Coroadó foram bem menores do que o percentual obtido por Moore *et al.* (1978) em Porto Rico, de 17,1% e os valores obtidos na Austrália, por Tun-Lin *et al.* (1996) de 11,65%. Estudo realizado em municípios da Amazônia maranhense registrou variação das médias de 13,3% a 3,1% (Rebêlo *et al.*, 1999). Na ilha de São Luis (MA), os índices encontrados variaram de 1,01%

a 7,15% em seis anos (Gonçalves Neto & Rebêlo, 2004). Pelos dados demonstrados, foi possível verificar que há grandes oscilações nos percentuais de acordo com a região de estudo e a interferência de diversos fatores como período do ano, regularidade dos ciclos de visitas e outros.

Os valores do Coroadó, comprovam que no bairro ainda há um elevado índice larvário nos domicílios, possivelmente pela existência de quintais e áreas externas, onde é encontrada uma grande quantidade de recipientes expostos no ambiente. Neste trabalho, a pesquisa dos recipientes ficou restrita apenas ao peridomicílio, pois Pinheiro & Tadei (2002) demonstraram a predominância dos recipientes neste ambiente.

Os dados mostraram que de 1999 para 2001 houve redução significativa nos valores de positividade dos recipientes. Também houve, em termos percentuais, redução do número de espécimes coletados (35,7% , 33,7% e 30,5%). Esse quadro observado no bairro Coroadó demonstra a efetividade do trabalho regular dos agentes de saúde, o que refletiu na redução do número de larvas.

Outro fator que certamente influenciou, a queda nos índices pluviométricos ocorrida nos três anos, conforme demonstrado na Figura 11. O aumento dos recipientes com água pode ser explicado pelos hábitos da população em manter um grande número de recipientes em seus domicílios.

Os dados de inspeção mensal dos recipientes evidenciaram um padrão de sazonalidade quanto a positividade, que mostrou correlação com os índices pluviométricos, apresentando as médias mais elevadas durante os meses chuvosos. Moore *et al.* (1978) em Porto Rico, também registraram aumento no índice de recipientes positivos para *A. aegypti* no período de maior pluviometria. Resultado diferente foi encontrado por Strickman & Kittayapong (2002) que realizaram estudo em várias aldeias na Tailândia e encontraram diferentes padrões de sazonalidade, registrando em um dos locais, maior percentual de

positividade na estação seca. Essa diversidade de resultados pode ser explicada pelas condições socioeconômicas da população e não apenas pelos fatores climáticos. Locais em que a população tem hábitos de armazenar água para consumo, geralmente apresentam elevados percentuais de recipientes disponíveis que facilmente podem se tornar criadouros, independente da estação. No bairro Coroadó, como os recipientes estão situados geralmente no peridomicílio, a influência da estação chuvosa é bem marcante para o aumento destes.

É interessante destacar que mesmo em meses com índices pluviométricos bastante reduzidos, ocorreram subidas repentinas na positividade. Isto pode ser verificado no ano de 2000 nos meses de agosto e outubro e em 2001 em setembro (Figura 16). Esta mudança nos padrões de ocorrência da positividade pode ser decorrente de vários fatores. Um deles está relacionado ao aumento do número de recipientes disponíveis, que podem ser colonizados, caso acumulem água durante alguns dias. Como na região amazônica é comum a ocorrência de chuvas intensas em meses secos, o aumento dessas médias é perfeitamente aceitável; um outro fator, está ligado a qualquer relaxamento nas atividades de inspeção dos agentes de saúde, o que repercute no menor cuidado por parte dos moradores em evitar a proliferação dos recipientes.

A observação em campo permitiu verificar que os mosquitos colocam ovos em recipientes de difícil acesso, como as caixas d'água e calhas. A permanência desses recipientes sem tratamento por longos períodos, possibilita a reprodução do *A. aegypti*.

Em relação ao tipo de recipiente com maior positividade, foram encontradas diferenças significativas entre os vários grupos, pneus e peças e materiais tiveram as maiores contribuições nos três anos, seguidos por vasos, frascos, armazenamento, com médias intermediárias e o grupo outros teve o menor valor (Figura 15). Observou-se na maioria dos grupos uma elevação nas médias em 2000 e redução em 2001 (Figura 17). É

importante destacar que essa redução é um dado importante para a vigilância entomológica. Sabe-se que os pneus e peças e materiais são recipientes encontrados de forma predominante nas oficinas e borracharias, geralmente apresentando elevada positividade, especialmente os pneus que por terem cor escura e superfície áspera, tornam-se excelentes locais de oviposição para as fêmeas do *Aedes*.

Em relação às peças e materiais, um tipo de recipiente muito comum são as latas de 18 litros, mantidas nas residências para serem usadas nas construções para transportar água, areia, cimento e etc. Como geralmente as construções sofrem interrupções por períodos que podem variar de dias até anos, estes objetos ficam expostos ao ar livre, e no período das chuvas acumulam água e transformam-se em excelentes locais de oviposição, o que explica a elevada positividade.

A redução verificada nas médias, no ano de 2001, foi devido à intensificação das inspeções nos locais em que esses recipientes eram encontrados em grandes quantidades. As campanhas de controle dedicavam atenção especial para esses recipientes, em especial aos pneus, o que provavelmente provocou um cuidado maior por parte da população em evitar a manutenção desses objetos em seus domicílios. E sem dúvida, influenciou também a resolução 258 acrescida no Plano de Intensificação das Ações de Controle do Dengue de 2001, que estabeleceu a obrigatoriedade das empresas fabricantes e vendedores de pneumáticos em dar uma adequada coleta e destinação final para esses artefatos.

Em outras regiões do Brasil, os pneus também se destacam como recipientes de elevada positividade, como demonstrado por Neves & Pinho (1996) em municípios do Estado de São Paulo, nos quais este recipiente apresentou percentual de 48,4% e no Estado do Rio de Janeiro, Souza-Santos (1999) registrou a maior contribuição de positividade dos pneus em relação ao total de recipientes pesquisados. Em Porto Rico, os pneus também apresentaram percentuais elevados como criadouro (Moore *et al.*, 1978).

Quanto aos grupos com médias intermediárias, armazenamento teve uma evolução diferenciada dos demais, pois não apresentou grande positividade, mas foi o único que não sofreu redução nos valores, ao contrário, suas médias aumentaram nos três anos. Considerando que nesse grupo estão enquadrados recipientes permanentes e de grande volume como tanques, tonéis, caixas d'água e demais artefatos usados para guardar água para consumo doméstico, torna-se importante a aplicação de medidas de controle específicas a esses recipientes. Devem também, ser repassadas informações para a população sobre a necessidade da realização de limpeza regular e a manutenção adequada desses recipientes, evitando deixá-los expostos no ambiente.

Recipientes do tipo armazenamento constituem-se nos mais difíceis para inspeção e aplicação das medidas de controle em vista da dificuldade para realizar a vistoria, principalmente nas caixas d'água. Além disso, o hábito de se manter depósitos com água é muito antigo e já se tornou cultural pelas próprias necessidades de determinadas regiões, como nos locais com escassez de chuva, o que obriga os Programas de Controle a adotar estratégias diferenciadas. Nos últimos anos vêm sendo empregados métodos alternativos de controle, como a utilização de biolarvicidas bacterianos e peixes larvófagos.

Kay *et al.* (2002) demonstraram a utilização de Copépodos (*Mesocyclops*) como forma de controle de mosquitos nos recipientes de abastecimento no Vietnã. Em Honduras, foi desenvolvida uma campanha para ensinar a população a lavar adequadamente os tanques para eliminar os ovos do mosquito e assim reduzir os índices larvários, sem aumentar a quantidade de larvicidas químicos (Fernández *et al.*, 1998). No Brasil, já vêm sendo utilizado em alguns Estados o *Bacillus thuringiensis* como medida alternativa ao temefós (Penna, 2003). No Estado do Ceará, a utilização do peixe *Betta splendens* em tanques, provocou a redução nos índices de infestação, nesses depósitos, de 70,4% para 0,2% (Pamplona *et al.*, 2004).

Por todo o mundo, há uma vasta literatura que mostra a importância dos recipientes de armazenamento como criadouros, especialmente em áreas com problema de falta de chuva ou com deficiência de abastecimento de água. Foram feitos estudos em regiões pobres do Sudeste da Ásia (Thaung *et al.*, 1975; Nelson *et al.*, 1976; Foo *et al.*, 1985), no México (Gómez *et al.*, 2001), em Honduras (Sherman *et al.*, 1998), na Austrália (Tun-lin *et al.*, 1995). No Brasil, pesquisas também já evidenciaram a participação do grupo armazenamento como recipientes preferenciais no Estado do Ceará, uma região com intensa falta de água (Bezerra, 1999; Carneiro *et al.*, 2000; Pontes *et al.*, 2000) e em áreas de favelas no Estado do Rio de Janeiro (Lenzi *et al.*, 2000; Oliveira & Valla, 2001). No Estado de São Paulo, a situação é um pouco diferente, Pereira (2001) demonstrou que a frequência dos recipientes para armazenamento de água é baixa, mas sua contribuição é importante nos percentuais de positividade e em relação ao número de pupas coletadas, principalmente em caixas d' água e tambor. Forattini & Brito (2003) no município de Potim (Estado de São Paulo) registraram 85% de positividade nos recipientes do grupo armazenamento.

Os grupos vasos e frascos apresentaram valores de positividade muito próximos, e ambos registraram uma redução considerável nas médias de 2000 para 2001. O grupo vaso não é um recipiente de elevada positividade em bairros de Manaus, mas sua importância está no fato de sua manutenção ser contínua nos domicílios, pois os próprios moradores garantem seu abastecimento de água (Pinheiro & Tadei, 2002). Esse grupo tem importância maior como criadouro preferencial na região sudeste do Brasil (Mazine *et al.*, 1996; Melo, 1997; Forattini & Marques, 2000).

O grupo frasco possui uma elevada positividade pois é constituído de uma grande variedade de objetos, geralmente de tamanho pequeno a médio. Pinheiro & Tadei (2002) registraram esse grupo como o mais importante como criadouro em dois bairros de

Manaus, de forma mais marcante no período chuvoso. Na pesquisa atual, detectou-se uma redução significativa na positividade desses recipientes, o que pode ser reflexo dos mutirões de limpeza periodicamente realizados no bairro, a regularização do serviço de coleta do lixo e a construção de cercas ao redor de terrenos desocupados, o que evita o acúmulo de lixo. Deve-se destacar também, a ação dos agentes de saúde no seu trabalho casa-a-casa destruindo os recipientes inservíveis, tratando os permanentes e orientando os moradores nos cuidados para evitar que estes recipientes se transformem em criadouros.

Analisando-se o desempenho da positividade mensal de cada grupo de recipientes (Figura 18) pode-se observar que frascos, peças e materiais e outros apresentaram um típico padrão de sazonalidade com redução nas médias nos meses de menores índices pluviométricos. De forma diferente, os grupos pneus e armazenamento permaneceram com médias elevadas o ano inteiro.

A evolução das médias de produtividade anual mostra a redução consecutiva nos três anos de estudo (Tabela 3). Esta diminuição reflete como já mencionado, o trabalho dos agentes e os mutirões de limpeza organizados no bairro, sendo pelo menos três ao ano, em que o procedimento foi a retirada dos materiais inservíveis dos quintais e o seu descarte, tendo conseqüência nos índices de produtividade.

A análise de comparação múltipla da produtividade mensal permitiu verificar que em alguns meses as médias dos recipientes diferem significativamente em relação a outros, formando-se um conjunto de meses com maiores médias - novembro e dezembro e outro com menores - janeiro, março, abril, junho, julho e agosto (Figura 20).

Esse resultado mostra que os maiores valores ocorreram em dois meses com índices pluviométricos elevados, no entanto, no mês seguinte (janeiro) que possui índices mais elevados, registrou-se uma redução significativa nos valores. Percebe-se uma grande variação nas médias mensais que não permitiu estabelecer uma sazonalidade perceptível

para a produtividade dos recipientes, como foi possível observar para a positividade. Enquanto foi possível demonstrar correlação positiva entre positividade e índices pluviométricos, o mesmo não aconteceu para a correlação com a produtividade.

A produtividade elevada ao longo do ano está relacionada ao fato de que na região amazônica, mesmo na estação seca, ocorrem chuvas intermitentes. Estas são suficientes para manter os criadouros com água e permitir a produção contínua de larvas ao longo do ano. Por isso, os dados de produtividade mostram a elevação das médias de um mês para o outro, mesmo fora da estação chuvosa. Esses dados diferem dos estudos realizados em regiões do Estado de São Paulo, que mostram a ocorrência de uma sazonalidade bem marcante, em decorrência de grande redução nos índices pluviométricos no período seco, o qual pode ser zero em determinado mês. Pereira (1996) na região de Araçatuba (SP) destacou a importância do período chuvoso - de novembro a abril, na produção de imaturos de *A. aegypti*. Estudos realizados em outros países também demonstraram aumento de produtividade na estação chuvosa e redução na estação seca (Ho *et al.*, 1971; Strickman & Kittayapong, 2002).

Um outro aspecto que pode ser levantado quanto às diferenças entre os índices de recipientes de maior positividade e os de maior produtividade, trata-se das características dos recipientes como o tamanho, o volume de água e a quantidade de matéria orgânica. Esses fatores interferem na sobrevivência dos espécimes, tendo consequência nos níveis de produtividade. Essa mesma interpretação foi aventada por Pereira (2001), quando estudou os recipientes em Araçatuba (Estado de São Paulo).

Quanto à produtividade dos grupos, a análise de comparação múltipla mostrou ocorrência de diferenças significativas para peças e materiais e pneus, que tiveram as maiores médias, da mesma forma que na positividade (Figura 21). Os dados mostraram que esses grupos têm uma grande contribuição na densidade larvária no bairro estudado,

peças e materiais apresentaram uma média de 36,08 e pneus de 33,43 larvas por recipiente. Esses valores foram muito elevados se comparados com as médias encontradas em Araçatuba de 26,0 para peças e materiais e 23,07 para pneus (Pereira, 1996). Na literatura constam outros dados que mostram a importância do pneu como criadouro (Bond & Fay, 1969; Chiaravalloti Neto, 1997; Lima *et al.*, 1989). Como citado anteriormente para a positividade, os pneus também possuem médias de produtividade elevadas, o que foi verificado por outros autores (Tun-Lin *et al.*, 1996; Chiaravalloti Neto, 1997).

Em relação ao grupo peças e materiais, em Manaus, esses recipientes são encontrados com muita frequência nos pontos estratégicos (borracharias, oficinas mecânicas, lojas de autopeça) e nos terrenos baldios. No Coroadó, é muito comum, esses recipientes estarem expostos ao ar livre sem nenhuma proteção, principalmente a lataria de automóveis abandonados, que formam inúmeros criadouros. Pinheiro (2000) demonstrou a importância dos pontos estratégicos na produtividade em dois bairros de Manaus.

Embora tenha se constatado uma redução significativa na totalidade do número de larvas e pupas nos três anos de coletas, as médias apresentadas pelos recipientes foram muito elevadas como pode ser observado no Anexo 10. Os valores do grupo intermediário formado por armazenamento, frascos e vasos apresentaram respectivamente, 29,4, 27,66 e 25,19 e a menor média foi de 22,8, observada no grupo outros. A análise de variância não apresentou diferenças estatísticas significantes, ao nível de 5% de confiança para a produtividade na interação meses/recipientes o que evidencia a baixa variação nas médias durante os três anos.

Sobre o grupo frasco é importante destacar a mudança em seu perfil de ocorrência, em trabalho realizado anteriormente por Pinheiro & Tadei (2002). Estes recipientes tiveram médias muito elevadas de produtividade e, na presente análise, a contribuição do grupo foi bem menor. Isso pode ter ocorrido pelo cuidado da população em limpar os

quintais e pátios das residências com maior regularidade, o que reduz a possibilidade desses recipientes permanecerem com água e serem colonizados. A realização desse tipo de estudo, com obtenção de coletas consecutivas numa mesma área tornou possível a detecção dessa alteração, que muitas vezes pode passar despercebida quando se utiliza amostragens pequenas.

Em Manaus, a correlação foi positiva entre os casos de dengue e índices pluviométricos, observando-se um padrão marcante de sazonalidade com a ocorrência da maioria das epidemias, nos meses chuvosos. Nesse período há maior disponibilidade de recipientes com água, favorecendo a reprodução do *A. aegypti*, elevando a densidade populacional, o que contribui para a maior circulação viral. Figueiredo *et al.* (2004), ao estudar a primeira epidemia de dengue em Manaus - 1998 a 1999, também relatam que há relação entre casos de dengue e o ciclo da chuva.

O quadro epidemiológico do dengue em Manaus, mostra redução consecutiva nas epidemias ano a ano a partir de 1998, quando foram diagnosticados cerca de 13.000 casos, e foram isolados os dois sorotipos - DENV 1, no mês de março e DENV 2, em novembro. Nos anos seguintes, houve redução na incidência, provavelmente em decorrência da imunização adquirida pela população aos sorotipos circulantes (Kuno, 1997), ficando as incidências abaixo de 7.000 mil casos. Verificou-se novamente aumento no número de casos em 2001 e a ocorrência dos primeiros casos de FHD, atingindo essa epidemia 18.505 casos. Essa explosão de casos provavelmente ocorreu pela introdução do sorotipo DENV 3, que foi isolado de sangue de pacientes de Manaus em 2002 (Araújo *et al.*, 2003).

A sazonalidade das epidemias de dengue também já foi registrada em outras regiões do Brasil, no Sudeste (Cunha *et al.*, 1998; Nogueira *et al.*, 1999) e no Nordeste (Gonçalves Neto & Rebêlo, 2004; Rêbêlo *et al.*, 1999). Em países da Ásia, diversos autores

encontraram padrão de sazonalidade também na estação chuvosa (Nagao *et al.*, 2003; Cummings *et al.*, 2004; Tewari *et al.*, 2004).

Os dados deste trabalho mostraram que a manutenção regular das atividades dos órgãos de saúde com a visita domiciliar e a veiculação de informações pela mídia, consegue alguns avanços, no sentido de ajudar a reduzir os valores dos índices larvários do *A. aegypti*. No entanto, é necessário mencionar que diante da quantidade de bairros existentes na cidade de Manaus e número de imóveis nestes, é impossível a realização de ciclos de visitas regulares em toda área da cidade. Assim, o engajamento da população às ações de prevenção do dengue e controle do vetor é essencial como uma rotina a ser assimilada ao dia-a-dia das pessoas. A plena incorporação dessas atitudes só acontece com um trabalho educativo maciço que realmente sensibilize e leve à ação. Para se chegar a esse nível é preciso um sistema de comunicação que envolva a comunidade com estratégias planejadas e contínuas, não apenas a realização de campanhas publicitárias em períodos de risco de epidemias.

Diferentes estudos comprovaram o quanto ainda é incipiente a participação comunitária nas campanhas de controle. Lenzi *et al.* (2000) fizeram o seguinte comentário sobre o nível de informação que comumente é veiculado: “observa-se sua elaboração norteadas pela simplificação da linguagem em detrimento da qualidade, o que compromete seus objetivos, trazendo conseqüências sociais graves”. Os autores complementam ainda: “que essa simplificação provoca a perda de informações importantes, mantendo a população sem condições de atuar, já que alternativas não lhe são oferecidas e, pior, não lhe faculta a oportunidade de desenvolver qualquer conhecimento”. Ainda, sobre esse aspecto, Chiaravalloti Neto *et al.* (2003) afirmaram que as práticas relacionadas ao controle do vetor são tanto minuciosas como corriqueiras e devem ser executadas com grande freqüência para que realmente sejam incorporadas. Dias (1998) também tem opinião

semelhante: “As experiências vividas quanto à luta contra o dengue no Brasil têm sido ricas e pedagógicas no que toca à participação comunitária. Não obstante, essa participação carece de consistência e de continuidade, tendo sido pontual, irregular e quase sempre meramente casuística”.

A adesão da população às campanhas de controle é tão essencial que o PNCD colocou este item como um dos componentes estratégicos - ações integradas de educação em saúde, comunicação e mobilização social. Algumas experiências já mostraram como a participação pode efetivamente reduzir os índices vetoriais e os casos da doença, como ocorreu em Cuba na grande epidemia de 1981 e no Rio de Janeiro após as grandes epidemias de 2001-2002. Mas para que realmente se concretize essa participação popular é necessária a integração dos setores governo-povo. Segundo Penna (2003), o que está faltando é a melhoria do nível de informação e o acesso da população aos meios disponíveis para o controle vetorial doméstico, de sua responsabilidade. Em outras palavras, o que podemos chamar de participação efetiva nas estratégias e medidas que constituem os programas de controle, estabelecer uma discussão ampla que envolva questões sociais gerais como condições de habitação, saneamento básico e coleta e reciclagem do lixo.

Antes de tudo, o problema do dengue está estritamente relacionado com as questões urbanas atuais, e exige tomada de decisão por parte do poder público, a quem cabe resolver os problemas sociais que são de sua responsabilidade. De que forma pode-se exigir da população medidas individuais de controle sobre os recipientes, quando esta não dispõe de um sistema de abastecimento regular de água. Se mesmo, mantendo seu domicílio limpo, existe nas vizinhanças terrenos baldios com lixo acumulado, se não há coleta regular de lixo nos bairros.

Assim, cada segmento da sociedade assumindo aquilo que lhe compete será possível atingir um nível estável de equilíbrio necessário para que a sociedade, especialmente a parcela mais desfavorecida, sinta-se incluída, de fato, no contexto social e político, com a melhoria de sua qualidade de vida.

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Aguiar, F.E.O. 1995. *As alterações climáticas em Manaus no século XX*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 183pp.
- Bang, Y.H.; Bown, D.N.; Onwubiko, A.O. 1981. Prevalence of larvae of potential yellow fever vectors in domestic water containers in south-east Nigeria. *Bull. W.H.O.*, 59(1):107-114.
- Bates, M. 1949. *The natural history of mosquitoes.*, McMillan Co. New York, 378pp.
- Bezerra, H.S.S. 1999. *Determinantes da infestação domiciliar pelo Aedes aegypti na cidade de Fortaleza*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 110pp.
- Bond, H.A.; Fay, R.W. 1969. Factors influencing *Aedes aegypti* occurrence in containers. *Mosquito News*, 30: 394-402.
- Box, G.E.P.; Cox, D.R. 1964. An analysis of transformations. *J. Roy. Stat. Soc.*, 26:211-52
- Carneiro, E.W.B.; Lima, J.W.O.; Pontes, R.J.S. 2000. Prevalência da infestação de diferentes tipos de depósitos pelo *Aedes aegypti* na cidade de Fortaleza. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 33(supl. 1): 407.
- Chadee, D.D.; Rahaman, A. 1999. Utility of water drums by man and mosquitoes in Trinidad, West Indies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61(supl.3) 437.
- Chan, K.L. 1985. Singapore's dengue hemorrhagic fever control progame: a case study on the succesfull control of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* using mainly environmental measures as part of integrated vector control. *Singapura. Ministry of Health of Singapore*.

- Chan, K.L.; Ho, B.C.; Chan, Y.C. 1971. *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore City. 2. Larval Habitats. *Bull. W.H.O.*, 44(5): 629-633.
- Chiaravalloti Neto, F. 1997. Descrição da colonização de *Aedes aegypti* na região de São José do Rio Preto, São Paulo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 30: 279-285.
- Chiaravalloti Neto, F.; Fiorin, A.M.; Conversani, D.T.; Cesarino, M.B. *et al.* 2003. *Cad. Saúde Pública*, 19(6):1739-1749.
- Christophers, R.S. 1960. *Aedes aegypti the Yellow Fever Mosquito*. Cambridge University Press, London. 739pp.
- Cummings, D. A. T.; Irizarry, R. A.; Huang, N. E.; Endy, T. P.; Nisalak, A.; Ungchusak, K.; Burke, D. S. Travelling waves in the occurrence of dengue haemorrhagic fever in Thailand. *Nature*, 427:344-347.
- Cunha, R.V.; Miagostovich, M. P.; Petrola, Z.; Araújo, E. S. M.; Cortez, D.; Pombo, V. Souza, R. V.; Nogueira, R. M. R. Schatzmayr, H.G. 1998. Retrospective Study on Dengue in Fortaleza, State of Ceará, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 93(2):155-159
- Dias, J.C.P. 1998. Problemas e possibilidades de participação comunitária no controle das grandes endemias no Brasil. *Cad. Saúde Pública*, 14(Sup. 2):19-37.
- Fernández, E.A.; Leontsini, E.; Sherman, C.; Chan, A.S.T.; Reyes, C.E.; Lozano, R.C.; Fuentes, B.A.; Nichter, M.; Winch, P.J. 1998. Trial of a community-based intervention to decrease infestation of *Aedes aegypti* mosquitoes in cement washbasins in El Progreso, Honduras. *Acta Tropica*, 70: 171-183.
- Figueiredo, R.M. P.; Thatcher, B. D.; Lima, M. L.; Almeida, T. C.; Alecrim, W. D.; Guerra, M. V. F. 2004. Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue

- ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998-1999. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 37(6):476-479.
- Foo, L.C.; Lim, T.W.; Lee, H.L.; Fang, R. 1985. Rainfall, abundance of *Aedes aegypti* and dengue infection in Selangor, Malaysia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, (16):560-568.
- Forattini, O. P.; Lopes, O. S.; Rebello, E. X. 1968. Investigações sobre o comportamento de formas de formas adultas de mosquitos silvestres no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*, 2(2):111-173.
- Forattini, O. P.; Marques, G. R. A. M. 2000. Nota sobre o encontro de *Aedes aegypti* em bromélias. *Rev. Saúde Pública*, 34:543-544.
- Forattini, O.P. 2002. *Culicidologia Médica*. Vol.2. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 860pp.
- Forattini O.P.; Brito, M. 2003. Household water reservoirs and control of *Aedes aegypti*. *Rev. Saúde Pública*, 37(5):676-7.
- FUNASA/CRDA, 1999. – Fundação Nacional de Saúde, Coordenadoria Regional do Amazonas. *Relatório de Atividades-Planejamento de Febre Amarela e Dengue*. Manaus. 18pp.
- Gadelha, D.P.; Toda, A.T. 1985. Biologia e comportamento de *Aedes aegypti*. *Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.*, 37:376-396.
- Glasser, C.M.; Gomes, A.C. 2002. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. *Rev. Saúde Pública*, 36(2):166-72

- Gómez F.E.; Suárez, C.M.H.; Cárdenas, R.C. 2001. Factores que modifican los índices larvários de *Aedes aegypti* em Colima, México. *Rev. Panam. Salud. Publica*, 10(1):6-12.
- Gonçalves Neto, V.S.; Rebêlo, J.M.M. 2004. Aspectos epidemiológicos do dengue no Município de São Luís, Maranhão, Brasil, 1997-2002. *Cad. Saúde Pública*, 20(5):1424-1431.
- Gubler, D.J. 1998. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11(3):480-496.
- Gubler, D.J. 2004a. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 27:319-330.
- Gubler, D.J. 2004b. Cities spawn epidemic dengue viruses. *Nature Medicine*, 10(2):129-130.
- Guimarães, A.E.; Arlé, M. 1984. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I - Distribuição Estacional. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 79(3):309-323.
- Guimarães, A.E.; Machado, R.N.M.; Neto, B.; Miranda, K.A. 1991. Ecology of mosquitoes (Diptera-Culicidae) in the National Park da Bocaina and State Park of Serra do Mar, Rio de Janeiro and São Paulo, Brasil. I – Seasonal Variation. *In: II Simpósio Internacional de Zoologia, Ciudad la Habana, Cuba*.
- Guimarães, A.E.; Aguiar, G.M.; Mello R.P.; Ribeiro, C.L.; Jesus, E.P. 1994 a. Ecologia de mosquitos no Parque Nacional do Iguaçu, PR, Brasil. 1 Dinâmica populacional. *In: XX Congresso Brasileiro de Zoologia, UFRJ, Rio de Janeiro, p56*.
- Guimarães, A.E.; Gentile, C.; Almeida, J.R. 1994b. Ecologia de bioindicadores na Floresta Atlântica: I Influência dos fatores climáticos na dinâmica populacional de mosquitos

(Diptera, Culicidae) da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro. *Ann. Brasil Ciências Ambi.*, 1:332-344.

Ho, B.C.; Chan, K.L.; Chan, Y.C. 1971. *Aedes aegypti* (L) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore City. Populations Fluctuations. *Bull. W.H.O.*, 44(5): 635-641.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2000. Pesquisa Informações Básicas Municipais. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> . Acesso em 2004.

Isturiz R.E.; Gubler D.J.; Brea del Castillo, J. 2000. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 14:121–40.

Kay, B.H.; Nam, V.S.; Tien, T.V.; Yen, N.T. *et al.* 2002. Control of *Aedes* vectors of dengue in three provinces of Vietnam by use of Mesocyclops (Copepoda) and community-based methods validated by entomologic, clinical, and serological surveillance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66(1):40-48.

Köppen , W. 1984. Climatologia, com um estúdio de los climas de la tierra. *México, Fondo de Cult. Econ.*, 468pp.

Lenzi M.F.; Camillo-Coura, L.; Gault, C.E.; Val, M.B. 2000. Estudo do dengue em área favelizada do Rio de Janeiro: considerações iniciais. *Cad. Saúde Pública*, 16(3):851-856.

Lima, M.M.; Amaral, R.S.; Aragão, M.B. 1989. Estudo comparativo da eficácia de armadilhas para *Aedes aegypti*. *Cad. Saúde Pública*, 5(2):139-142.

Lopes, J.; Arias, J.R.; Charlwood, J.D. 1985. Estudo ecológico de Culicidae (Diptera) silvestres criando em pequenos recipientes de água em mata e em capoeira no Município de Manaus-AM. *Cien. Cult.*, 37:1299-340.

- Lopes, C.M. 1996. *Estudos preliminares da diversidade da fauna de mosquitos (Diptera-Culicidae) em áreas da reserva biológica do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Monograph.* Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 32pp.
- Lopes, J. 1997. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. *Rev. Saúde Pública*, 31(4):370-7
- Madeira, N.G.; Macharelli, C.A.; Pedras, J.F.; Defino, M.C.N. 2002. Education in primary school as a strategy to control dengue. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 35: 221-226.
- Marquetti, M.D.C.; Núñez, N.; Aguilera, L.; Fuentes, O.; Navarro, A. 1998. Incidência de culicídeos em uma zona urbana de Ciudad de La Habana durante 1995. *Rev. Cubana Med. Trop.*, 50(2):138-42.
- Mazine, C.A.B.; Macoris, M.L.G.; Andrighetti, M.T.M.; Yasumaro, S.; Silva, M.E.; Nelson, M.J.; Winch, P.J. 1996. Disposable containers as larval habitats for *Aedes aegypti* in a city with regular refuse collection: a study in Marília, São Paulo State, Brazil. *Acta Tropica*, 62:1-13.
- Melo, N.V. 1997. *Estudo dos criadouros de Aedes aegypti na região de Ribeirão Preto, 1985-1994.* Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto, São Paulo. 117pp.
- MS -Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 1994. *Controle de Vetores da Febre Amarela e Dengue. Instruções para pessoal de operação (Normas técnicas).* Brasília. 95pp.
- MS - Ministério da Saúde, 2002. *Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD).* Brasília. 32pp.
- Montgomery, D. C. 1991. *Design and analysis of experiments.* 3 ed. New York, 684pp.

- (Diptera, Culicidae) da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro. *Ann. Brasil Ciências Ambi.*, 1:332-344.
- Ho, B.C.; Chan, K.L.; Chan, Y.C. 1971. *Aedes aegypti* (L) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore City. Populations Fluctuations. *Bull. W.H.O.*, 44(5): 635-641.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2000. Pesquisa Informações Básicas Municipais. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> . Acesso em 2004.
- Isturiz R.E.; Gubler D.J.; Brea del Castillo, J. 2000. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 14:121–40.
- Kay, B.H.; Nam, V.S.; Tien, T.V.; Yen, N.T. *et al.* 2002. Control of *Aedes* vectors of dengue in three provinces of Vietnam by use of *Mesocyclops* (Copepoda) and community-based methods validated by entomologic, clinical, and serological surveillance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66(1):40-48.
- Köppen , W. 1984. Climatologia, com um estudo de los climas de la tierra. *México, Fondo de Cult. Econ.*, 468pp.
- Lenzi M.F.; Camillo-Coura, L.; Gault, C.E.; Val, M.B. 2000. Estudo do dengue em área favelizada do Rio de Janeiro: considerações iniciais. *Cad. Saúde Pública*, 16(3):851-856.
- Lima, M.M.; Amaral, R.S.; Aragão, M.B. 1989. Estudo comparativo da eficácia de armadilhas para *Aedes aegypti*. *Cad. Saúde Pública*, 5(2):139-142.
- Lopes, J.; Arias, J.R.; Charlwood, J.D. 1985. Estudo ecológico de Culicidae (Diptera) silvestres criando em pequenos recipientes de água em mata e em capoeira no Município de Manaus-AM. *Cien. Cult.*, 37:1299-340.

- Lopes, C.M. 1996. *Estudos preliminares da diversidade da fauna de mosquitos (Diptera-Culicidae) em áreas da reserva biológica do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Monograph.* Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 32pp.
- Lopes, J. 1997. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. *Rev. Saúde Pública*, 31(4):370-7
- Madeira, N.G.; Macharelli, C.A.; Pedras, J.F.; Defino, M.C.N. 2002. Education in primary school as a strategy to control dengue. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 35: 221-226.
- Marquetti, M.D.C.; Núñez, N.; Aguilera, L.; Fuentes, O.; Navarro, A. 1998. Incidência de culicídeos em uma zona urbana de Ciudad de La Habana durante 1995. *Rev. Cubana Med. Trop.*, 50(2):138-42.
- Mazine, C.A.B.; Macoris, M.L.G.; Andrighetti, M.T.M.; Yasumaro, S.; Silva, M.E.; Nelson, M.J.; Winch, P.J. 1996. Disposable containers as larval habitats for *Aedes aegypti* in a city with regular refuse collection: a study in Marília, São Paulo State, Brazil. *Acta Tropica*, 62:1-13.
- Melo, N.V. 1997. *Estudo dos criadouros de Aedes aegypti na região de Ribeirão Preto, 1985-1994.* Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto, São Paulo. 117pp.
- MS -Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 1994. *Controle de Vetores da Febre Amarela e Dengue. Instruções para pessoal de operação (Normas técnicas).* Brasília. 95pp.
- MS - Ministério da Saúde, 2002. *Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD).* Brasília. 32pp.
- Montgomery, D. C. 1991. *Design and analysis of experiments.* 3 ed. New York, 684pp.

- Moore, C.G.; Cline, B.L.; Ruiz-Tibén, E.; Lee, D.; Romney-Joseph, H.; Rivera-Correa, E. 1978. *Aedes aegypti* in Puerto Rico: environmental determinants of larval abundance and relation to dengue virus transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27(6):1225-1231.
- Nagao, Y.; Thavara, U.; Chitnumsup, P.; Tawatsin, A.; Chansang, C.; Chapbell-Lendrum, D. 2003. Climatic and social risk factors for *Aedes* infestation in rural Thailand. *Trop Med Intern Health.*, 8(7):650-659.
- Nelson, M.J.; Pant, C.P.; Self, L.S.; Usmann, S. 1976. Observations on the breeding habitats of *Aedes aegypti* (L.) in Jakarta, Indonesia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 7:424-429.
- Neves, D.P. 1972. *Alguns aspectos da Ecologia dos Culicídeos no Parque das Mangabeiras, Belo Horizonte (MG)*, MSc. Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, 75pp.
- Neves, V.L.F.C.; Pinho, L.A.C. 1996. *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de São Paulo-SP, 1991 a 1995. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29(Supl. I):55.
- Nogueira, R.M.R.; Miagostovich, M.P.; Schatzmayr, H.G.; Santos, F.B.; Araújo, E.S. M. *et al.* 1999. Dengue in the State of Rio de Janeiro, Brazil, 1986-1998. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94(3): 297-304.
- Oliveira, R.M.; Valla, V.V. 2001. As condições e as experiências de vida de grupos populares no Rio de Janeiro: repensando a mobilização popular no controle do dengue. *Cad. Saúde Pública*, 17(Supl.):77-88.
- Pamplona, L.G.C.; Lima, J.W.O.; Cunha, J.C.L.; Santana, E.W.P. 2004. Avaliação do impacto na infestação por *Aedes aegypti* em tanques de cimento do Município de Canindé, Ceará, Brasil, após a utilização do peixe *Betta splendens* como alternativa de controle biológico. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 37(5):400-404.

- Penna, M.L. 2003. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. *Cad. Saúde Pública*, 19(1):305-309.
- Pereira, M. 1996. *Recipientes artificiais utilizados como criadouros por Aedes aegypti na região de Araçatuba, Estado de São Paulo*. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo. 63pp.
- Pereira, M. 2001. *Produtividade e habitats larvários de Aedes aegypti em Santos, Estado de São Paulo na região de Araçatuba, Estado de São Paulo*. Tese de Doutorado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo. 93pp.
- Pinheiro, V.C.S. 2000. *Dengue em Manaus (AM): Recipientes preferenciais de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) e avaliação das medidas de controle - temefós e termonebulização*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 164pp.
- Pinheiro, V.C.S.; Tadei, W.P. 2002. Frequency, diversity, and productivity study on the *Aedes aegypti* most preferred containers in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 44:245-250.
- Pontes, R.J.S.; Carneiro, E.W.B.; Lima, J.W.O. 2000. Infestação de diferentes tipos de depósitos pelo *Aedes aegypti* em bairros de Fortaleza. *Rev. Bras. Med. Trop.*, 33(Supl. I):416.
- Projeto Geo Cidades: *Relatório ambiental urbano integrado: Informe GEO*. Disponível em: http://www.pmm.am.gov.br/meio_ambiente/geo_cidades.htm . Acesso em 2004.
- Rebêlo, J.M.M.; Costa, J.M.L.; Silva, F.S.; Pereira, Y.N.O.; Silva, J.M. 1999. Distribuição de *Aedes aegypti* e do dengue no Estado do Maranhão, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, 15(3):477-486.
- Rosa-Freitas, M.G.; Tsouris, P.; Sibajev, A.; Weimann, E.T.S.; Marques, A.U.; Ferreira, R.L.; Luitgards-Moura, J.F. 2003. Exploratory temporal and spatial distribution

- analysis of Dengue notifications in Boa Vista, Roraima, Brazilian Amazon, 1999-2001. *Dengue Bulletin*, 27: 63-80, 2003.
- Schultz, G.W. 1993. Seasonal abundance of dengue vectors in Manila, Republic of the Philippines. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 2(24):369-375.
- Sherman, C.; Fernandez, E.A.; Chan, A.S.; Lozano, R.C.; Leontsini, E. Winch, P.J. 1998. La Untadita: a procedure for maintaining washbasins and drums free of *Aedes aegypti* based on modification of existing practices. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 58:257-262.
- SINAM - Sistema de Informação Nacional. Disponível em: <http://www.saude.am.gov.br/saude/compulsorias.php> . Acesso em 2004.
- Souza-Santos, R. 1999. Fatores associados à ocorrência de formas imaturas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 32(4):373-382.
- Strickman, D.; Kittayapong, P. 2002 Dengue and its vectors in Thailand: introduction to the study and seasonal distribution of *Aedes* larvae. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67(3):247-259.
- Tauil, P.L. 2002. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad. Saúde Pública*, 18(3):867-871.
- Tewari, S. C.; Thenmozhi, V.; Katholi, C. R.; Manavalan, R.; Munirathinam, A.; Gajanana, A. 2004. Dengue vector prevalence and virus infection in a rural area in south India. *Trop. Med. Intern. Health*, 9(4):499-507.
- Thaung, U.; Ming, C.K.; Thein, M. 1975. Dengue haemorrhagic fever in Burma. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 6:580-591.

Tun-Lin, W.; Kay, B.H.; Barnes, A. 1995. The premise condition index: a tool for streamlining surveys of *Aedes aegypti*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 53:591-594.

Tun-Lin, W.; Kay, B.H.; Barnes, A.; Forsyth, S. 1996. Critical examination of *Aedes aegypti* indices: correlations with abundance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 54(5):543-547.

Uribe, L.G. 1983. The problem of *Aedes aegypti* control in the Americas. *Bull. P.A.H.O.*, 17:133-44.

WHO – World Health Organization. 1972. A system of world-wide surveillance for vectors. *Wkly Epidemiol. Rec.*, 25:73-80.

7. ANEXOS

Anexo 2. Médias anuais da positividade dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Anos	Médias	Desvio-padrão	IC - 95%
1999	0,041 a	0,034	0,033-0,049
2000	0,044 a	0,034	0,036-0,051
2001	0,030 b	0,027	0,024-0,036

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 3. Médias mensais da positividade dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM)

Meses	Médias	Desvio-Padrão	IC - 95%
Janeiro	0,055 a	0,035	0,040-0,070
Fevereiro	0,047 ab	0,028	0,032-0,063
Março	0,045 abc	0,027	0,027-0,061
Abril	0,044 abc	0,032	0,020-0,054
Maio	0,037 cd	0,032	0,017-0,054
Junho	0,036 cd	0,021	0,017-0,038
Julho	0,027 cd	0,039	0,011-0,039
Agosto	0,025 d	0,034	0,017-0,040
Setembro	0,029 cd	0,041	0,019-0,056
Outubro	0,037 cd	0,022	0,021-0,044
Novembro	0,033 cd	0,039	0,029-0,055
Dezembro	0,042 abc	0,024	0,025-0,066

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 4. Médias da positividade dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Grupos	Médias	Desvio-padrão	IC – 95%
Vasos	0,029 b	0,024	0,021-0,038
Frascos	0,029 b	0,017	0,023-0,035
Pneus	0,081 a	0,035	0,067-0,096
Armazenamento	0,029 b	0,016	0,023-0,034
Fixos	0,011 c	0,011	0,007-0,015
Peças e Materiais	0,066 a	0,036	0,053-0,079
Outros	0,032 b	0,024	0,024-0,040

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 5. Dados da interação da positividade dos recipientes por anos/meses no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Meses	1999			2000			2001		
	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%
Janeiro	0,054	0,023	0,032 - 0,075	0,059	0,041	0,021 - 0,098	0,053	0,035	0,016 - 0,089
Fevereiro	0,053	0,030	0,025 - 0,081	0,046	0,037	0,007 - 0,086	0,043	0,034	0,011 - 0,075
Março	0,069	0,051	0,005 - 0,132	0,049	0,041	0,010 - 0,088	0,025	0,028	-0,001 - 0,052
Abril	0,059	0,042	0,019 - 0,098	0,042	0,036	0,004 - 0,081	0,032	0,025	0,008 - 0,056
Maiο	0,040	0,032	0,005 - 0,074	0,029	0,030	-0,002 - 0,060	0,043	0,043	-0,002 - 0,089
Junho	0,036	0,029	-0,015 - 0,088	0,045	0,045	0,003 - 0,088	0,026	0,021	0,006 - 0,046
Julho	0,035	0,049	0,005 - 0,066	0,025	0,016	0,008 - 0,042	0,023	0,018	0,006 - 0,040
Agosto	0,016	0,007	0,006 - 0,025	0,043	0,039	0,007 - 0,080	0,014	0,014	0,001 - 0,027
Setembro	0,022	0,026	-0,002 - 0,046	0,027	0,014	0,014 - 0,041	0,038	0,030	0,005 - 0,070
Outubro	0,028	0,035	-0,008 - 0,065	0,058	0,049	0,012 - 0,103	0,025	0,027	0,0005 - 0,050
Novembro	0,028	0,018	0,009 - 0,048	0,046	0,026	0,021 - 0,070	0,021	0,016	0,004 - 0,039
Dezembro	0,052	0,036	0,018 - 0,086	0,050	0,025	0,023 - 0,076	0,026	0,010	0,016 - 0,035

DP = Desvio-padrão IC = Intervalo de Confiança.

Anexo 6. Dados da interação da positividade dos recipientes por anos/grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Grupos	1999			2000			2001		
	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%
Vasos	0,035	0,027	0,017 - 0,054	0,039	0,021	0,025 - 0,053	0,015	0,015	0,005 - 0,025
Frascos	0,032	0,019	0,020 - 0,045	0,039	0,012	0,031 - 0,047	0,016	0,009	0,010 - 0,022
Pneus	0,085	0,026	0,065 - 0,106	0,094	0,047	0,050 - 0,138	0,069	0,033	0,044 - 0,093
Armaz	0,018	0,010	0,011 - 0,025	0,027	0,018	0,015 - 0,039	0,041	0,011	0,034 - 0,048
Fixos	0,016	0,017	0,003 - 0,028	0,011	0,006	0,007 - 0,015	0,006	0,004	0,003 - 0,009
Peças e Mat	0,066	0,042	0,037 - 0,095	0,083	0,033	0,061 - 0,105	0,049	0,026	0,032 - 0,066
Outros	0,044	0,033	0,021 - 0,066	0,034	0,017	0,023 - 0,045	0,019	0,011	0,012 - 0,026

DP = Desvio-padrão IC = Intervalo de Confiança.

Anexo 7. Dados da interação da positividade dos recipientes por grupos/meses no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Meses		Grupos						Outros
		Vasos	Frascos	Pneus	Armaz	Fixos	Peças e Mat	
		0,0590	0,0597	0,0600	0,0317	0,0310	0,1020	0,0453
Janeiro	<i>Média</i>							
	Desvio-Padrão	0,0210	0,0174	0,0247	0,0310	0,0277	0,0390	0,0181
	IC – 95%	0,0068 0,1112	0,0165 0,1029	-0,1569 0,2879	-0,0454 0,1087	-0,0379 0,0999	0,0052 0,1988	0,0003 0,0904
Fevereiro	<i>Média</i>	0,0407	0,0300	0,0879	0,0400	0,0107	0,0740	0,0683
	Desvio-Padrão	0,0455	0,0062	0,0354	0,0020	0,0021	0,0354	0,0246
	IC – 95%	-0,0723 0,1536	0,0145 0,0455	-0,2357 0,3997	0,0350 0,0450	0,0055 0,0158	-0,0139 0,1619	0,0073 0,1294
Março	<i>Média</i>	0,0192	0,0320	0,1127	0,0240	0,0153	0,0845	0,0537
	Desvio-Padrão	0,0000	0,0187	0,0320	0,0052	0,0103	0,0283	0,0491
	IC – 95%	0,0060 0,0060	-0,0145 0,0785	0,0332 0,1921	0,0111 0,0369	-0,0102 0,0408	-0,1811 0,3271	-0,0682 0,1755
Abril	<i>Média</i>	0,0417	0,0383	0,0728	0,0293	0,0087	0,1100	0,0247
	Desvio-Padrão	0,0121	0,0223	0,0269	0,0106	0,0025	0,0305	0,0135
	IC – 95%	0,0116 0,0717	-0,0171 0,0937	-0,1734 0,3094	0,0030 0,0557	0,0024 0,0149	0,0342 0,1858	-0,0089 0,0582
Maio	<i>Média</i>	0,0130	0,0343	0,1108	0,0230	0,0058	0,0703	0,0143
	Desvio-Padrão	0,0020	0,0199	0,0283	0,0139	0,0226	0,0136	0,0047
	IC – 95%	0,0080 0,0180	-0,0150 0,0837	-0,1491 0,3591	-0,0115 0,0575	-0,0390 0,0505	0,0365 0,1042	0,0026 0,0261
Junho	<i>Média</i>	0,0220	0,0267	0,1091	0,0223	0,0147	0,0663	0,0183
	Desvio-Padrão	0,0165	0,0050	0,0594	0,0119	0,0071	0,0619	0,0208
	IC – 95%	-0,0189 0,0629	0,0142 0,0392	-0,4287 0,6387	-0,0073 0,0520	-0,0030 0,0323	-0,0873 0,2200	-0,0333 0,0700
Julho	<i>Média</i>	0,0253	0,0167	0,0688	0,0270	0,0051	0,0393	0,0240
	Desvio-Padrão	0,0196	0,0080	0,0438	0,0191	0,0007	0,0067	0,0056
	IC – 95%	-0,0232 0,0739	-0,0033 0,0366	-0,3309 0,4569	-0,0203 0,0743	-0,0029 0,0099	0,0228 0,0559	0,0102 0,0378
Agosto	<i>Média</i>	0,0140	0,0213	0,0752	0,0120	0,0060	0,0383	0,0160
	Desvio-Padrão	0,0110	0,0250	0,0537	0,0085	0,0030	0,0325	0,0062
	IC – 95%	-0,0133 0,0413	-0,0408 0,0835	-0,4048 0,5608	-0,0542 0,0982	-0,0015 0,0135	-0,0424 0,1191	0,0005 0,0315
Setembro	<i>Média</i>	0,0227	0,0153	0,0650	0,0270	0,0138	0,0423	0,0167
	Desvio-Padrão	0,0168	0,0047	0,0372	0,0185	0,0064	0,0111	0,0085
	IC – 95%	-0,0191 0,0644	0,0036 0,0271	-0,0275 0,1575	-0,0190 0,0730	-0,0507 0,0637	0,0149 0,0698	-0,0045 0,0378

Cont. Anexo 7

Meses		Grupos						
		Vasos	Frascos	Pneus	Armaz	Fixos	Peças e Mat	Outros
Outubro	Média	0,0260	0,0223	0,1037	0,0250	0,0027	0,0583	0,0212
	Desvio-Padrão	0,0246	0,0143	0,0260	0,0154	0,0012	0,0552	0,0071
	IC - 95%	-0,0351 0,0871	-0,0132 0,0578	0,0392 0,1682	-0,0132 0,0632	-0,0002 0,0055	-0,0789 0,1956	-0,0415 0,0855
Novembro	Média	0,0377	0,0253	0,0163	0,0297	0,0097	0,0563	0,0370
	Desvio-Padrão	0,0348	0,0150	0,0163	0,0176	0,0057	0,0304	0,0130
	IC - 95%	-0,0489 0,1242	-0,0119 0,0625	-0,0294 0,0620	-0,0141 0,0734	-0,0045 0,0238	-0,0191 0,1318	0,0047 0,0693
Dezembro	Média	0,0433	0,0313	0,0608	0,0463	0,0153	0,0683	0,0437
	Desvio-Padrão	0,0261	0,0126	0,0438	0,0346	0,0023	0,0372	0,0240
	IC - 95%	-0,0215 0,1081	0,0001 0,0626	-0,3419 0,4459	-0,0395 0,1322	0,0096 0,0211	-0,0241 0,1608	-0,0160 0,1033

IC = Intervalo de Confiança

Anexo 8. Dados da produtividade anual dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Anos	Médias	Desvio-padrão	IC - 95%
1999	35,8 a	20,86	31,038-40,572
2000	27,5 b	14,72	24,357-30,783
2001	22,79 c	12,83	19,969-25,608

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 9. Dados da produtividade mensal dos recipientes no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM).

Meses	Médias	Desvio-padrão	IC - 95%
Janeiro	21,38 d	11,330	16,220 - 26,534
Fevereiro	32,27 abc	23,510	21,567 - 42,973
Março	24,9 bcd	13,410	18,798 - 31,004
Abril	24,69 bcd	11,790	19,319 - 30,052
Maió	30,61 abcd	19,580	21,447 - 39,778
Junho	23,4 bcd	11,770	17,946 - 28,966
Julho	22,93 cd	11,710	17,453 - 28,417
Agosto	24,06 cd	15,430	16,625 - 31,500
Setembro	31,85 abc	20,370	22,318 - 41,387
Outubro	32,2 ab	16,470	24,267 - 40,142
Novembro	39,63 a	24,290	27,924 - 51,339
Dezembro	35,55 a	12,510	29,697 - 41,406

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 10. Dados da produtividade dos recipientes por grupos no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroadó (Manaus-AM).

Grupos	Médias	Desvio-padrão	IC - 95%
Vasos	25,19 c	20,47	18,163 - 32,226
Frascos	27,66 abc	12,09	23,567 - 31,750
Pneus	33,43 ab	19,58	26,372 - 40,487
Armaz	29,4 abc	13,06	24,978 - 33,817
Fixos	24,96 bc	16,77	18,912 - 31,003
Peças e Mat	36,08 a	21,51	28,800 - 43,354
Outros	22,8 c	10,49	19,140 - 26,460

IC = Intervalo de confiança

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.

Anexo 11. Dados da interação da produtividade dos recipientes por anos/meses no período de jan/99 a dez/01 no bairro Coroado (Manaus-AM).

Meses	1999			2000			2001		
	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%	Médias	DP	IC - 95%
Janeiro	15,252	8,544	7,350 - 3,155	21,124	8,317	13,431- 28,817	27,754	13,943	14,859 - 0,649
Fevereiro	47,485	35,368	14,776 - 0,195	25,718	12,485	14,171- 37,265	23,607	5,322	18,684 - 28,529
Março	39,431	11,861	28,461- 0,401	19,250	6,839	12,924 - 25,575	16,022	6,016	10,458 - 21,587
Abril	32,635	13,543	20,110 - 45,161	26,462	8,560	18,545 - 34,380	14,958	4,340	10,945 - 18,972
Maiο	46,210	17,480	27,866 - 64,554	33,182	19,411	15,230 - 51,135	14,674	5,977	9,146 - 20,202
Junho	33,191	8,648	24,115 - 42,268	25,102	11,799	14,190 - 36,015	13,465	4,795	9,030 - 17,901
Julho	29,686	16,296	12,584 - 46,789	22,412	10,507	12,695 - 32,130	17,670	4,951	13,091 - 22,249
Agosto	28,458	16,573	7,880 - 49,036	27,048	20,031	8,522 - 45,574	17,937	7,725	10,792 - 5,082
Setembro	38,967	19,540	20,895 - 57,039	37,398	24,368	14,861 - 59,935	17,083	5,540	11,269 - 22,898
Outubro	35,063	20,878	13,152 - 56,974	38,983	18,479	19,591 - 58,375	23,944	5,658	18,711 - 29,177
Novembro	49,108	31,746	15,792 - 82,424	21,762	10,751	11,819 - 31,706	51,003	16,358	33,836 - 68,170
Dezembro	33,818	22,357	10,356 - 57,280	34,025	7,218	27,350 - 40,701	38,564	3,259	35,550 - 41,578

DP = Desvio-padrão LC. = Intervalo de Confiança

CAPÍTULO II

CAPITULO II

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE OVOS DE *Aedes aegypti* (DIPTERA, CULICIDAE) EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO NA AMAZÔNIA.

1. INTRODUÇÃO

As fêmeas do *A. aegypti* realizam a postura dos seus ovos individualmente na água ou mais comumente, nas paredes úmidas de recipientes artificiais ou naturais com água. Em condições normais, os ovos se desenvolvem, amadurecem e, logo após a imersão na água, eclodem. Ao fim do desenvolvimento, se ocorrer situações adversas, como: dessecação, baixas temperaturas e insolação, o embrião entra no estado da diapausa, ou seja, o adiamento da eclosão. Esse estado de quiescência poderá se prolongar por seis meses ou mais tempo, até que ocorra o contato com a água do criadouro, e verifique-se a eclosão do ovo e a saída da larva de primeiro estágio (Forattini, 2002; Rodhain & Rosen, 1997).

Essa característica proporcionou a disseminação desse mosquito por amplas áreas geográficas, por meio do transporte de ovos resistentes em vários tipos de materiais. Essa é a chamada dispersão passiva, que pode acontecer por qualquer meio de transporte aéreo, marítimo ou terrestre. Provavelmente foi dessa forma que ocorreu a introdução do *A. aegypti* na América vindo do continente africano nos navios que transportavam os escravos daquele continente nos séculos XVI e XIX (Gubler, 1997; Forattini, 2002).

Os primeiros estudos sobre a oviposição de *A. aegypti* foram realizados nas décadas iniciais do século passado por diversos autores, cujos experimentos

proporcionaram o conhecimento detalhado da viabilidade dos ovos do *Aedes* (Theobald, 1901; Francis, 1907; Newstead e Thomas, 1910; Bacot, 1916; Fielding, 1919 apud Christophers, 1960). Nesses primeiros experimentos conseguiu-se mostrar a eclosão de ovos mantidos secos por período de dois meses. Seguiram-se outras séries de testes em que foi constatada que a viabilidade dos ovos é bem maior: observou-se eclosão de larvas de ovos mantidos secos por quatro meses até 262 dias, enquanto aqueles mantidos por 391-579 dias não eclodiram.

Os estudos realizados por Shannon & Putnam (1934) com ovos de *A. aegypti* obtidos do Brasil comprovaram a importância do condicionamento dos ovos como condição para a eclosão. Esses experimentos demonstraram que os ovos devem ser mantidos em contato com a umidade por um período de 24-72 horas com temperatura entre 25° e 27°C para o embrião se desenvolver e permanecer viável por períodos prolongados. Se bem condicionados, os ovos podem ser armazenados durante 6 meses sem alta mortalidade e, aproximadamente 5% sobrevive um ano ou mais. Caso não ocorra essa exposição à umidade, os ovos secam e murcham, até em questão de segundos. Os fatores determinantes para a manutenção de boas condições de viabilidade são os níveis de dessecação e de umidade do local de armazenamento (Christophers, 1960).

Além dos trabalhos realizados no século passado, seguiram-se uma série de estudos que abordaram outros aspectos da postura do *A. aegypti*. Os locais preferenciais de oviposição foram estudados por Fay & Eliason (1966). Os padrões envolvidos com a oviposição nos domicílios e em campo foram intensamente investigados a partir de 1960 (Haddow *et al.*, 1961; Corbet & Chadee, 1987; 1990a). Mais recentemente, estudaram-se as características da água como fator determinante para a escolha dos criadouros pelas fêmeas do mosquito (Kline & Allan, 1998). E em Queensland na

Austrália, foram pesquisadas as estratégias adaptativas utilizadas pelas fêmeas do *Aedes* para sobreviverem durante a estação seca (Russel *et al.*, 2001).

No Brasil, são restritos os trabalhos enfocando períodos de viabilidade. Os mais recentes foram realizados por Silva *et al.*, (1993) e Silva & Silva (1999) que estudaram vários aspectos associados com o ciclo evolutivo do *A. aegypti*, inclusive o período de quiescência dos ovos em câmara climatizada sob condições controladas. Os resultados mostraram eclosão em ovos com até 492 dias.

Sabendo-se que a fase de ovo representa a de maior resistência do ciclo biológico do *A. aegypti*, e o principal fator que favorece a dispersão mundial do vetor, tornam-se necessários estudos relativos à viabilidade dos ovos nas condições climáticas da Amazônia.

Portanto, resolveu-se realizar testes para medir a viabilidade dos ovos de *A. aegypti* sob diferentes condições: mantidos em área interna – insetário, e em área externa. Avaliaram-se também diferentes formas de armazenamento: ovos estocados em copos, em envelopes e sacos plásticos.

Foram realizados também estudos em nível de microscopia eletrônica de varredura para observar as modificações em nível estrutural decorrentes do tempo de armazenamento.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL:

Avaliar a viabilidade dos ovos de *A. aegypti* mantidos em área interna - insetário e em área externa, em diferentes tipos e períodos de armazenamento.

2.2 ESPECÍFICOS:

2.2.1 Calcular as médias de eclosão das larvas eclodidas dos ovos de *A. aegypti* mantidos na área externa e no insetário, armazenados em copos, envelopes e sacos plásticos.

2.2.2 Obter as taxas de eclosão total e diária das larvas dos ovos de *A. aegypti* armazenados

2.2.3 Registrar as alterações morfológicas ocorridas nos ovos nos períodos de armazenamento, por meio de observações de microscopia eletrônica de varredura.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Formação de ovoteca

Na realização dos testes, formou-se uma ovoteca com amostras de ovos de *A. aegypti*, obtidos com a utilização de armadilhas – APO (Armadilhas para ovos), colocadas em vários bairros da cidade para evitar o endocruzamento na colônia (Figura 1).



Figura 1. Armadilha para ovos de *A. aegypti* em áreas peridomiciliar.

Estas eram colocadas no peri e intradomicílio das residências e recolhidas após 7 dias. A seguir eram levadas ao Laboratório de Malária e Dengue do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia onde se colocava a palheta de eucatex para secar. Depois se realizava a observação da presença de ovos e mergulhavam-se as palhetas em bacias com água, individualizadas por bairros de coleta e acrescentava-se o alimento constituído de uma mistura contendo 1 g de pó de fígado para 8 g de farinha de peixe, diluídos em 1 litro de água para assegurar o desenvolvimento das larvas (Scarpassa & Tadei, 1990). Ao

chegarem na fase de pupa, estas eram recolhidas usando-se pipetas plásticas e colocadas dentro de gaiolas de madeira teladas, onde ocorre a emergência dos adultos. Estes eram alimentados com uma solução de água açucarada colocada em um erlenmayer de 30 mL (Figura 2).

Nas gaiolas, os alados realizavam o acasalamento e a oviposição. Usaram-se copos plásticos de 100 ml contendo cerca de 20 ml de água, com as laterais forradas com uma faixa de papel filtro medindo 3 cm de altura por 22 cm de comprimento, destinadas à deposição dos ovos pelas fêmeas (Figura 3). Três vezes por semana utilizava-se um hamster (*Mesocricetus auratus*) na alimentação das fêmeas.

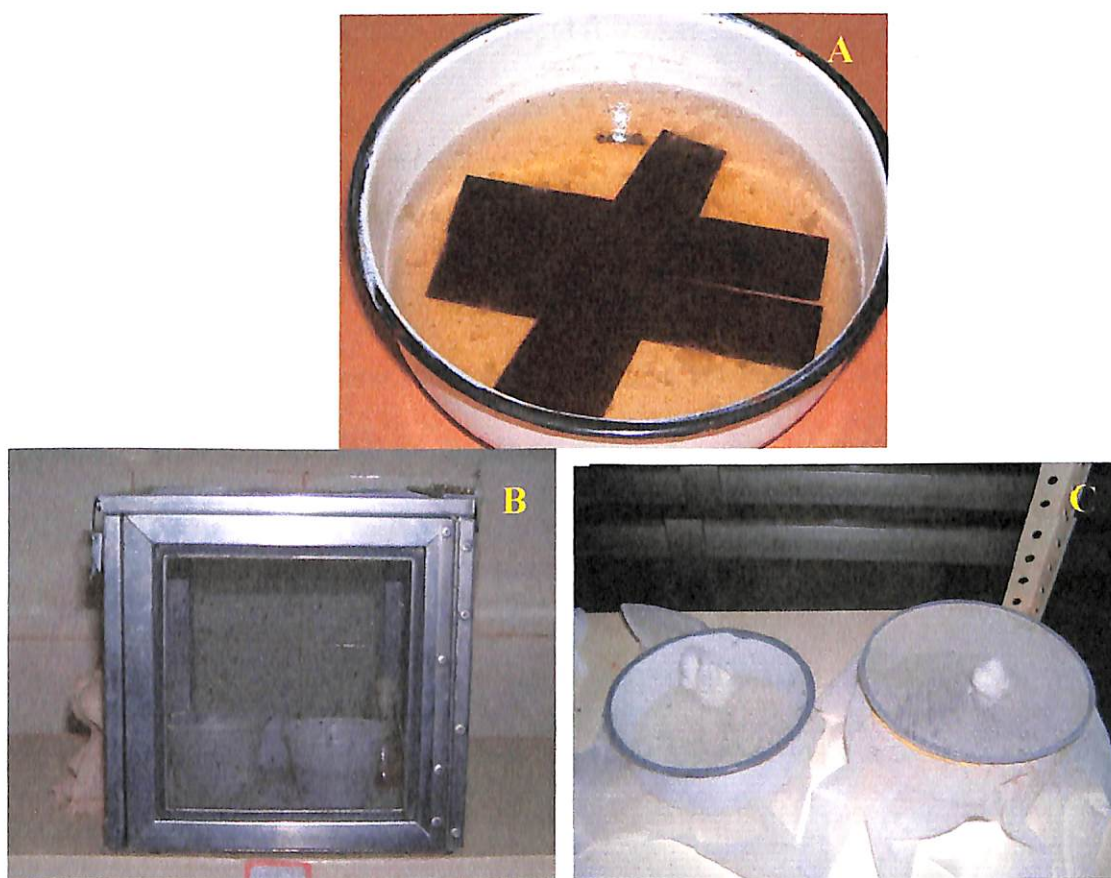


Figura 2 - A. Palhetas de eucatex mergulhadas na água para eclosão dos ovos de *A. aegypti* coletados nas armadilhas. B. Gaiolas para acasalamento e postura. C. Bacias onde ocorre a emergência dos adultos.



Figura 3. Copo plástico forrado com papel filtro nas laterais para deposição dos ovos.

3.2 Contagem e armazenamento dos ovos

Após serem retiradas das gaiolas, as faixas de papel de filtro, contendo os ovos aderidos e denominadas cartelas, eram deixadas durante 72 horas nos copos plásticos contendo água até cerca de 1 cm de altura, para o desenvolvimento adequado do embrião. Após esse período retirava-se a água e as faixas eram deixadas no ambiente por 24 horas, tempo necessário para a completa evaporação do papel de filtro. Em seguida, retirava-se o papel com os ovos (cartela) e fazia-se a contagem e o armazenamento nos envelopes de papel (Tipo ofício médio), sacos plásticos (200 ml) e copos plásticos de 100 ml abertos (Figura 4).



Figura 4. Tipos de armazenamento em que os ovos de *A. aegypti* foram mantidos: Envelopes de papel, copos plásticos e sacos plásticos.

Nessas três condições, as cartelas foram armazenadas em área interna – insetário, sob temperatura (26-27°C) e umidade (80-100%) constantes e em área externa, em meio à vegetação, onde foi feita uma cobertura de zinco para evitar a ação da chuva. Em ambos os ambientes, os lotes de ovos, nos três tipos de armazenamento foram abrigados em dois armários de madeira, todo telado com malha de 2 mm de espessura, para evitar a ação dos predadores. Um dos armários ficou dentro do insetário, e o outro foi colocado sobre um suporte de aproximadamente 1 m de altura, localizado em área externa, no meio da vegetação, com cobertura parcial (Figura 5 A e B).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram colocados para eclodir, ovos armazenados por 12, 19, 32, 61, 89, 118, 158, 186, 240 e 271 dias. A viabilidade foi medida por meio das médias de eclosão, considerando três cartelas retiradas ao acaso entre cinco armazenadas para cada modalidade (copo, envelope e saco plástico) e dos dois ambientes (área externa e insetário). Como parâmetro para comparações, utilizou-se as médias e as taxas de eclosão das larvas eclodidas de ovos com três dias de oviposição, sem armazenamento.

As taxas de eclosão para cada período de armazenamento foram obtidas dividindo-se a quantidade de larvas eclodidas pelo total de ovos das três cartelas de cada tipo colocadas na água.



A



B

Figura 5. Locais onde os lotes de ovos de *A. aegypti* foram mantidos por diferentes períodos. A. Insetário com temperatura e umidades controlada. B. Área externa rodeada por vegetação e com cobertura.

3.3 Testes de viabilidade

Utilizaram-se bacias plásticas com 1,5l de água de poço artesiano, onde eram mergulhadas as cartelas de papel com os ovos, e acrescentava-se cerca de 10 ml do alimento usado para as larvas (Figura 6). Usaram-se três cartelas, de cada tipo de armazenamento, totalizando nove bacias de cada de ambiente. Realizavam-se as observações da quantidade de larvas presentes nas cubas, três vezes ao dia: 8:00 h, 13:00 h e 18:00 h durante 10 dias. Esse tempo de observação foi determinado com base em experimento piloto em que foram feitas leituras até 25 dias, não mais se verificando eclosões após o 10º dia. Outro aspecto considerado é que depois de 15 dias o papel filtro mergulhado na água começa a se desfazer, dificultando a limpeza das bacias e a continuidade das observações. Na realização dessas leituras utilizava-se lanterna e lupa manual para visualização das larvas recém eclodidas e pipetas plásticas para recolhimento das mesmas (Figura 7). Era feita a reposição da água de acordo com a evaporação e a limpeza das bacias realizada uma vez por semana.



Figura 6. Bacias plásticas onde eram mergulhadas as faixas de papel filtro com os ovos de *A. aegypti* para observação da eclosão.

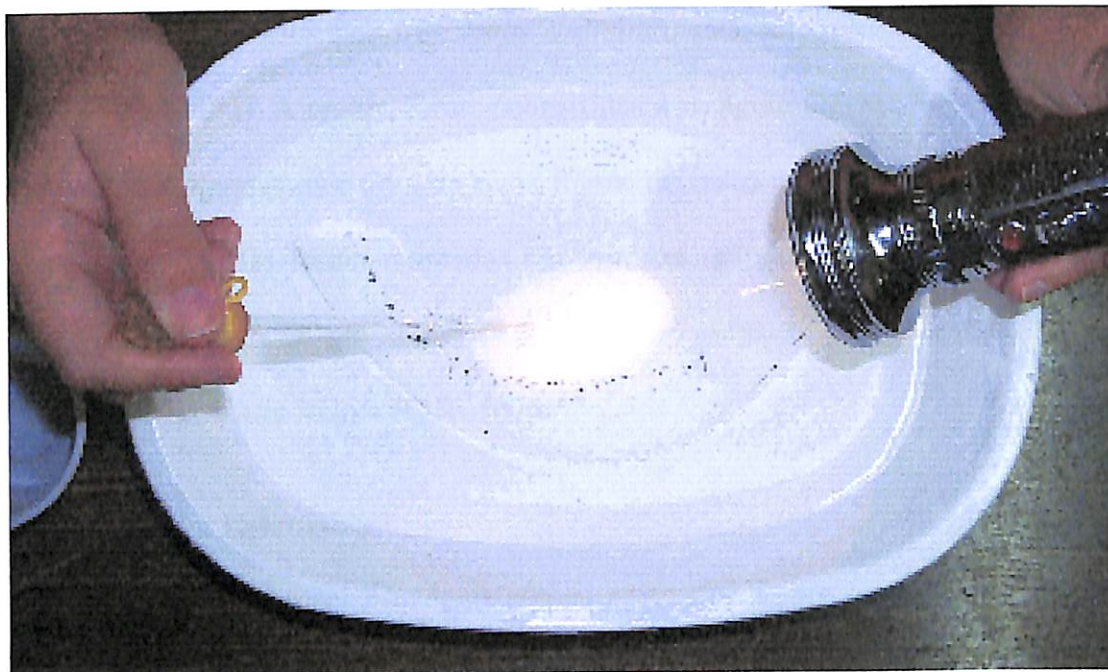


Figura 7. Contagem das larvas eclodidas com a utilização de pipeta Pasteur e auxílio de uma fonte luminosa (lanterna).

3.4 Análise em microscopia eletrônica de varredura – MEV

Foram feitas observações em microscópio eletrônico de varredura para se verificar as alterações morfológicas ocorridas nos ovos com o decorrer do tempo e de acordo com o tipo de armazenamento estas foram realizadas no Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisas René Rachou (FIOCRUZ-MG).

Foram retirados cerca de 20 exemplares de ovos de cada período, totalizando 120 ovos de diferentes idades: 61, 89, 118, 186, 240 e 271 dias, de todos os tipos de armazenamento e dos dois ambientes, que foram fixados por 72 horas, em solução contendo 2,5% de glutaraldeído em tampão cacodilato 0,1M, pH 7,2. A seguir, os ovos foram lavados três vezes em PBS e pós-fixados em solução contendo 1% de tetróxido de ósmio e 0,8% de ferricianeto de potássio (Pimenta & De Souza, 1983) também por duas horas à temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Depois da pós-fixação, as amostras foram

lavadas em tampão PBS por três vezes e desidratadas em concentrações crescentes de acetona (30 a 100%). A seguir, foram submetidas à secagem rápida através do aparelho de ponto crítico (algumas amostras de ovos foram deixadas secar a temperatura ambiente), ambas as preparações foram montadas em suportes apropriados e metalizadas com uma fina camada de ouro 18 nm, a fim de serem observadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de varredura Marca JEOL 5600.

3.5 Análise Estatística

A análise dos fatores principais e suas interações foram realizadas com o seguinte modelo (fatorial), com a finalidade de medir a eclosão média das larvas dos ovos de *A. aegypti* mantidos em diferentes condições:

$$I - \eta_i = \mu_i + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij}$$

Onde;

μ_i - representa a média geral.

τ_i - representa o efeito do i-ésimo nível do fator localização;

β_j - representa o efeito do j-ésimo nível do fator tipo de armazenamentos;

γ_k - representa o efeito do k-ésimo nível do fator tempo de armazenamentos;

$(\tau\beta)_{ij}$ - representa o efeito da interação localização*tipo de armazenamentos.

Também, foi utilizado o seguinte modelo linear generalizado com preditor linear simples, $\hat{\mu}_i = m_i \frac{\exp(2,8589 - 0,0291 * \beta_1)}{1 + \exp(2,8589 - 0,0291 * \beta_1)}$ para demonstrar a taxa de eclosão dos lotes de ovos armazenados nos diferentes períodos.

Utilizou-se a transformação por Box-Cox, para a normalização dos dados em estudo. Na realização dos testes de comparações múltiplas utilizou-se o teste de Tukey para comparar os fatores principais e as interações que foram significativas.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

Nos testes da viabilidade dos ovos de *A. aegypti* realizados neste trabalho utilizou-se um total de 27.651 ovos, sendo 14.064 armazenados na área externa e 13.587 no insetário. Na Tabela 1, estão as quantidades utilizadas por período e em cada tipo de armazenamento.

Tabela 1. Quantidade de ovos de *A. aegypti* usados nos testes de viabilidade em diferentes períodos.

Períodos de Armaz. (dias)	Quantidade de ovos					
	Area Externa			Insetário		
	Copo	Env	Saco	Copo	Env	Saco
12	485	521	525	548	560	487
19	558	608	493	631	500	619
32	442	535	606	402	450	606
61	478	475	438	488	343	468
89	498	390	525	609	353	419
118	485	528	494	377	538	397
158	594	333	535	493	413	347
186	448	498	545	448	498	545
240	303	249	499	318	434	383
271	264	290	337	149	340	424
Total	4555	4427	4997	4463	4429	4695

Armaz = Armazenamento Env = Envelope

4.1. Análise Estatística

A Análise de Variância (Tabela 2) mostrou que existem diferenças significativas entre os períodos de viabilidade dos ovos de *A. aegypti*, considerando-se a localização, os tipos de armazenamento e os tempos. Em relação às interações, os testes mostraram ser significativos - localização/tipo de armazenamento e não significativos - localização/tempos de armazenamento.

Tabela 2. Análise de Variância (ANOVA) da viabilidade dos ovos de *A. aegypti* armazenados em diferentes condições para os fatores analisados e suas interações.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio	Teste F	P
Localização	1	6,889	30,40	0,0001*
Tipos de armaz	2	4,001	17,66	0,0001*
Tempos de armaz.	9	1,230	49,56	0,0001*
Localização/tipos	2	3,617	15,96	0,0001*
Localização/tempo	9	0,347	1,46	0,235

* - significativo

O teste de Tukey mostrou que existe diferença significativa entre as médias de eclosão dos ovos de acordo com a localização (Tabela 3). Os lotes de ovos mantidos no insetário apresentaram média maior – 32,38 , do que a obtida para os lotes de ovos mantidos na área externa – 7,46 (Figura 8).

Tabela 3. Média de eclosão das larvas dos ovos de *A. aegypti* nos dois ambientes.

Local	Média	Desvio-padrão	IC – 95%
Área externa	7,46 a	6,927	4,872-10,045
Insetário	32,38 b	54,499	12,033-52,733

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.
IC = Intervalo de Confiança

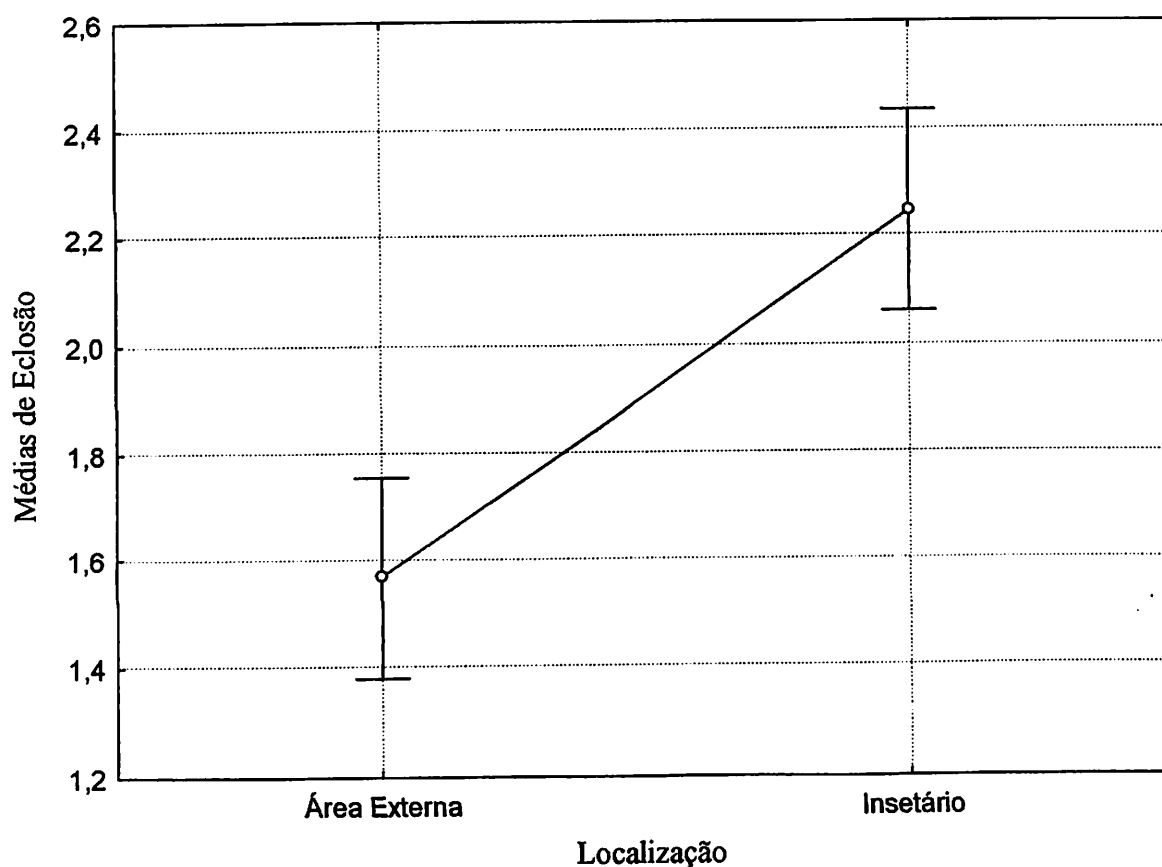


Figura 8. Médias de eclosão das larvas dos ovos de *A. aegypti* armazenados na área externa e no insetário, transformados por Box-Cox.

Os resultados referentes aos tipos de armazenamento (Tabela 4) mostraram que as médias obtidas para os copos foram significativamente maiores - 44,46 , do que as médias obtidas para os sacos plásticos e os envelopes - 8,02 e 7,27 , respectivamente (Figura 9).

Tabela 4. Média de eclosão das larvas dos ovos nos três tipos de armazenamento.

Recipientes	Médias	Desvio-padrão	IC - 95%
Copo	44,464 a	63,701	14,651-74,276
Envelope	7,274 b	6,232	4,358-10,191
Saco plástico	8,024 b	7,002	4,747-11,300

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Tukey.
IC = Intervalo de Confiança

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta dos espécimes

As amostras estudadas foram mosquitos adultos e formas imaturas de *A. aegypti* coletados nos meses de fevereiro a junho de 2003, em domicílios com casos suspeitos de dengue, situados em diferentes bairros da cidade de Manaus (Figura 1). Coletaram-se mosquitos adultos fêmeas e machos e formas imaturas que correspondiam a larvas e pupas objetivando investigar a possibilidade de transmissão transovariana do vírus dengue. Os adultos foram agrupados por bairros, mês e sexo, em lotes que variaram de 1 a 34 mosquitos. As formas imaturas seguiram o mesmo método utilizado para os adultos, sendo que os lotes variaram de 4 a 49.

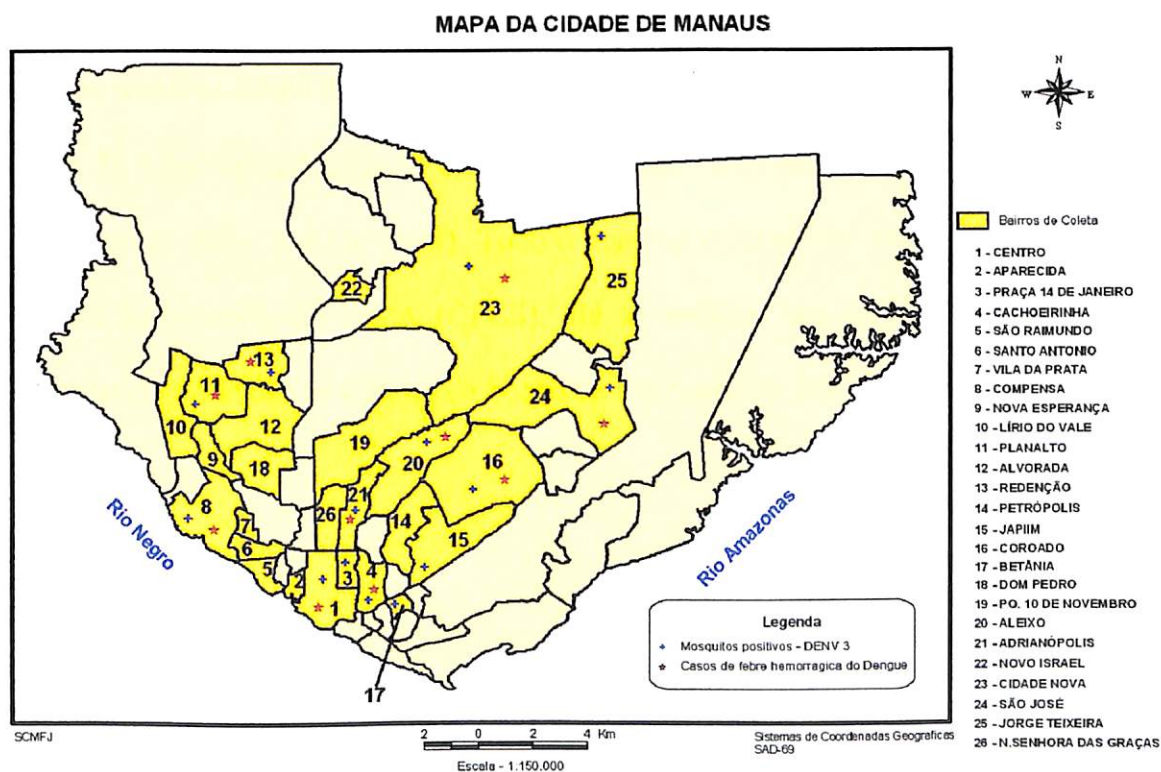


Figura 1. Mapa da cidade de Manaus-AM, mostrando os bairros de coleta dos mosquitos *A. aegypti*.

Nas capturas dos alados utilizou-se aspirador mecânico, o qual era constituído por um tubo de polietileno de aproximadamente 1 m de comprimento, e era movimentado embaixo dos móveis e nas partes mais elevadas da residência para aspiração dos mosquitos que estivessem em repouso. Esse tubo era ligado a uma bateria que provocava um fluxo de ar que puxava os mosquitos para seu interior (Figura 2 A e B). Realizava-se a aspiração em todos os cômodos do imóvel e na área peridomiciliar em que houvesse possibilidade de abrigar mosquitos. A seguir, os espécimes eram anestesiados com clorofórmio, transferidos para copos parafinados e colocados no interior de caixas de isopor, para manter a umidade necessária para mantê-los vivos durante o transporte para o Laboratório de Malária e Dengue do INPA. Procedia-se a identificação no microscópio estereoscópico e os espécimes eram agrupados por bairros, mês e sexo, em lotes que variaram de 1 a 34 mosquitos.

Os imaturos foram coletados nos recipientes artificiais utilizando-se pipetas plásticas (Figura 3), e após a identificação eram lavados duas vezes em água destilada para retirada das impurezas (Klin & Klin, 1983). Todo o material coletado foi estocado em freezer a -70°C no Laboratório do INPA (CPCS), até as análises nos Laboratórios de Biologia Molecular e de Cultura de Células da Seção de Arbovírus do IEC (Belém-Pará).



A



B

Figura 2 A e B. Coletas de alados de *A. aegypti* nas residências de Manaus-AM usando o capturador elétrico de sucção.



Figura 3. Coleta de larvas de *A. aegypti* em recipientes artificiais nas residências de Manaus-AM.

3.2 Preparação dos espécimes

Os espécimes foram macerados com gral e pistilo de vidro em solução de PBS (tampão salina fosfato pH 7,4) contendo albumina bovina a 0,75%, penicilina (100 UI/mL) e estreptomicina (100 $\mu\text{g/mL}$), de acordo com o Protocolo de Reynes (Reynes, 1995). Em seguida, o sobrenadante foi filtrado usando-se filtros Millex – HV com porosidade de 0,45 μm e membrana de 4mm de diâmetro, ao qual se acoplava uma seringa de 1mL. A solução resultante foi armazenada a -70°C até a realização da extração do RNA.

3.3 Extração do RNA viral

A obtenção do RNA viral foi realizada utilizando-se o método do Trizol LS Reagente, seguindo o protocolo do fabricante.

3.4 Transcriptase Reversa-RT e Semi-Nested-PCR

As reações da RT-PCR foram realizadas de acordo com o protocolo de Lanciotti *et al.* (1992), utilizando-se primers específicos. Na primeira reação de RT-PCR foi utilizado os seguintes primers: DCON 1 forward (5' - TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG - 3') DCON 2 reverse (5' - TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC - 3') na concentração final de 20 μ M cada na reação de 50 μ L. Na segunda amplificação, o produto de PCR obtido foi diluído em água livre de nuclease na proporção de 1:100, usados os seguintes primers: primer forward DCON 1, primers reverse TS1 (5' - CGTCTCAGTGATCCGGGGG - 3'), TS2 (5' - CGCCACAAGGGCCATGAACAG - 3'), TS3 (5' - TAACATCATCATGAGACAGAGC - 3') e TS4 (5' - CTCTGTTGTCTAAAACAAGAGA - 3') na concentração final de 20 μ M cada na reação de 50 μ L. O produto de PCR obtido, foi analisado em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio.

3.5 Isolamento Viral

Suspensões dos lotes de mosquitos adultos 1:10 foram inoculadas em cultura de células de *A. albopictus* clone C6/36 crescidas em meio Leibowitz modificado com glutamina (L15), acrescido de tryptose fosfato (10%), aminoácidos não-essenciais (1%), antibióticos [penicilina (100 U/ml) e estreptomicina (100 μ g/ml), e 5% de soro bovino fetal (SBF) para o meio de crescimento e 2% para o de manutenção. As culturas de células de *A.*

albopictus clone C6/36 foram observadas quanto ao aparecimento de efeito citopático (CPE).

3.6 Identificação dos vírus isolados

As culturas de células de *A. albopictus* clone C6/36 inoculadas foram submetidas a testes de imunofluorescência indireta (IFI) usando anticorpos monoclonais para os quatro sorotipos do vírus dengue como descrito previamente por Gubler *et al.* (1984) e como controle negativo foram usadas células não infectadas.

3.7 Sequenciamento

A amostra AM AR671089 positiva por RT-PCR foi analisada por sequenciamento nucleotídico na região gênica correspondente ao envelope viral. O RNA obtido foi utilizado para preparação de um DNA complementar (cDNA) de 1550 pares de bases, com o uso de primers específicos P992 e CP2550 (20) e as enzimas transcriptase reversa e polimerase de alta fidelidade (PlatinumTaQ e Superscript II – Invitrogen), seguindo orientações do fabricante e temperatura de anelamento ideal dos referidos primers. A seguir foram purificados com kit de purificação da Qiagen, quantificado e sequenciado em Sequenciador Automático ABI Prism 377, utilizando o kit Big Dye Terminator 3.0 e primers específicos para determinação da seqüência nucleotídica (forward- P1685 e reverse-CP2550). As seqüências nucleotídicas obtidas foram montadas em software SeqMan (DNASTAR) para montagem do contig e seqüência consenso, analisadas e alinhadas em Software Clustal W com seqüências já registradas ou não em banco de dados do GenBank.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

Foram coletados 1.816 mosquitos em 35 localidades de 26 bairros da cidade de Manaus, sendo 674 (31,1%) adultos e 1.142 (68,9%) formas imaturas nos meses de fevereiro a junho, que é o período de maior índice pluviométrico e que corresponde também com a maior ocorrência de dengue em Manaus. Na Tabela 1 é mostrada a quantidade de exemplares capturados em cada bairro. Os adultos estão distribuídos por sexo.

Tabela 1. Quantidade de formas imaturas e adultos de *A. aegypti* capturados nos bairros de Manaus-AM no período de fevereiro a maio de 2003.

Localidades	Nº de Exemplares (formas imaturas)	Formas adultas	
		Fêmeas (♀)	Machos (♂)
Redenção	28	10	3
Japiim	26	27	30
Coroado I	-	2	-
Coroado II	10	2	2
Coroado III	-	9	13
Conj. Kissia I	-	5	2
Conj. Dom Pedro II	-	24	5
João Paulo II	21	2	1
Conj. Eldorado	-	5	1
Aparecida	-	2	1
Aleixo	165	38	49
Petrópolis	95	4	1
São José	26	6	5
Compensa I	-	7	21
Compensa III	127	4	1
Cidade Nova	4	3	-
Praça 14	141	25	18
Santo Antônio	-	1	-
Alvorada I	113	21	12
Conjunto Ajuricaba	16	11	3
Centro	167	58	47
Adrianópolis	21	42	25
Tiradentes	-	5	1
Compensa II	7	4	4
Cachoeirinha	57	13	18
Lírio do Vale	26	-	-
Novo Israel	56	6	7
Ouro Verde	9	16	24

Conjunto Vieira Alves	27	2	1
São Raimundo	-	3	-
Betânia	-	5	-
Nova Jerusalém	1	-	-
Nova Esperança	-	3	-
Vila da Prata	-	5	4
Não identificado	-	3	1
Total	1142	374	300

Do total de 82 lotes analisados por RT-PCR, 15 foram positivos para presença de vírus dengue do sorotipo DENV 3, gerando uma positividade de 18% (Tabela 2). A localização dos bairros onde foram encontrados mosquitos positivos para o dengue pode ser visualizada na Figura 1. Todos os lotes positivos eram constituídos de fêmeas, a maioria ingurgitada. Na Figura 4 pode-se observar as amostras de DNA submetidas a eletroforese em gel de agarose a 2%. Nos 176 machos testados, não foi encontrado nenhum positivo. Foram analisados também 59 lotes de imaturos, não sendo detectado nenhum vírus dengue.

Tabela 2. Relação dos pools de mosquitos positivos na RT-PCR por bairros em Manaus-AM.

Nº Registo	Quantidade de Mosquitos/pool	Localidades
Ar 671 061	8♀	Redenção
Ar 671063	26♀	Japiim
Ar 671084	4♀	São José
Ar 671088	3♀	Cidade Nova
Ar 671089	5♀	Compensa I
Ar 671091	23♀	Praça 14 de Janeiro
Ar 671097	31♀	Centro
Ar 671099	34♀	Adrianópolis
Ar 671101	5♀	Conjunto Tiradentes
Ar 671116	19♀	Aleixo
Ar 671119	5♀	Betânia
Ar 671120	27♀	Centro
Ar 671122	16♀	Ouro Verde
Ar 671139	1♀	Japiim
Ar 671140	7♀	Conjunto Ajuricaba

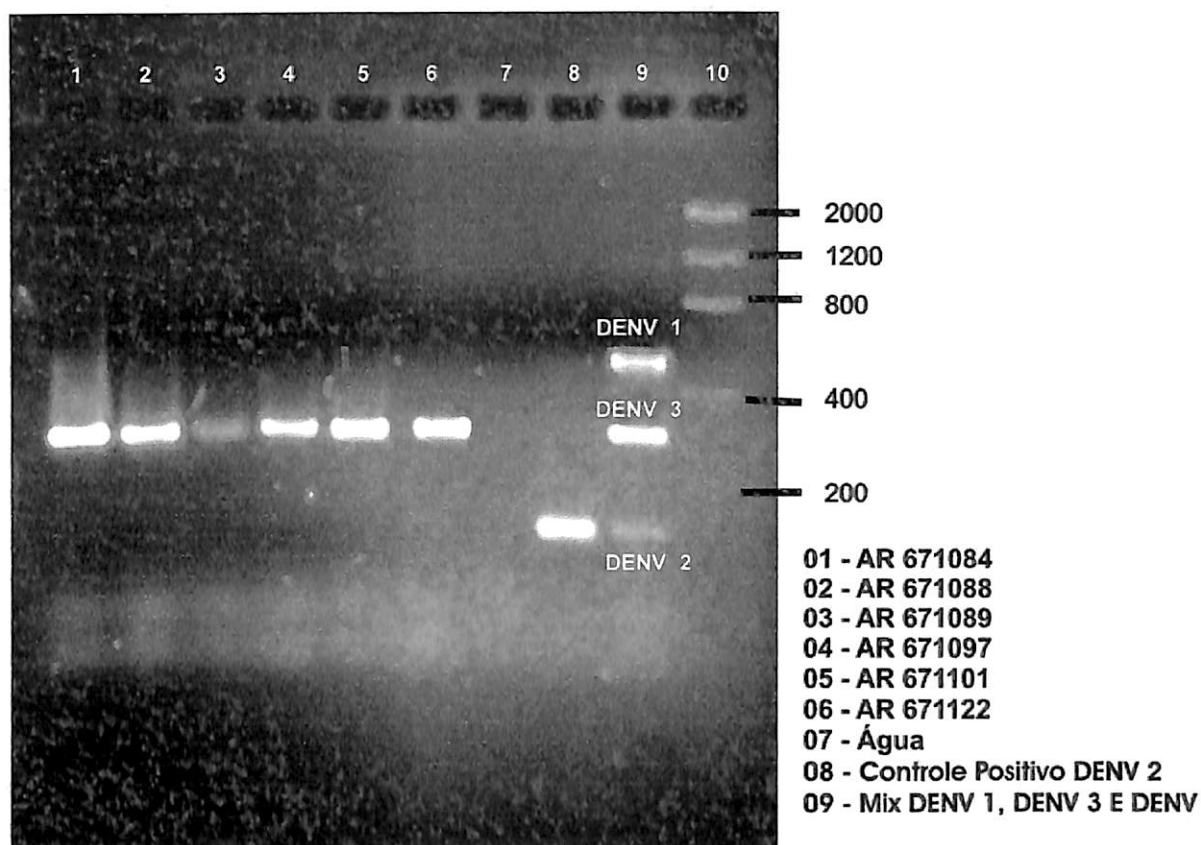


Figura 4. Produto de RT-PCR em gel de agarose 2% corado com Brometo de Etídio

Sete amostras positivas por RT-PCR foram também cultivadas em cultura de células C6/36 para isolamento viral, sendo que de duas foram isoladas o DENV 3 após sucessivas passagens, visto que apresentou uma baixa carga (título) viral (Figura 5). As oito demais amostras foram esgotadas, não se obtendo resultado positivo em cultura celular (Figura 6). Esses resultados ratificaram aqueles obtidos pela RT-PCR.

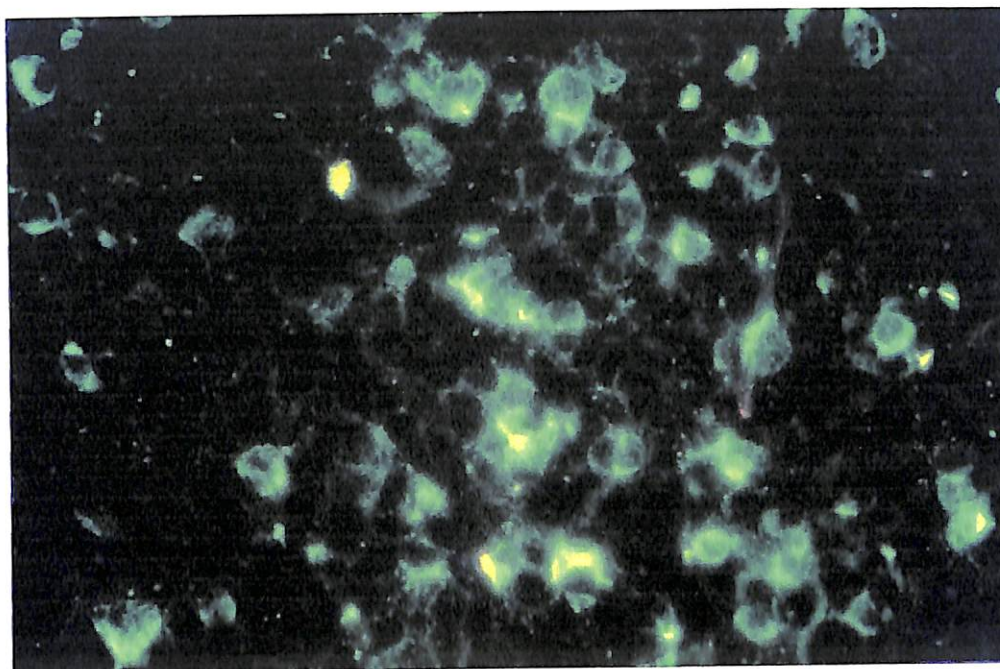


Figura 5. Anticorpos monoclonais para Imunofluorescência Indireta testados, identificando sorotipo DENV 3 em cultura de células C6/36

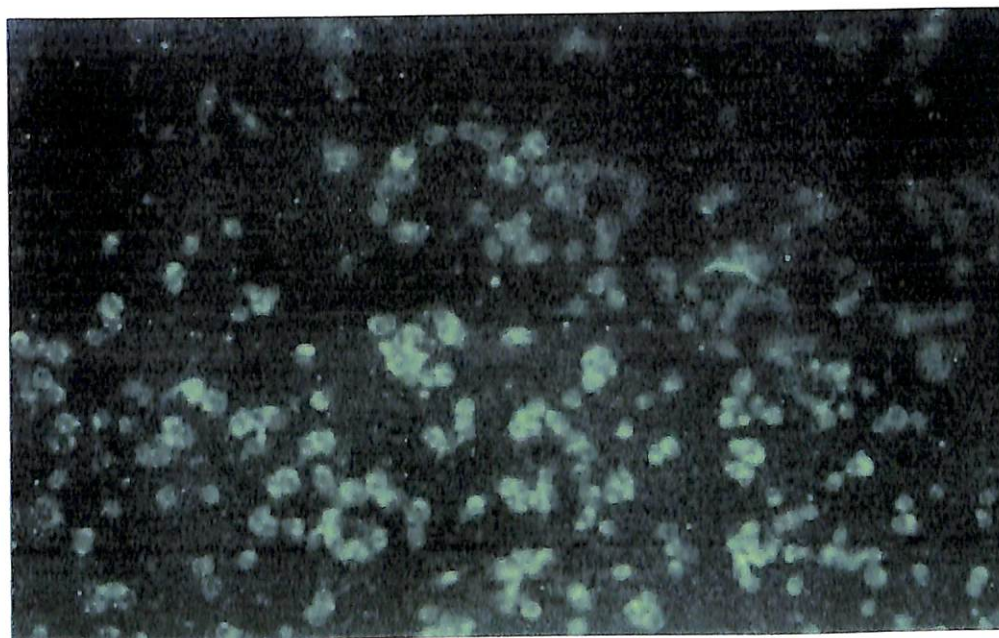


Figura 6. Anticorpos monoclonais para Imunofluorescência indireta em cultura de células C6/36 não infectadas

A amostra AR671089 foi sequenciada para o gene da proteína de envelope (E) e obteve-se 746 pares de bases, que ao ser comparada com as oito amostras do DENV 3 depositadas no Genbank apresentou um alto grau de homologia com o subtipo III como pode ser visto na Tabela 3 e Anexo 1.

Tabela 3. Análise de Homologia de nucleotídeos da amostra AR 671089 com 8 amostras obtidas no banco de dados GenBank

	Brasil/ AM	Brasil/ RJ	Filipinas	SriLanka	Moçambique	Malásia	Porto Rico	Martinica
AR671089	95%	94%	85%	94%	94%	85%	82%	95%

Número de acesso das amostras no Genbank: Amazonas (AM) – AY632355; Rio de Janeiro (RJ) – AY038605; Filipinas – L11423; SriLanka – L11437; Moçambique – L11430; Malásia –L11428 ; Porto Rico – L11434; Martinica – AY099338.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O dengue é no Brasil, é a arbovirose com maior número de casos notificados no Ministério da Saúde, e se observa na série histórica uma clara tendência de crescimento. Mais de três milhões casos de dengue clássico foram notificados oficialmente no país entre 1986 e 2003, com cerca de 5.000 casos de FHD, a maioria deles ocorrendo nos últimos três anos, principalmente nos estados do Rio de Janeiro, Ceará e Pernambuco. No país circulam três dos quatro sorotipos; O DENV 1 desde 1986, o DENV 2 a partir de 1990, e o DENV 3 de 2000 até o presente (MS, 2003).

Em todo o mundo, o diagnóstico de dengue nos laboratórios de saúde pública tem sido realizado principalmente por sorologia, e em alguns, também por isolamento viral, o que tem permitido monitorar mesmo precariamente a circulação dos sorotipos. Mais recentemente, o uso da biologia molecular tem permitido não somente agilizar o tempo para o diagnóstico virológico, como permitiu que estudos sobre os genótipos de um dado sorotipo fosse realizado, principalmente nos países desenvolvidos.

Trabalhos utilizando-se a técnica da RT-PCR em mosquitos já vêm sendo realizados em outras partes do mundo desde a década de 90 com o objetivo de conhecer as taxas de infecção em vetores e monitorar a introdução de novos sorotipos em áreas com circulação prévia de outros sorotipos (Chung & Pahg, 2002; Kow *et al.*, 2001; Chow *et al.*, 1998; Chungue *et al.*, 1993; Harris *et al.*, 1998; Romero-Vivas *et al.*, 2000; Urdaneta *et al.*, 2004). A maior parte desses trabalhos foi realizada na Ásia, continente em que a incidência de FHD e SCD é muito elevada e onde há circulação dos quatro sorotipos.

No Brasil, o uso da RT-PCR é recente e ainda não é empregada amplamente em estudos epidemiológicos utilizando amostras de mosquitos. Porém, alguns trabalhos nesse sentido já foram realizados (Degalier *et al.*, 2003), e mais recentemente no Rio de Janeiro

(Lourenço-de-Oliveira *et al.*, 2002) analisaram mosquitos *Aedes* para detecção dos vírus dengue, e também encontraram positividade para o DENV 3.

Manaus é a única cidade da Amazônia brasileira a registrar um número elevado de casos graves de dengue. Belém, cidade de porte semelhante e que também tem sofrido epidemias pelos mesmos sorotipos desde 1995 (Travassos da Rosa, *et al.*, 2000), não registrou casos de FHD em mais de 84.608 casos notificados, exceto por três óbitos em 2002 (MS, 2003) Diante deste quadro epidemiológico atípico na cidade de Manaus em 2003, decidiu-se estudar a frequência com que mosquitos *A. aegypti*, estavam infectados e por qual sorotipo, usando a técnica de RT-PCR.

Do total de 82 grupos analisados (1.816 mosquitos adultos), detectaram-se 15 grupos de fêmeas positivos para o vírus dengue sorotipo DENV 3. Esse elevado percentual de infecção (18%) pelo sorotipo DENV 3 demonstrou uma importante circulação desse sorotipo em Manaus em mosquitos adultos. Por outro lado, os 59 lotes (1.142 larvas e pupas) de imaturos analisados nesta investigação foram negativos nas duas técnicas empregadas. Este fato pode ser devido à pequena quantidade de espécimes coletados, para análise de transmissão vertical do vírus dengue que normalmente exige grande quantidade de larvas estudadas (Klin & Klin, 1983; Hull *et al.*, 1984; Joshi *et al.*, 2002).

Sete amostras positivas pela técnica de RT-PCR também foram analisadas pela técnica de sorotipagem padrão ouro, representada pela tentativa de isolamento viral em células de *A. albopictus* (C6/36) seguida de imunofluorescência indireta (Gubler *et al.*, 1984). Obteve-se positividade em dois lotes (25,6%) de mosquitos adultos fêmeas, confirmando o isolamento do vírus DENV 3 nas amostras coletadas em Manaus-AM. As demais amostras não foram utilizadas pois a quantidade de RNA extraída foi totalmente utilizada nos testes de RT-PCR. Os dados obtidos neste trabalho mostraram que a RT-PCR apresenta maior sensibilidade que a técnica de isolamento viral em cultivo celular, para

detectar o vírus dengue. De fato, diversos autores têm referido maior sensibilidade da RT-PCR quando comparada ao isolamento viral em cultura celular (Lanciotti *et al.*, 1992; Harris *et al.*, 1998). Isto se deve, por a RT-PCR conseguir amplificar o genoma viral mesmo quando o número de partículas virais está abaixo da capacidade da cultura isolar o vírus dengue.

Para confirmação da RT-PCR e determinação do genótipo circulante do DENV 3, realizou-se o sequenciamento nucleotídico da amostra AR671089, e após alinhamento com seqüências já registradas no GENBANK foi possível determinar tal característica genética conforme visto na Tabela 3 e Anexo 1, o vírus DENV 3 detectado está estritamente relacionado ao subtipo III, que corresponde ao grupo que tem como seu principal representante os vírus do Sri Lanka, na Ásia e corroboram com a caracterização já determinada do primeiro isolado de DENV 3 no Brasil, no Estado do Rio de Janeiro (Miagostovich *et al.*, 2002).

Um fato intrigante e que merece ser discutido é de qual a razão de somente ter sido detectado DENV 3 nas amostras analisadas. Uma razão que pode ter colaborado, é que em anos anteriores circularam os sorotipos DENV 1 e DENV 2, e obviamente, parte da população se infectou com esses sorotipos do dengue e, com a introdução do DENV 3, a totalidade da população se encontrava susceptível a este sorotipo, o que pode ter facilitado a sua dispersão, e obviamente a maior facilidade de detectar e isolar o DENV3. De fato, experiências anteriores mostraram que, quando um novo sorotipo de dengue é introduzido numa comunidade, há uma sensível diminuição da circulação dos demais sorotipos existentes (WHO, 1997; Rigau-Pérez *et al.*, 2002; Urdaneta *et al.*, 2004). Ademais, os dados oficiais do MS (2003), confirmam esses resultados, pois para 2003 há notificação oficial de isolamentos apenas do DENV 3 (SINAM, 2004).

Esses resultados confirmam a ampla disseminação do DENV 3, que foi introduzido no Brasil, no final de 2000 (Nogueira *et al.*, 2001) na cidade do Rio de Janeiro, ocasionando uma grande epidemia em 2002, com elevado número de casos de FHD e síndrome de choque do dengue (SCD).

Em Manaus, a primeira detecção do sorotipo DENV 3 foi realizada em 2002 em amostra de paciente com suspeita de dengue (Araújo *et al.*, 2003). Assim, os resultados desse trabalho indicam um risco aumentado de ocorrência da FHD da circulação desse sorotipo na cidade. Vários outros fatores também favorecem o risco de epidemia, sendo os mais importantes, a presença do vetor *A. aegypti* em índices elevados, déficit no saneamento básico que facilita o acúmulo de água e permite o acúmulo de lixo, principalmente no período com maior pluviosidade – meses de dezembro a junho.

Com efeito, o período prolongado de chuvas contribui para a formação de uma grande quantidade de criadouros para o *A. aegypti*, garantindo seu ciclo de reprodução e a dispersão por toda a cidade de Manaus (Pinheiro & Tadei, 2002). A Figura 1 mostra que o vírus foi detectado em diferentes áreas da cidade, e que, em alguns desses bairros também foram registrados casos de FHD. Os dados de Bastos *et al.* (2004), relativo ao inquérito sorológico para detectar anticorpos para *Flavivirus*, utilizando 309 amostras da população de Manaus, mostraram infecção secundária na população de nove bairros. Destes, as análises por PCR registraram mosquitos positivos para DENV 3 em quatro deles - Cidade Nova, Centro, Compensa e Japiim. Esse fato é mais uma evidência que corrobora os dados desse trabalho que revelaram uma ampla circulação do DENV 3 em Manaus em 2003, uma vez que 18% dos mosquitos estavam infectados.

Diante das dificuldades para realização do diagnóstico dos sorotipos do vírus dengue que ocorrem durante grandes epidemias, principalmente pelo isolamento viral em cultivo celular, por ser trabalhoso e demorado (WHO, 1997), o monitoramento da circulação viral

com a técnica da RT – PCR em mosquitos, apresenta-se como alternativa, pois permite identificar com rapidez e total confiabilidade os níveis de disseminação do vírus em determinadas áreas.

Epidemias de dengue podem atingir níveis globais dentro de uma cidade e mesmo de um país em questões de dias, ocasionando um caos no sistema de saúde pública. A ocorrência de FHD, torna a situação crítica no atendimento dos pacientes que necessitam de acompanhamento hospitalar. Em regiões tropicais, as condições climáticas favorecem sobremaneira epidemias de grande amplitude e na cidade de Manaus, localizada no centro da maior floresta tropical do mundo, existem as características climáticas ideais tanto para a circulação viral como para a reprodução do vetor *A. aegypti*, por apresentar durante a maior parte do ano, temperatura, umidade e índices pluviométricos elevados. Nessa região a forma de prevenir o dengue é por meio do controle do vetor de forma mais direcionada nas áreas em que já foi detectada a circulação do vírus, impedindo sua disseminação.

No Brasil, poucos estudos se voltaram para a detecção viral do dengue em mosquitos (Nogueira *et al.*, 1988; Vasconcelos *et al.*, 1998; Lourenço-de-Oliveira *et al.*, 2002), e menos ainda para a detecção do vírus em mosquitos usando a RT-PCR. Muitas pesquisas restringem-se à análise dos dados epidemiológicos, por meio de diagnóstico laboratorial, em amostras de soro de pacientes quando a epidemia já se estabeleceu. Investigação das taxas de infecção em mosquitos fornece informações sobre o sorotipo circulante numa localidade, antes que a doença esteja sendo transmitida em níveis elevados, possibilitando a implementação de medidas preventivas evitando epidemias de grandes proporções. O conhecimento dos sorotipos circulantes numa localidade também é fundamental, pois se sabe que alguns vírus causam manifestações clínicas mais severas, fato observado mais comumente em locais com circulação simultânea de outros sorotipos (Vaughn., 2000; Messer *et al.*, 2003).

Os dados deste estudo permitiram concluir que a população de Manaus está sob risco de sofrer uma epidemia ocasionada pelo sorotipo DENV 3 que pode ser acompanhada de aumento dos casos de FHD (Guzman *et al.*, 1998; Gubler, 1997; Isturiz *et al.*, 2000). No entanto, a intensificação das medidas de controle do vetor e a vigilância epidemiológica por meio da assistência imediata aos casos suspeitos, o conhecimento dos sorotipos circulantes nas áreas de maior risco, tanto pelo exame de soro de pacientes quanto pela análise de mosquitos, pode conter a epidemia. Além de evitar a dispersão do DENV 3 na população, a vigilância epidemiológica deverá monitorar a co-circulação dos outros dois sorotipos – DENV 1 e DENV 2, e detectar precocemente a introdução do sorotipo DENV 4, já presente na Venezuela, país que possui ligação terrestre com Manaus por meio de uma rodovia de fluxo intenso.

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

6. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Ahmad, R.; Ismaill, A.; Saat, Z.; Lim, L.H. 1997. Detection of dengue virus from field *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* adults and larvae. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 28:138-142.
- Araújo, G.C.A.; Travassos da Rosa, E.S.; Vasconcelos, H.B.; Nunes, M.R.T, Carvalho C.L.C.; Rodrigues, S.G.; Cruz, A.C.R.; Vasconcelos P. 2003. Sorotipos de dengue isolados no Instituto Evandro Chagas no ano de 2002. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 36(Supl I):16.
- Bastos, M.; Silva, M.N.; Figueiredo, R.M.P.; Tânia, M.C.; Gimaque, J.B.; Castro, J.N.C. 2004. Caracterização do perfil sorológico dos casos de dengue diagnosticados na FMT/IMT – AM (1998-2001). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 36(Supl I):136.
- Chan, S.Y.; Kautner, I.M.; Lam, S.K. 1994. The influence of antibody levels in dengue diagnosis by polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, 315-322.
- Chen, W.J.; Wei, H.L.; Hsu, E.L.; Chen, E.R. 1993. Vector competence of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to dengue 1 virus on Taiwan: development of the virus in orally and parenterally infected mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 524-530.
- Chow, V.T.; Chan, Y.C.; Yong, R.; Lee, K.M.; Lim, L.K.; Chung, Y.K.; Lam-Phua, S.G.; Tan, B.T. 1998. Monitoring of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 58:578-586.
- Chung, Y.K.; Pang, F.Y. 2002. Dengue virus infection rate in field populations of female *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Singapore. *Trop. Med. Int. Health*, 7:322-330.
- Chungue, E.; Roche, C.; Lefevre, M.F.; Barbazan, P.; Chanteau, S. 1993. Ultra-rapid, simple, sensitive, and economical silica method for extraction of dengue viral RNA from clinical specimens and mosquitoes by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.*, 40:142-145.

- Degallier, N.; Teixeira, J.M.S.; Soares, S.S.; Pereira, R.D.; Pinto, S.C.F.; Chaib, A.J.M.; Vasconcelos, P.F.C.; Oliveira, E. 2003. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. *Rev. Saúde Pública*, 37(3):386-7.
- Figueiredo, R.M.P.; Bastus, M.S.; Lima, M.J.L.; Almeida, T.M.C.; Alecrim, W.D. 2002. Dinâmica da sorologia e isolamento viral na epidemia de dengue em Manaus (1998 – 2001). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 35(Supl I):94.
- Gubler, D.J.; Kuno, G.E.; Sather, G.E.; Valez, M.; Oliver, A. 1984. Mosquito cell cultures and monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33:158-165.
- Gubler D. 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: Kuno G.E. (Ed). *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. New York: CAB International. p.1-22.
- Gubler, D.J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11:480-96.
- Gubler, D. J. 2004. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.*, 27:319-330.
- Guzman, M.; Huelva, G.; Saenz, E.; Quiroz, E.; De los Reyes, J.; Balmaseda, A. 1998. Reintroduccion del dengue 3 en las Americas: 1994-1996. *Arch. Venez. Med. Trop.* 2:8-19.
- Harris, E.; Roberts. T.G.; Smith, L.; Selle, J.; Kramer, L.D.; Valle, S.; Sandoval, S.; Balmaseda, A. 1998. Typing of dengue viruses in clinical specimens and mosquitoes by single-tube multiplex reverse transcriptase PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 36:2634-39.
- Hull, B.; Tikasingh, E.; de Souza, M.; Martinez, R. 1984. Natural transovarial transmission of dengue 4 virus in *Aedes aegypti* in Trinidad. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33:1248-1250.
- Isturiz, R.E.; Gubler, D.J.; Brea del Castillo, J. 2000. Dengue and dengue hemorrhagic fever in Latin America and the Caribbean. *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 14:121-40.

- Joshi, V.; Singhi, M.; Chaudhary, R.C. 1996. Transovarial transmission of dengue 3 by *Aedes aegypti*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 90:643-644.
- Joshi, V.; Mourya, D.T.; Sharma, R.C. 2002. Persistence of dengue-3 virus through transovarial transmission passage in successive generations of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 158-161.
- Khin, M.M.; Khin, A.T. 1983. Transovarial transmission of dengue 2 virus by *Aedes aegypti* in nature. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32:590-594.
- Kouri, G.; Guzmán, M.G.; Valdés, L.; Carbonell, I.; Rosario, D.; Vásquez, S.; Laferté, J.; Delgado, J.; Cabrera, M.V. 1984. Reemergence of dengue in Cuba: A 1997 epidemic in Santiago de Cuba. *Emerg. Infect. Dis.*, 4:89-92.
- Kow, C.Y.; Koon, L.L.; Yin, P.F. 2001. Detection of dengue viruses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-specific PCR. *J. Med. Entomol.*, 38: 475-479.
- Lanciotti, R.; Calisher, C.; Gubler, D.; Chang, G.; Vorndam, V. 1992. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 30:545-551.
- Lanciotti, R.S.; Lewis, J.G.; Gubler, D.J.; Trent, D.W. 1994. Molecular evolution and epidemiology of dengue 3 viruses. *J. Gen. Virol.*, 75:65-75.
- Lourenço-de-Oliveira, R.; Honório, N.A.; Castro, M.G.; Schatzmayr, H.G.; Miagostovich, M.P.; Alves, J.C.R.; Silva, W.C.; Leite, P.J.; Nogueira, R.M.R. 2002. Dengue virus type 3 isolation from *Aedes aegypti* in the Municipality of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97:799-800.
- Messer, W.B.; Gubler, D.J.; Harris, E.; Sivananthan, K.; de Silva, A.M. 2003. Emergence and global spread of a Dengue serotype 3, subtype III virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 9:800-809.
- Miagostovich, M.P.; Santos, F.B.; Simone, T.S.; Costa, E.V.; Fillippis, A.M.B.; Schatzmayr, H.G.; Nogueira, R.M.R. 2002. Genetic characterization of dengue virus

type 3 isolates in the state of Rio de Janeiro, 2001. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 35:869-872.

Ministério da Saúde, 2003. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Dengue – Boletim da semana 44/2003*. Brasília, p.1-11.

Nogueira, R.M.R.; Miagostovich, M.P.; Fillippis, A.M.B.; Pereira, M.A.S.S.; Schatzmayr, H.G. 2001. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96:925-926.

Nogueira, R.M.R.; Schatzmayr, H.G.; Miagostovich, M.P.; Farias, M.F.D.B.; Farias Filho, J.C. 1988. Virological study of dengue type 1 epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83:219-225.

PAHO - Pan American Health Organization. 2003: Number of reported cases of dengue hemorrhagic fever (DHF), region of the Americas (by country and subregion). 2000. p.1-4. Disponível em: <http://www.paho.org>. Acesso em 2003.

Pinheiro, V.C.S.; Tadei, W.P. 2002. Frequency, diversity, and productivity study on the *Aedes aegypti* most preferred containers in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 44:245-250.

Reynes, J.M. 1995. Tentatives d'isolement d'arbovirus a partir de serum ou surnageants de moustiques sur cellules APG1. *Inst. Pasteur Guyane*.

Rigau-Pérez, J.G.; Ayala-López, A.; Gargía-Rivera, E.J.; Hudson, S.M.; Vorndam, V.; Reiter, P.; Cano, M.P.; Clark, G.G. 2002. The reappearance of dengue-3 and a subsequent dengue-4 and dengue-1 epidemic in Puerto Rico in 1998. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 67:355-362.

Romero-Vivas, C.M.E.; Sutherland, C.J.; Falconar, A.K.I. 2000. The use of direct sequencing of dengue virus cDNA from individual field-collected *Aedes aegypti* for surveillance and epidemiological studies. *J. Med. Entomol.*, 14:89-94.

SINAM - Sistema de Informação Nacional. Disponível em: <http://www.saude.am.gov.br/saude/compulsorias.php>. Acesso em 2004.

SUSAM - Secretaria de Estado da Saúde do Amazonas. Doenças de Notificação Compulsória. Disponível: <http://www.saude.am.gov.br/saude/compulsorias.php> . Acesso em 2004.

Travassos da Rosa, A.P.A.; Vasconcelos, P.F.C.; Travassos da Rosa, E.S.; Rodrigues, S.G.; Mondet, B.; Cruz, A.C.R.; Sousa, M.R.; Travassos da Rosa, J.F.S. 2000. Dengue epidemic in Belém, Pará, Brazil, 1996-97. *Emerg. Infect. Dis.*, 6:298-299.

Urdaneta, L.; Herrera, F.; Pernalete, M.; Zoghbi, N.; Rubio-Palis, Y.; Barrios, R.; Rivero, J.; Comach, G.; Jimenez, M.; Salcedo, M. 2005. Detection of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Maracay, Aragua state, Venezuela by type-specific polymerase chain reaction. *Genetics and Evolution*, 5:177-184.

Vasconcelos, P.F.C.; Lima, J.W.O.; Travassos da Rosa, A.P.A.; Timbó, M.J.; Travassos da Rosa, E.S.; Lima, H.R.; Rodrigues, S.G.; Travassos da Rosa, J.F.S. 1998. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Rev. Saúde Públ.*, 32:447-54.

Vaughn, D.W. 2000. Invited commentary: Dengue lesson from Cuba. *Am. J. Epidemiol.* 15:800-803.

WHO - World Health Organization. 1997. *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control*. 2nd ed. Geneva: The Organization. p.84.

7. ANEXO

7. ANEXO

Anexo 1. Alinhamento múltiplo do fragmento amplificado do vírus DENV 3. Número de acesso da amostra no Genbank: Amazonas (AM) – AY632355; Rio de Janeiro (RJ) – AY038605; Philippines – L11423; Sri Lanka – L11437; Mozambique – L11430; Malaysia – L11428; Puerto Rico – L11434; Martinique – AY099338.

	CCA	GAA	GTA	GTT	GTC	CTT	GGA	TCT	CAA	GAA	GGA	GCA	ATG	CAT	ACC	GCA	TTG	ACA	GGA	GCC	ACA	GAA	ATC	CAA	AAC	TCA
am2394-AM-Brasil/2003	CCA	GAA	GTA	GTT	GTC	CTT	GGA	TCT	CAA	GAA	GGA	GCA	ATG	CAT	ACC	GCA	TTG	ACA	GGA	GCC	ACA	GAA	ATC	CAA	AAC	TCA
artropode-AM-Brasil/2003	-A-	---	---	---	-CT	-CA	---	-G	---	-G	---	---	---	-G	---	---	---	-GG	---	---	---	---	---	---	---	---
AY038605_RJ_BRASIL/2001	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C-	---	---	-T	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	-A-	---	---	---	---	---	---	---	---	-G	---	-G	---	---	---	A	---	---	---	---	---	---	-G	---	-C-	---
L11423Filipinas	-A-	---	---	---	---	---	---	---	-A	---	-G	---	---	---	---	-A	C-	---	---	-T	---	---	---	---	---	---
L11428Malasia	-A-	---	---	-A	---	---	---	---	-G	---	-G	---	---	---	-C	-A	---	---	---	-T	---	-G	---	---	-C-	---
L11430Mocambique	-A-	---	---	---	---	---	---	---	-G	---	-G	---	---	---	---	---	C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	-A-	---	---	---	---	---	---	---	-G	---	-G	---	---	---	-A	---	C-	---	---	---	---	-G	-T	-G	-T-	---
L11438SriLanka	-A-	---	---	---	---	---	---	---	-G	---	-G	---	---	---	-A	---	C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---
am2394-AM-Brasil/2003	GGA	GGC	ACA	AGT	ATT	TTT	GCG	GGG	CAC	TTA	AAA	TGT	AGA	CTT	AAG	ATG	GAC	AAA	TTG	GAA	CTC	AAG	GGG	ATG	AGC	TAT
artropode-AM-Brasil/2003	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--A
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	-T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	---	-C	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11423Filipinas	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	A-	---	---	---	---	---
L11428Malasia	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-C	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11430Mocambique	---	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	---	---	---	---	-C	---	-A	-T	C-	---	-C	---	---	-A	---	-T	C-	---	---	---	---	---	---	---	---	-C
L11438SriLanka	---	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
am2394-AM-Brasil/2003	GCA	ATG	TGC	ACG	AAT	ACC	TTT	GTG	TTG	AAG	AAA	GAA	GTC	TCA	GAA	ACG	CAG	CAT	GGG	ACA	ATA	CTC	ATT	AAG	GTC	GAG
artropode-AM-Brasil/2003	T-	-G-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11423Filipinas	---	---	---	TT-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11428Malasia	---	---	---	TTA	G-	---	---	---	---	---	---	---	---	-C	-A	-A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11430Mocambique	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	---	---	---	T-A	GGC	---	-C	---	C-	-A	-G	---	-T	-T	---	---	---	---	---	-G	---	-T	---	-A	A-T	
L11438SriLanka	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-G-
am2394-AM-Brasil/2003	TAC	AAA	GGG	GAA	GAT	GCA	CCT	TGC	AAG	ATT	CCT	TTC	TCC	ACA	GAG	GAT	GGA	CAA	GGG	AAA	GCT	CAC	AAT	GGC	AGA	CTG
artropode-AM-Brasil/2003	---	---	-A	---	C-A	AA-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-C	-T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11423Filipinas	---	---	---	---	---	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11428Malasia	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11430Mocambique	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A	-G	---	---	-T	---	---	---	---	---	---	---	---	-A
L11438SriLanka	---	-G-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
am2394-AM-Brasil/2003	ATT	ACA	GCC	AAC	CCA	GTG	GTG	ACT	AAG	AAG	GAG	GAG	CCT	GTC	AAT	ATT	GAG	GCT	GAA	CCT	CCT	TTT	GGG	GAA	AGT	AAT
artropode-AM-Brasil/2003	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	-C	---	---	---	-T	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-C
L11423Filipinas	-C	---	---	-T	---	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11428Malasia	-C	---	-T	---	---	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11430Mocambique	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	---	---	---	-T	---	---	---	-C	---	---	-A	---	---	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-C
L11438SriLanka	-C	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

am2394-AM-Brasil/2003	ATA	GTG	ATT	GGA	ATT	GGA	GAC	AAC	GCC	.TT	GAA	AAT	CAA	CTG	GTA	TAA	GAA	AGG	AAG	CTC	TAT	TGG	GAA	GAT	GTT	CGA	
artropode-AM-Brasil/2003	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	.	---	---	---	---	-G-	-C-	C-C	T--	---	---	---	---	C--	-C-	---	---	---
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	.	---	---	---	---	---	---	C--	G--	G--	---	G--	---	---	---	---	---	---
L11423Filipinas	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	.C-	---	---	---	---	---	---	C-G	G--	---	---	G--	---	---	---	---	---	---
L11428Malasia	---	--A	---	---	-C-	---	---	---	---	.	---	---	---	---	---	---	C--	G--	---	---	G--	---	---	---	---	---	---
L11430Mocambique	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	.T	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
L11434PortoRico	---	-T	---	---	---	-C-	---	---	---	.--G	---	T--	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	G--	---	---	---
L11438SriLanka	---	--A	---	---	---	---	---	---	---	.	---	---	---	---	---	---	C--	G--	---	---	---	---	---	---	---	---	---
am2394-AM-Brasil/2003	GGC	CAC	TGC	CAG	AGG	TGC	AAG	GCG	CAT	GGC	CAT	CTT	GGG	AGA	CAC	AGC	TTG	GGA	CTT	TGG	ATC	AGT	GGG	TGG	TGT	TCT	
artropode-AM-Brasil/2003	---	-CA	-A-	---	---	AAT	--C	A-A	A-C	-C-	---	---	T--	--T	---	--A	---	---	---	---	-C-	---	A--	---	---	---	
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	--A	A--	G--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-	
L11423Filipinas	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	A--	---	---	-T-
L11428Malasia	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-
L11430Mocambique	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	G--	---	---	---	-T-
L11434PortoRico	---	---	---	T--	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-
L11438SriLanka	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-T-
am2394-AM-Brasil/2003	GAA	CTC	ATT	AGG	CAA	AAT	GGT	GCA	CCA	AAT	ATT	CGG	AAG	TGC	TTA	CAC	AGC	CCT	ATT	CAG	TGG	AGT	CTC	TTG	GGT	AAT	
artropode-AM-Brasil/2003	---	-C-	---	---	A--	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	-T-	-CC	-C-	C--	A--	T--	---	C-T	-C-	-G-	C--	-C-	-C-
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---	T--	---	---	---	G--	---	---	---	---	---	---	G--
L11423Filipinas	---	T--	---	---	G--	---	---	C--	---	---	T--	G--	---	---	---	---	---	---	---	T--	---	---	---	C--	-A-	---	
L11428Malasia	A--	T--	---	---	G--	---	---	---	---	---	T--	---	---	---	---	G--	---	---	---	T--	---	---	---	C--	-A-	---	
L11430Mocambique	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--
L11434PortoRico	---	---	---	T--	A--	---	---	---	---	G--	---	G--	---	---	---	---	---	---	T--	T--	T--	C--	---	T--	C--	-A-	---
L11438SriLanka	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	G--
am2394-AM-Brasil/2003	GAA	AAT	CGG	AAT	AGG	AGT	TCT	CTT	GAC	TTG	GAT	AGG	GTT	GAA	TTC	AAA	AAA	CAC	ATC	CAT	GTC	ATT	TTT	CAT	GCA	TTG	
artropode-AM-Brasil/2003	---	--C	---	---	---	-A-	C-A	-A-	C--	C-T	---	---	---	T--	---	---	--C	T-T	---	---	---	---	--A	T--	---	---	
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	T--	---	---	T--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11423Filipinas	---	---	T--	---	---	T--	C--	---	A--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	T--	---	---	---	---	---	
L11428Malasia	---	---	T--	---	---	T--	C--	---	A--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	T--	T--	---	---	---	---	---	
L11430Mocambique	---	---	T--	---	---	T--	C--	---	A--	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11434PortoRico	---	---	T--	---	---	TA-	---	---	A--	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	T--	---	---	---	---	---	---	
L11438SriLanka	---	---	T--	---	---	T--	---	---	---	---	---	---	---	---	C--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
am2394-AM-Brasil/2003	CGA	TAG	GAA	TCA	TTA	CAC	TCT	ATC	TGG	GAG	CTG	TGG	TGC	AAG	CT	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
artropode-AM-Brasil/2003	A--	---	---	---	---	---	-T-	---	-C-	---	AC-	C--	-A-	GC-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
AY038605_RJ_BRASIL/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
AY099336.1-Martinica/2000	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11423Filipinas	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11428Malasia	T--	---	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11430Mocambique	T--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11434PortoRico	T--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
L11438SriLanka	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	

CONCLUSÕES FINAIS

8. CONCLUSÕES FINAIS

8.1 POSITIVIDADE/PRODUTIVIDADE LARVÁRIA

8.1.1 Em relação às médias de positividade nos três anos, verificou-se que houve aumento de 1999 para 2000 e queda em 2001.

8.1.2 As médias de produtividade sofreram redução no decorrer dos três anos.

8.1.3 Verificou-se a existência de um padrão de sazonalidade para a positividade com registro das maiores médias no início do período chuvoso (dezembro, janeiro e fevereiro), uma estabilidade até maio e redução a partir de junho.

8.1.4 Os resultados da produtividade não mostraram uma sazonalidade tão evidente, pois há existência de grande variação nas médias mensais, independente dos índices pluviométricos.

8.1.5 Os principais recipientes com maior positividade e produtividade foram peças e materiais e pneus, que apresentaram médias elevadas com valores de 36,08 e 33,43, respectivamente.

8.1.6 Verificou-se que o número de recipientes com água aumentou nos três anos, com valores mensais muito próximos durante todos os meses, denotando que a disponibilidade de recipientes é elevada por todo o ano.

8.1.7 É necessária a manutenção das medidas de controle, de forma mais regular no período chuvoso, onde há uma multiplicação dos locais de oviposição.

Para isso, é vital a participação da população adotando medidas para evitar o desenvolvimento do mosquito nas residências e nos bairros.

8.1.8 A par a manutenção dos serviços de forma regular, e da participação da comunidade, é necessário que os poderes públicos melhorem as condições de saneamento básico, objetivando que sejam reduzidos os índices de recipientes disponíveis, especialmente no período chuvoso dessa região.

8.2 VIABILIDADE DOS OVOS

8.2.1 A maior taxa de eclosão diária dos ovos de *Aedes aegypti* foi registrada no 2º dia – 76%, após a colocação das cartelas na água.

8.2.2 Na região amazônica a viabilidade dos ovos de *Aedes aegypti* é mantida em níveis elevados até 4 meses – 48% de eclosão. Verificou-se que os ovos são viáveis até 8 meses, embora em percentual muito baixo – 0,02%.

8.2.3 O dessecação é o principal fator envolvido na perda da viabilidade dos ovos de *Aedes aegypti*. Observou-se que a presença de fungos e micro-predadores também contribui para a destruição dos mesmos.

8.3 INVESTIGAÇÃO DOS SOROTIPOS DO VÍRUS DENGUE COM A TÉCNICA DE RT-PCR.

8.3.1 As análises dos mosquitos *Aedes aegypti* com a técnica do RT-PCR revelaram uma ampla circulação do DENV 3 em Manaus em 2003, uma vez que 18% dos espécimes estavam infectados.

8.3.2 Os resultados das análises nos mosquitos permitiram concluir que a população de Manaus está sob risco de sofrer uma epidemia ocasionada pelo sorotipo DENV 3 que pode ser acompanhada de aumento dos casos de FHD. No entanto, a intensificação das medidas de controle do vetor, ações de vigilância epidemiológica e assistência imediata aos casos suspeitos, pode reduzir a ocorrência de epidemia.

8.3.3 A utilização da técnica da RT – PCR, para o monitoramento da circulação viral em mosquitos, apresenta-se como uma importante alternativa na prevenção das epidemias de dengue, pois permite identificar com rapidez e total confiabilidade os níveis de disseminação do vírus em determinadas áreas.

8.3.4 Além de evitar a dispersão do DENV 3 na população, a vigilância epidemiológica deverá monitorar a co-circulação dos outros dois sorotipos – DENV 1 e DENV 2, e detectar precocemente a introdução do sorotipo DENV 4, presente na Venezuela.