Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Parasitologia
Programa de Pós-Graduação em Parasitologia

Avaliação das armadilhas MosquiTRAP, BG-Sentinel e BG-Mosquitito como possíveis ferramentas no controle de *Aedes aegypti*.

Carolin Marlen Degener

Belo Horizonte

2014

Carolin Marlen Degener

Avaliação das armadilhas MosquiTRAP, BG-Sentinel e BG-Mosquitito como possíveis ferramentas no controle de *Aedes aegypti*.

Tese apresentada ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção de grau de Doutora em Ciências.

Área de concentração: Entomologia

Orientador: Álvaro Eduardo Eiras, Ph.D.
Co-orientadora: Claudia Torres Codeço, Ph.D.

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2014

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (LabEQ), do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, no Laboratório de Entomologia da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Viera Dourado, Manaus e no Centro Universitário de Sete Lagoas, Fundação Educacional Monsenhor Messias (UNIFEMM) com auxílio financeiro do Banco Mundial, CAPES, CNPq, Pronex-Dengue e INCT-Dengue.

Colaboradores

Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (LabEQ), Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG, Belo Horizonte

Dra. Tatiana Mingote Ferreira de Ázara

Dra. Kelly da Silva Paixão

Biogents AG, Regensburg, Alemanha

Dr. Martin Geier

Programa de Computação Científica (PROCC), Fundação do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro

Dra. Aline Araújo Nobre

Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus

Dr. Jörg Johannes Ohly

Laboratório de Entomologia Aplicada, Universidade Nilton Lins, Manaus

Dra. Rosemary Aparecida Roque

Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus

Dra. Maria das Graças Vale Barbosa

Dra. Maria Paula Gomes Mourão

Laboratório de Vírus (LabVÍRUS), Departamento de Microbiologia, ICB/UFMG, Belo Horizonte

Dra. Erna Geessien Kroon

Dr. Eliseu Soares de Oliveira Rocha

Centro Universitário de Sete Lagoas, Fundação Educacional Monsenhor Messias (UNIFEMM)

MSc Camila Palhares Teixeira

Mariele Ribeiro Pinto

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Álvaro Eduardo Eiras, pela confiança, orientação, amizade e pela oportunidade de crescimento profissional.

À minha co-orientadora, Dra. Cláudia Torres Codeço (Programa de Computação Científica, Procc, Fiocruz, RJ) pela orientação dedicada, pelas reuniões, pela ajuda na análise dos dados e pelas dicas sobre livros e cursos, que me permitiram a dar início á modelagem estatística no programa R.

Ao Dr. Martin Geier pelos seus ensinamentos desde a minha graduação, pela confiança, pela possibilidade de participar no projeto em Manaus, e pelas discussões sobre os resultados do trabalho.

À Dra. Aline Araújo Nobre (Procc, Fiocruz, RJ) pela grande paciência no esclarecimento das dúvidas em Estatística e pelo apoio na análise dos dados.

À Dra. Tatiana Mingote Ferreira de Ázara, pelo companheirismo e pela grande força durante nossa fase de coordenação do projeto de Manaus. Foi ótimo trabalhar, trocar ideias, dividir um apartamento, cantar, cozinhar e aprender com você! Obrigada de coração!

À Dra. Rosemary Aparecida Roque (Universidade Nilton Lins, Manaus), pela grande ajuda na execução do projeto em Manaus.

À equipe de Entomologia da Fundação de Medicina tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD, Manaus), bolsistas de iniciação Iria Cabral Rodriguez, Adryanne Karolinne Moreno de Matos, Karen Rayane Medeiros da Silva, Katlen Leandro Vidinho, Franciani da Silva Vasconcelos, Raianny da Silva Gonzaga, Meg Cristina Vasconcelos Nunes, Valéria de Oliveria Cunha, Raquel Amazonas da Silva, André Correa de Oliveira, Quertem Dyei de Souza Sena, Yasmin Abi-Abib e Clezia Cristina Ribeiro Roque sob coordenação da Dra. Maria das Graças Vale Barbosa e Nelson Ferreira Fé, pela assistência na identificação dos insetos coletados nas armadilhas BG-Sentinel.

Ao Dr. Jörg Johannes Ohly (Universidade Estadual do Amazonas - UEA, Manaus), que resolveu com muita paciência e eficiência os vários problemas, de diferentes naturezas, que apareceram durante o projeto.

À equipe da Virologia da FMT-HVD, Michele de Souza Bastos, João Bosco Lima Gimape, Natália Lessa da Silva, Luana Dayanna Alves de Moura, Clicia Regina Pinheiro da Nóbrega, Ilkéciton Alves Teixeira, Adriana Pinheiro Pantoja, Edmilza Ferreira Dias, Ivanildo Figueiredo da Silva, Monica Renata dos Santos Barreto, Emily Vieira Felipe, Rizonildo Lima dos Santos, Jeremias Franco Soares e Anderson Vieira Galvão, sob coordenação da Dra. Maria Paula Gomes Mourão, pela coleta das amostras de sangue.

Aos colaboradores Drs. Erna Geessien Kroon e Eliseu Soares Oliveira Rocha do LabVírus (ICB/UFMG), pela realização da ELISA nas amostras de sangue coletadas em Manaus.

Aos integrantes da Fundação de Vigilância em Saúde de Manaus: Luzia Mustafa e Ricardo Passos. Agradeço muitos aos agentes de campo Eliane Mendes Garcia, Rocinaldo Santos, Gilson Souza de Lima, Edney Alberto de Matos Rezende, Wandervangelica Pereira de Andrade, Andrea Karla Moraez Braz, Solange Miranda Bezerra, Irlan Roque Balieiro, Saul Panduro Traverso, Rosilene Garcia da Silva e Ana Rutte Oliveira Costa, que tornaram a execução do projeto possível.

A todos os motoristas a serviço do projeto de Manaus: Sr. Ratinho (FVS-AM), Paulo (UEA), João (UEA) e Romualdo (UEA).

A todos os moradores de Manaus e Sete Lagoas que participaram no estudo, permitindo a instalação e as vistorias das armadilhas, respondendo questionários e oferecendo amostras de sangue.

Às coordenadoras do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Sete Lagoas UNIFEMM, Profas. Camila Palhares Teixeira e Regina Scarpelli pela cooperação no projeto realizado em Sete Lagoas.

Aos membros da equipe de Controle de Endemias da Prefeitura de Sete Lagoas, Lízia Dias Gonçalves, Adriano M.P. Souza e Marcelo Silva Ferreira, pelo suporte durante o planejamento e execução do trabalho no município.

Às estagiárias Maria Elmita Goncalves Gomes, Sara Cristina do Nascimento e Mariele Ribeiro Pinto, discentes do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Sete Lagoas UNIFEMM, pela participação no experimento realizado em Sete Lagoas (Capítulo III). Em especial à Mariele, que acompanhou o projeto do início ao fim, com muita dedicação.

À Dra. Kelly da Silva Paixão, pela amizade e suporte na preparação e na execução do projeto em Sete Lagoas.

À Cecília Marques-Toledo da Ecovec, pela ajuda em vários assuntos associados ao MI-Dengue em Manaus e em Sete Lagoas.

Aos amigos do LabEQ (Tati, Kelly, Luciane, Célia, Ana Paula, Andrey, Laila, Priscilla, Dani, Moreno, Eliseu, Mariele, Caio, Frede, Karla, Maíra, Isadora), pela convivência, pelos ensinamentos e pela ajuda ao longo do doutorado.

À minha família, que está sempre comigo. Agradeço especialmente meus pais pelo carinho e pelo suporte em tudo que eu faço, mesmo quando isso significa, que preciso morar num outro continente.

Ao Carlos, meu marido, pelo grande suporte emocional e prático. Pela organização das minhas moradias em Manaus e Belo Horizonte, pela ajuda em inúmeras coisas difíceis para estrangeiros, pela revisão e pela correção do português da tese, pelo companheirismo, pelo amor, por ficar comigo. Muito obrigada!

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos. Ao Banco Mundial, UEA, INCT-Dengue e PRONEX Dengue pelo financiamento do projeto.

À turma de mestrado de 2011, que me adotou carinhosamente. Foi um prazer cursar as disciplinas com vocês, meus "pepinos"! A disciplina "Atividade de Campo I" em São Joaquim e Januária (MG) foi inesquecível. Agradeço ao Prof. Alan Lane de Melo pela coordenação dedicada dessa disciplina.

Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia (ICB/UFMG), pela oportunidade de cursar um doutorado de alto nível. Agradeço em especial às secretárias do curso, Sumara Aparecida e Sibele Abreu, pelo apoio.

A todos muito obrigada!

Lista de Abreviaturas

AIC	*Aikaike Information Criterion* (Critério de Informação Aikaike)
AR-1	Função de autocorrelação de primeira ordem
AVAI	Anos de Vida Ajustados por Incapacidade, do inglês "DALY" - *Disability-Adjusted Life Years*)
BGM	BG-Mosquitito
BGMs	BG-Mosquititos
BGS	BG-Sentinel
BGSs	BG-Sentinels
Bti	*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*
CDC	*Centers of Disease Control*
CONSORT	*Consolidated Standards of Reporting Trials*
Cv	Capacidade vetorial
DENV	Dengue vírus
DP	Desvio padrão
EP	Erro padrão
EVS	*Encephalitis Virus Surveilance*
FHD	Febre Hemorrágica da dengue
FMT-HVD	Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
FVS-AM	Fundação de Vigilância em Saúde de Amazonas
GAMM	*Generalized Additive Mixed Model* (Modelo Generalizado Aditivo Misto)
GAM	*Generalized Additive Model* (Modelo Generalizado Aditivo)
IB	Índice de Breteau
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICB	Instituto de Ciências Biológicas da UFMG
IgM	Imunoglobulina M
IIP	Índice de Infestação Predial
IP	Índice de Positividade
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IMFA	Índice médio de fêmeas de *Aedes aegypti*
IMFAt	Índice médio de fêmeas de *Aedes aegypti* temporal
ITM	*Insecticide Treated Material* (material tratado com inseticida)
LabEQ	Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores (ICB/UFMG)

LIRAa	Levantamento do Índice Rápido da Infestação de *Aedes aegypti*
LME	*Linear Mixed Effects model* (Modelo Linear de Efeitos Mistos)
LMM	*Logistic Mixed Model* (Modelo Logístico Misto)
MI-D	Monitoramento Inteligente da Dengue
MoReNAa	Rede Nacional de Monitoramento da Resistência do *Ae. aegypti* a Inseticidas
MQT	MosquiTRAP
MQTs	MosquiTRAPs
MS	Ministério da Saúde
OL	Ovitrampa letal
OLs	Ovitrampas letais
OLBs	Ovitrampas letais biodegradáveis
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
OR	*Odds Ratio* (razão de chances)
PEAa	Programa de Erradicação do *Aedes aegypt*
PIE	Período de incubação extrínseco
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
RIDL	*Release of Insects carrying a Dominant Lethal* (Liberação de insetos portadores de gene dominante letal)
SCD	Síndrome de Choque da Dengue
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SIT	*Sterile Insect Technique* (Técnica de inseto estéril)
UBV	Ultrabaixo volume
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNIFEMM	Universidade da Fundação Educacional Monsenhor Messias
WHO	*World Health Organization* (OMS)
WHO/TDR	WHO *Special Programme in Research and Training in Tropical Diseases*

LISTA DE FIGURAS ---------- XIII

LISTA DE TABELAS ---------- XVI

RESUMO GERAL ---------- 1

ABSTRACT ---------- 3

1 INTRODUÇÃO GERAL ---------- 5

1.1 DENGUE ---------- 5
1.1.1 A DOENÇA ---------- 5
1.1.2 IMPACTO ECONÔMICO ---------- 8
1.1.3 O *AEDES AEGYPTI* E A TRANSMISSÃO DA DENGUE ---------- 9
1.2 O CONTROLE DA DENGUE ---------- 12
1.3 NOVAS FERRAMENTAS NO CONTROLE DE DENGUE ---------- 16
1.4 COLETA MASSAL POR ARMADILHAS ---------- 18
1.5 NOVAS TECNOLOGIAS DE ARMADILHAS PARA MOSQUITOS ---------- 20
1.5.1 MOSQUITRAP® ---------- 20
1.5.2 MONITORAMENTO INTELIGENTE DA DENGUE (MI-DENGUE) ---------- 22
1.5.3 BIOGENTS-SENTINEL® ---------- 23

2 JUSTIFICATIVA ---------- 27

3 OBJETIVOS ---------- 29

3.1 OBJETIVO GERAL ---------- 29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ---------- 29

CAPÍTULO I:

AVALIAÇÃO DA COLETA MASSAL DE *AEDES AEGYPTI* COM ARMADILHAS BG-SENTINEL EM ÁREAS URBANAS DE MANAUS (AM). ---------- 30

I.1 RESUMO ---------- 31
ABSTRACT ---------- 32
I.2 INTRODUÇÃO ---------- 33
I.3 MATERIAL E MÉTODOS ---------- 35
I.3.1 ÁREA EXPERIMENTAL ---------- 35
I.3.2 MONITORAMENTO DO VETOR ADULTO ---------- 38
I.3.3 QUESTIONÁRIOS ---------- 39
I.3.4 COLETA MASSAL COM ARMADILHAS BG-SENTINEL ---------- 39
I.3.5 PESQUISA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA DENV ---------- 40
I.3.6 DESENHO EXPERIMENTAL ---------- 41
I.3.7 ANÁLISE DOS DADOS ---------- 41
I.3.8 DADOS METEOROLÓGICOS ---------- 43
I.3.9 AVALIAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA ---------- 43
I.4 RESULTADOS ---------- 44
I.4.1 PRIMEIRO QUESTIONÁRIO ---------- 44
I.4.2 PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO ---------- 46
I.4.3 TOTAL DE MOSQUITOS CAPTURADOS ---------- 47
I.4.4 MONITORAMENTO ENTOMOLÓGICO ---------- 48
I.4.5 ESTUDO DE PARIDADE ---------- 54
I.4.6 PESQUISA DE ANTICORPOS IGM PARA DENV ---------- 54
I.4.7 SEGUNDO QUESTIONÁRIO ---------- 55
I.5 DISCUSSÃO ---------- 56

CAPÍTULO II:

AVALIAÇÃO DA COLETA MASSAL DE *AEDES AEGYPTI* COM ARMADILHAS MOSQUITRAP EM ÁREAS URBANAS DE MANAUS (AM).---65

II.1 RESUMO ---66
ABSTRACT ---67
II.2 INTRODUÇÃO---68
II.3 MATERIAL E MÉTODOS ---69
II.3.1 ÁREA EXPERIMENTAL ---69
II.3.2 MONITORAMENTO DO VETOR ADULTO ---69
II.3.3 QUESTIONÁRIOS---71
II.3.4 COLETA MASSAL COM ARMADILHAS MOSQUITRAP ---71
II.3.5 PESQUISA DE ANTICORPOS---72
II.3.6 DESENHO EXPERIMENTAL ---72
II.3.7 ANÁLISE DOS DADOS ---72
II.3.8 AVALIAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA ---75
II.4 RESULTADOS---75
II.4.1 PRIMEIRO QUESTIONÁRIO---75
II.4.2 PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO ---77
II.4.3 TOTAL DE MOSQUITOS CAPTURADOS EM ARMADILHAS DE INTERVENÇÃO ---77
II.4.4 MONITORAMENTO ENTOMOLÓGICO ---78
II.4.5 ESTUDO DE PARIDADE ---84
II.4.6 PESQUISA DE ANTICORPOS IGM PARA DENV ---84
II.4.7 SEGUNDO QUESTIONÁRIO ---86
II.5 DISCUSSÃO ---86

CAPÍTULO III:

AVALIAÇÃO DA COLETA MASSAL COM ARMADILHAS BG-MOSQUITITO EM UMA ÁREA URBANA COM ALTA INFESTAÇÃO DE *AEDES AEGYPTI* DETECTADO PELO MI-DENGUE, EM SETE LAGOAS, MG. ---92

III.1 RESUMO ---93
ABSTRACT ---94
III.2 INTRODUÇÃO---95
III.3.1 ÁREA DO ESTUDO ---96
III.3.2 MONITORAMENTO ---98
III.3.2.1 MI-Dengue ---98
III.3.2.2 Monitoramento com armadilhas BG-Mosquitito ---98
III.3.3 COLETA MASSAL ---100
III.3.4 QUESTIONÁRIO---100
III.3.5 ANÁLISE DOS DADOS---100
III.4 RESULTADOS---101
III.4.1 INSTALAÇÃO DAS ARMADILHAS PARA COLETA MASSAL ---101
III.4.2 TOTAL DE MOSQUITOS CAPTURADOS NA COLETA MASSAL ---101
III.4.3 MONITORAMENTO DE *AEDES AEGYPTI* FÊMEAS PELO MI-DENGUE ---102
III.4.4 MONITORAMENTO COM ARMADILHAS BG-MOSQUITITO (BGM) ---106
III.4.5 PARIDADE ---107
III.4.6 QUESTIONÁRIO---108
III.5 DISCUSSÃO---109

CAPÍTULO IV:

ABUNDÂNCIA TEMPORAL DE *AEDES AEGYPTI* MONITORADA POR DOIS TIPOS DE ARMADILHAS PARA MOSQUITOS ADULTOS, EM MANAUS. ---------- **115**

IV.1 RESUMO ---------- **116**
ABSTRACT ---------- **117**
IV.2 INTRODUÇÃO ---------- **118**
IV.3 MATERIAL E MÉTODOS ---------- **120**
IV.3.1 ÁREA DE ESTUDO ---------- 120
IV.3.2 MONITORAMENTO ENTOMOLÓGICO ---------- 120
IV.3.3 CASOS DE DENGUE HUMANOS ---------- 121
IV.3.4 DADOS METEOROLÓGICOS ---------- 121
IV.3.5 ANÁLISE DE DADOS ---------- 122
IV.4 RESULTADOS ---------- **123**
IV.4.1 DADOS METEOROLÓGICOS ---------- 123
IV.4.2 CAPTURAS TOTAIS DE MOSQUITOS ---------- 124
IV.4.3 PADRÃO TEMPORAL MENSAL DE *AE. AEGYPTI* E INCIDÊNCIA DE DENGUE ---------- 127
IV.4.4 PADRÃO TEMPORAL SEMANAL DA INFESTAÇÃO DE MOSQUITOS E POSITIVIDADE DAS ARMADILHAS 128
IV.4.5 EFEITO DE VARIÁVEIS METEOROLÓGICAS SOBRE A ABUNDÂNCIA *AE. AEGYPTI* FÊMEAS ---------- 130
IV.5 DISCUSSÃO ---------- **131**

4 CONCLUSÕES ---------- **137**

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS ---------- **139**

ANEXOS ---------- **141**

ANEXO I ESTUDO MANAUS: *FOLDER* DE INFORMAÇÕES ---------- **141**
ANEXO II ESTUDO MANAUS: PRIMEIRO QUESTIONÁRIO ---------- **142**
ANEXO III ESTUDO MANAUS: SEGUNDO QUESTIONÁRIO ---------- **145**
ANEXO IV ESTUDO MANAUS: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ---------- **148**
ANEXO V ESTUDO SETE LAGOAS: *FOLDER* DE INFORMAÇÕES ---------- **150**
ANEXO VI ESTUDO SETE LAGOAS: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ---------- **151**
ANEXO VII ESTUDO SETE LAGOAS: QUESTIONÁRIO ---------- **153**

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ---------- **155**

Lista de Figuras

Introdução geral

Figura 1. Mapa global consenso de áreas de risco para a dengue de 2013. A escala colorimétrica indica a probabilidade de risco de transmissão. As áreas de risco são determinadas por um consenso entre fontes de informação diferentes. Os pontos vermelhos representam notificações recentes de casos locais ou importados de dengue (CDC 2014). 5

Figura 2. Número de casos notificados de dengue no Brasil entre 2001 e 2013. (SINAN 2014, *casos de 2013: PAHO 2014) 7

Figura 3. Mapa da área de transmissão de dengue no Brasil em 2012 e localidades de surtos de dengue entre 2001 e 2012. (Barcellos e Lowe 2014). 8

Figura 4. Fêmeas de *Ae. aegypti* (esquerda) e *Ae. albopictus* (direta). (Florida Medical Entomology Laboratory 1999). 10

Figura 5. MQT Versão 3.0. a) Componentes (de cima para baixo): tampa, funil, suporte superior do cartão adesivo, cartão adesivo, suporte inferior do cartão adesivo, parte inferior. O detalhe indica a localização do atraente, aplicado no cartão. b) Armadilha montada. c) Mapa geo-referenciado de quatro semanas consecutivas, gerado pela tecnologia MI-Dengue. Cada ponto representa uma MosquiTRAP. (Adaptada de Eiras & Resende 2009) 22

Figura 6. a) BG-Sentinel (Fonte: www.bg-sentinel.com). Setas amarelas indicam a sucção através do funil preto e setas vermelhas indicam a liberação da corrente de convecção de ar b) BG-Mosquitito (Foto: Biogents SA). 24

Capítulo I

Figura I.1. Precipitação mensal acumulada (mm), temperatura máxima e mínima entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. Pré: Período pré-intervenção. 36

Figura I.2. Mapas do local do estudo. a) a cidade de Manaus e a localização do bairro Cidade Nova, na Zona Norte (círculo preto); b) localização dos doze conglomerados na Cidade Nova. Conglomerados de intervenção em branco e de controle em cinza; c) exemplo de um conglomerado de intervenção. 36

Figura I.3. Diagrama de fluxo CONSORT, descrevendo a seleção, composição e destino dos conglomerados no experimento randomizado controlado de conglomerados, para avaliação da coleta massal com armadilhas BGS. 37

Figura I.4. Monitoramento com BGS: média de captura de fêmeas de *Ae. aegypti* nas seis áreas de controle (linha tracejada) e médias das seis áreas de intervenção (linha sólida), entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. 50

Figura I.5. Efeito estimado do tempo na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas em áreas de coleta massal e de controle, em Manaus, AM. Linha preta: áreas de controle. Linha cinza: áreas de coleta massal. A área sombreada e as linhas tracejadas indicam o intervalo de confiança de 95%, em áreas de controle e áreas tratadas, respectivamente. 51

Capítulo II

Figura II.1. Esquematização de uma área de intervenção em Manaus. As casas em cinza foram utilizadas para o monitoramento com BGS. Os círculos preenchidos representam BGSs de monitoramento e os não preenchidos representam três MQT de intervenção. 70

Figura II.2. Monitoramento com armadilhas BGS: média de captura de fêmeas de *Ae. aegypti* nas áreas de controle (linha tracejada) e médias das áreas de intervenção (linha sólida) entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. a) Média de todos os três pares b) Média dos pares 1 e 2. Observe-se que no gráfico a, a média (eixo y) varia de 0 – 25, e no gráfico b de 0 – 5. 80

Figura II.3: Efeito estimado do tempo na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas em áreas de coleta massal e de controle entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. Linhas pretas: áreas de controle. Linhas cinzas: áreas de coleta massal. As áreas sombreadas e as linhas tracejadas indicam os intervalos de confiança de 95%, em áreas de controle e áreas tratadas, respectivamente. a) Modelo GAMM para todos os pares b) Modelo GAM para os pares 1 e 2. 81

Capítulo III

Figura III.1. Área do estudo a) Localização de Sete Lagoas no Brasil b) Mapa de Minas Gerais e a localização de Sete Lagoas (área vermelha). b) Mapa de Sete Lagoas, MG. O círculo indica a localização do bairro Jardim Arizona. c) Mapa do bairro Jardim Arizona. Área azul: intervenção (coleta massal com MQT), área vermelha: controle (área sem coleta massal). Fonte: a) e b): Wikipédia c) e d): Google maps. 97

Figura III.2. A armadilha BGM a) armadilha montada (as setas pontilhadas indicam a direção da corrente de ar emitida pela superfície da armadilha e as setas pretas indicam a direção da forca de sucção, por qual os insetos estão sento sugados para o interior da armadilha), b) o funil e as partes interiores da armadilha. 99

Figura III.3. Monitoramento de fêmeas *de Ae. aegypti* por MI-Dengue. Comparação entre os IMFAt (média de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas em quatro semanas consecutivas), na área de controle e de intervenção, entre as semanas epidemiológicas 12 (2009) e 45 (2011), em Sete Lagoas, MG. As cores verde, amarelo e vermelho indicam a classificação de risco de dengue, estabelecido pelo MI-D. As duas linhas verticais indicam o período de intervenção. 103

Figura III.4. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas MQT na área controle e de intervenção (coleta massal com armadilhas BGM) no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG (2011), nos períodos de pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção. As cores verde, amarelo, laranja e vermelho indicam a classificação de risco de dengue, estabelecido pelo MI-D. 104

Figura III.5. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas MQT. Comparação entre área de controle (barras claras) e intervenção (barras riscadas), nos três períodos do estudo (média +/- erro padrão), no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG, 2011. 105

Figura III.6. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas BGM. a) comparação entre a área controle (barras claras) e a de intervenção (barras riscadas) dividido por período (+/- erro padrão), b) comparação entre área controle (linha tracejada) e a de intervenção (linha contínua) dividido por semana, ,no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG, 2011. 106

Capítulo IV

Figura IV.1. Variáveis meteorológicas mensais de Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010. Precipitação (barras cinzas), a média da temperatura máxima (linha contínua), a temperatura média mínima (linha pontilhada) e a umidade relativa média (linha pontilhada e tracejada. 124

Figura IV.2. Variação mensal da precipitação (barras cinzas), capturas de fêmeas de *Ae. aegypti* em MQTs (linha tracejada) e BGSs (linha contínua), e incidência da dengue (linha pontilhada), em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010. 127

Figura IV.3. Variação semanal das precipitação, capturas de *Ae. aegypti* fêmeas em MQTs e BGSs, e positividade das MQTs e BGSs, em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010 a) Precipitação semanal (barras cinzas) e média de capturas bissemanais de fêmeas de *Ae. aegypti* em MQTs (linha pontilhada) e BGS (linha contínua) b) Positividade de *Ae. aegypti* em MQTs (linha pontilhada) e BGS (linha contínua), em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010. 129

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela I.1. Questionário I. Experiência e conhecimento sobre a dengue nas doze áreas de estudo na Cidade Nova, Manaus, novembro e dezembro de 2008. (N: número de pessoas que responderam às questões; n: número de pessoas que responderam em cada categoria de resposta.) 44

Tabela I.2. Primeiro questionário. Comparações entre os dois grupos (coleta massal e controle) antes do início da coleta massal, novembro e dezembro de 2008 em Manaus, AM. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas, que concordaram em cada categoria de resposta.) 45

Tabela I.3. Número de BGSs instaladas por conglomerado e porcentagem de cobertura com armadilhas, no início, durante os três períodos e no final do estudo em Manaus, AM. 46

Tabela I.4. Resumo dos mosquitos capturados (soma, média, desvio padrão DP e máximo), em armadilhas BG-Sentinel de intervenção (N = 11464) e em armadilhas de monitoramento (N = 932), nas seis áreas de intervenção em Manaus, AM. 47

Tabela I.5. Média (± desvio padrão, DP) de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em BGSs de monitoramento: comparação entre áreas de intervenção e controle, nos quatro períodos do estudo, entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. 52

Tabela I.6. Resultados do modelos utilizados para os diferentes períodos do estudo, para análise da variação do número médio de *Ae. aegypti* fêmeas ($\log_{10}(x+1)$-transformado), capturado com BGSs, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM. 53

Tabela I.7. Estudo de paridade nos quatro períodos do experimento: comparação entre áreas de intervenção e áreas de controle, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM. 54

Tabela I.8. Pesquisa de anticorpos para DENV: frequência de moradores soropositivos e soronegativos nos dois tipos de áreas, em maio e junho de 2013, em Manaus, AM. 55

Capítulo II

Tabela II.1. Questionário I. Experiência e conhecimento sobre a dengue nas seis áreas de estudo na Cidade Nova, Manaus, novembro e dezembro de 2008. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas que responderam em cada categoria de resposta.) 76

Tabela II.2. Primeiro questionário. Comparações entre os dois grupos (coleta massal com MQTs e controle) antes do início da coleta massal, novembro e dezembro de 2008 em Manaus, AM. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas, que concordaram em cada categoria de resposta.) 76

Tabela II.3. Resumo dos mosquitos capturados (soma, média, desvio padrão DP e máximo), em MosquiTRAPs (Número de observações = 7118), nos três conglomerados de intervenção em Manaus, AM, por período de coleta de duas semanas. Todos os valores são baseados nos dados totais de três armadilhas, instaladas em cada casa participante. 77

Tabela II.4. Média (± desvio padrão, DP) de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em BGSs de monitoramento: comparação entre áreas de intervenção e controle, nos quatro períodos do estudo, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM. A média total é apresentada para todos os três pares e para os pares 1 e 2. 82

Tabela II.5. Resultados dos modelos utilizados para os distintos períodos para análise da variação do número médio de *Ae. aegypti* fêmeas ($log_{10}(x+1)$-transformado), capturado com BGSs em todos os pares e nos pares 1 e 2, entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM, no experimento de coleta massal com MQTs. 83

Tabela II.6. Estudo de paridade nos quatro períodos do experimento para todos os pares e para os pares 1 e 2 de conglomerados: comparação entre áreas de coleta massal com MQTs e de controle, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM. 84

Tabela II.7. Pesquisa de anticorpos: frequência de moradores soropositivos e soronegativos nas áreas de intervenção com MQTs e nas áreas controle, em maio e junho de 2013, em Manaus, AM, para todos os três pares de áreas e para os pares 1 e 2. 85

Capítulo III

Tabela III.1. Culicídeos capturados em armadilhas BGM de intervenção (n=87) na área de coleta massal, no bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas (2011), em nove semanas. 102

Tabela III.2. Média (± desvio padrão) de mosquitos capturados em armadilhas BGM de intervenção, instaladas nas duas categorias de altura, em nove semanas de intervenção, em Sete Lagoas, MG. O valor p corresponde à comparação entre capturas nas duas categorias de altura, para cada espécie de mosquitos (GLM com distribuição de erro binomial negativa). 102

Tabela III.3. Monitoramento com armadilhas MQT. IMFA (média de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em 9 semanas), desvio padrão (DP), Índice de positividade (IP) e número de armadilhas (n) nos períodos pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção, nas semanas epidemiológicas 1 - 27 de 2011, Sete Lagoas, MG. 105

Tabela III.4. Monitoramento com armadilhas BGM. Média, desvio padrão (DP), soma, Índice de Positividade (IP) e número de armadilhas (n) nos períodos intervenção e pós-intervenção, nas semanas epidemiológicas 11-21 de 2011, em Sete Lagoas, MG. 107

Tabela III.5. Estudo de paridade de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas com BGMs de monitoramento nas semanas epidemiológicas 11-21 de 2011, na área de coleta massal e de controle, em Sete Lagoas, MG. 107

Capítulo IV

Tabela IV.1. Estatística descritiva de mosquitos capturados em 24 MosquiTraps e 24 BG-Sentinels em seis áreas do bairro Cidade Nova, Manaus (AM) entre dezembro de 2008 e julho de 2010. Os períodos de coleta de MosquiTraps e BG-Sentinels foram de duas semanas e de 24h, respectivamente. 126

Tabela IV.2. Resultados dos Modelos Lineares de Efeitos Mistos (LME) da abundância de fêmeas de *Ae. aegypti,* medido com MQT e BGS, em Manaus, AM. 130

Resumo geral

Nos primeiros três capítulos do presente trabalho, as armadilhas BG-Sentinel (BGS), MosquiTRAP (MQT) e BG-Mosquitito (BGM), projetadas para o monitoramento de *Aedes aegypti* (L.), foram avaliadas para o seu uso no controle de vetores da dengue em experimentos de coleta massal. No quarto capítulo, dados longitudinais de monitoramento com BGSs e MQTs foram comparados e as associações entre as capturas, a incidência da dengue e as variáveis meteorológicas foram analisadas.

No primeiro experimento, o efeito da coleta massal com BGSs sobre as populações adultas de vetores da dengue em Manaus (AM) foi avaliado. Os resultados do monitoramento entomológico indicaram que a coleta massal reduziu significativamente a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, nos primeiros cinco meses do estudo (estação chuvosa) mas não na época de seca. Nos meses chuvosos subsequentes, menos fêmeas foram capturadas nas áreas tratadas porém, não houve diferença significativa em relação às áreas sem coleta massal. A pesquisa de anticorpos específicos (IgM) indicou que infecções recentes de DENV foram menos frequentes nas áreas tratadas, mas a diferença em relação às de controle não foi significativa. Os resultados não foram conclusivos mas, há evidências de que a BGS é uma ferramenta promissora, que pode ser utilizada como um componente de programas de controle da dengue. Estudos adicionais são necessários para comprovação de um efeito significativo da coleta massal sobre a abundância do vetor e a transmissão da dengue.

No Capítulo II, o uso de MQTs foi avaliado para o controle de *Ae. aegypti* em Manaus. Durante a intervenção, houve um número significativamente maior de *Ae. aegypti* fêmeas nas áreas tratadas, em comparação com as de controle. Portanto, os resultados do monitoramento entomológico indicaram que a coleta massal com MQTs não reduziu a abundância fêmeas adultas de *Ae. aegypti*. A frequência de infecções recentes de DENV também não foi menor nas áreas de tratadas. A partir dos resultados obtidos, não houve evidências de que a coleta massal com MQT (três unidades por casa) poderia ser utilizada no combate dos vetores da dengue em Manaus, porém seu uso é recomendável apenas para o monitoramento de *Ae. aegypti*.

No terceiro experimento, a coleta massal com BGMs foi utilizada em um bairro com infestação elevada em Sete Lagoas (MG), detectada pelo sistema MI-Dengue (MI-D). O monitoramento foi realizado com MQTs e BGMs. Os resultados do monitoramento com MQTs mostraram que, durante o período de intervenção, houve um número

significativamente menor de *Ae. aegypti* fêmeas, na área de coleta massal. Contudo, não houve diferença significativa entre as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas, em BGMs de monitoramento. Os resultados sugerem que as BGMs podem ser utilizadas como parte de uma estratégia de controle da dengue, juntamente com o MI-D. Entretanto, novos estudos são necessários para comprovação de um efeito significativo das armadilhas e para identificação da forma mais eficiente de combinação do MI-D com a coleta massal.

O objetivo do experimento descrito no capítulo IV foi comparar as capturas de mosquitos de dois tipos de armadilhas para *Ae. aegypti* adultos, para caracterizar as alterações temporais da população e investigar a influência de variáveis meteorológicas sobre estas. Além disso, a associação entre a captura de mosquitos adultos e a incidência de dengue foi analisada. A correlação entre a média mensal de capturas de *Ae. aegypti* e a incidência mensal de dengue foi moderadamente negativa para MQTs e moderadamente positiva para BGSs. Os dois tipos de armadilhas revelaram diferentes padrões temporais de infestação, com capturas maiores da MQT na estação seca, e maiores da BGS na estação chuvosa. Ambas as armadilhas foram sensíveis para detecção de vetores da dengue, em todas as semanas de monitoramento. Inúmeras variáveis meteorológicas foram apontadas como preditores significativos para a captura de mosquitos em BGSs. Para a MQT, apenas o número de dias chuvosos na semana anterior, que apresentou uma associação negativa, foi significativo. Estes resultados contribuem na compreensão dos efeitos das variáveis meteorológicas sobre os índices de infestação de mosquitos de duas armadilhas diferentes para vetores da dengue adultos, nas condições climáticas de Manaus.

Abstract

In the first three chapters of the present thesis, the BG-Sentinel (BGS), the MosquiTRAP (MQT) and the BG-Mosquitito (BGM) mosquito traps, designed for *Aedes aegypti* (L.) monitoring, were evaluated for their use as dengue vector control tools in mass trapping experiments. In the fourth chapter, longitudinal monitoring data of BGSs and MQTs were compared and associations between trap catches, dengue incidence and meteorological variables were analyzed.

The first experiment evaluated the effect of mass trapping with BGSs on adult populations of dengue vectors in Manaus (AM). Results of entomological monitoring indicate that mass trapping significantly reduced the abundance of adult females *Ae. aegypti* during the first five rainy months of the study, but not during the dry season. In the subsequent rainy season, less females were caught in the treated areas, however without significant difference in comparison to the control arm. The serological study for the presence of DENV specific IgM antibodies indicated, that recent dengue infections were less frequent in the mass trapping arm, but the difference in comparison to the control arm was not significant. The results were not completely conclusive but there is evidence that the BGS is a promising tool that might be used as a part of dengue control programs. However, additional studies are necessary to prove a significant effect of BGS mass trapping on vector abundance and dengue virus transmission.

In the second chapter, MQTs were evaluated as a dengue vector control tool in Manaus. Significantly more female *Ae. aegypti* were present in the treated areas during the intervention, in comparison to the untreated control areas. Therefore, entomological monitoring suggested that MQT mass trapping did not reduce the abundance of adult dengue vectors. The frequency of recent dengue infections was not reduced in the mass trapping arm. According to the results of this study there is no evidence that MQT mass trapping (using three traps per house) might be used as a part of dengue control programs in Manaus. Therefore, the use of MQT is only recommendable for *Ae. aegypti* monitoring.

In the third experiment, mass trapping with BGMs was used in a neighborhood of Sete Lagoas (MG) with high infestation of *Ae. aegypti*, according to the Intelligent Dengue Monitoring (MI-D). Monitoring was performed using MQTs e BGMs. Results of MQT monitoring revealed that there were significantly less gravid *Ae. aegypti* in the mass trapping area. The BGM monitoring traps however suggested no significant difference between the

adult female dengue vector catches in the two areas. The results indicate, that BGMs might be used as a part of dengue control strategies in combination with MI-D. Additional studies are necessary to prove a significant effect of the traps.

The objectives of the study described in chapter IV were to compare mosquito collections of two trap types, to characterize temporal changes of the mosquito population and to investigate the influence of meteorological variables on mosquito collections. Additionally, associations between adult mosquito collections and dengue incidence were analyzed. Correlation between mean monthly *Ae. aegypti* collections and monthly dengue incidence was moderate negative for MQT and moderate positive for BGS. The two traps revealed differing temporal infestation patterns, with highest mosquito collections of MQTs during the dry season and highest collections of BGSs during the first rainy season. Both traps were sensitive to detect the presence of dengue vectors in all monitoring weeks. Several meteorological variables were significant predictors of mosquito collections in BGS, but for MQT, only the number of rainy days in the previous week was significant. The findings help to understand the effects of meteorological variables on mosquito infestation indices of two different traps for adult dengue vectors in the climatic conditions of Manaus.

1 Introdução geral

1.1 Dengue

1.1.1 A doença

A dengue é uma arbovirose de rápida propagação em áreas tropicais e subtropicais (Figura 1). Cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em países endêmicos, em risco permanente de infecção (WHO 2009). Estima-se que de 50 a 100 milhões de novas infecções ocorrem anualmente no mundo, incluindo casos de doença febril branda, que não são notificados como dengue (WHO 2012).

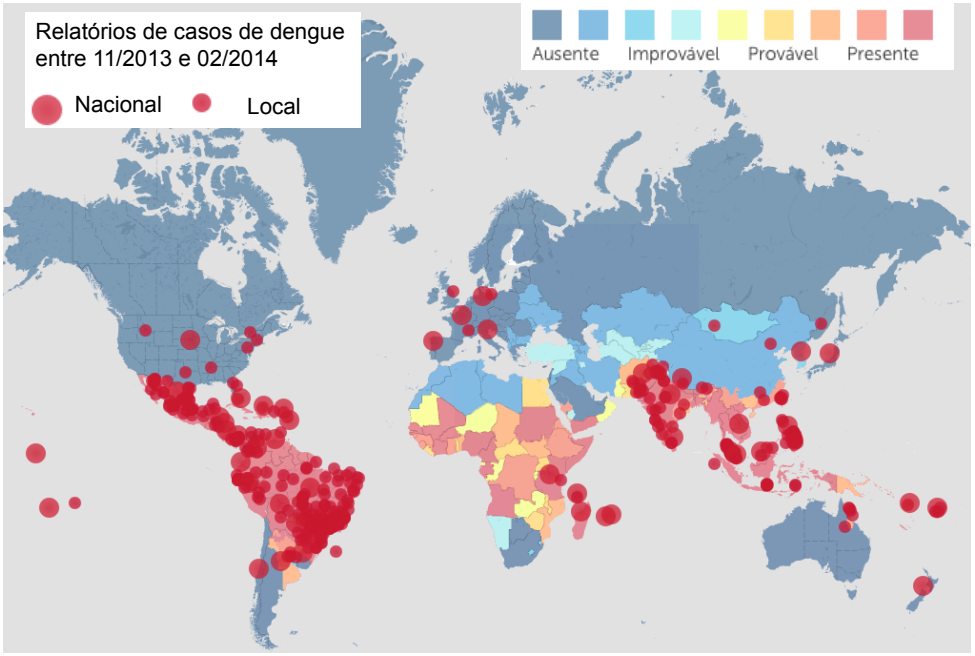


Figura 1. Mapa global consenso de áreas de risco para a dengue de 2013. A escala colorimétrica indica a probabilidade de risco de transmissão. As áreas de risco são determinadas por um consenso entre fontes de informação diferentes. Os pontos vermelhos representam notificações recentes de casos locais ou importados de dengue (CDC 2014).

O agente etiológico da doença é o DENV (dengue vírus), do gênero *Flavivirus,* família *Flaviviridae*. Nas últimas cinco décadas, quatro sorotipos do vírus (DENV-1, 2, 3 e 4) foram identificados e subdivididos em diversos genótipos (Mackenzie et al. 2004). Recentemente, um novo sorotipo denominado DENV-5 foi isolado em uma amostra de soro de um paciente com a forma grave da dengue, na ilha de Bornéu. Aparentemente, não há transmissão

sustentada desse sorotipo entre humanos e suspeita-se que o vírus circula entre primatas não-humanos em Bornéu (Normile 2013). A infecção com um dos sorotipos do vírus confere imunidade específica mas, não para os outros tipos virais. Desta forma, ao longo da vida, a infecção pelo vírus da dengue em um indivíduo pode ocorrer a quatro, ou de forma ainda não comprovada, cinco vezes.

As infecções podem se manifestar clinicamente com severidade altamente variável. A classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 1997 descreve a Febre da Dengue (FD), a Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e a Síndrome de Choque da Dengue (SCD) (WHO 1997). No caso do FD, as infecções são geralmente acompanhadas por febre, dores de cabeça, retro-orbitais e musculares, erupções cutâneas, náuseas e vômitos – manifestações inespecíficas, que tornam necessária a obtenção diagnóstico laboratorial. A FHD é caracterizada por febre alta, propensão à hemorragia, trombocitopenia e permeabilidade vascular significativamente aumentada, que leva à perda do plasma sanguíneo (o critério principal para determinação da severidade da FHD). A SCD é a forma mais grave da doença, na qual os pacientes entram em estado de choque –situação com alto risco de morte, na ausência de intervenção médica adequada (WHO 1997). A classificação de 1997 foi criticada por ser muito rígida e de difícil aplicação em lugares com recursos médicos limitados. Ainda mais, foi colocado que a classificação falha na identificação de grande número de casos severos (Srikiathachorn et al. 2011). A nova classificação da OMS diferencia a "Dengue sem Sinais de Alerta", a "Dengue com Sinais de Alerta" e a "Dengue Grave" (WHO 2009). Nesta, os critérios para "Dengue Grave" diferem substancialmente da classificação de FHD, uma vez que apenas um dos seguintes critérios é necessário: permeabilidade vascular significativamente aumentada, hemorragia ou falha de um órgão (Srikiathachorn et al. 2011). Desta forma, a ênfase para o aspecto mais importante, a permeabilidade vascular aumentada (fator que mais contribui para morbidade e mortalidade da doença) foi reduzida. Como consequência pode, por exemplo, acontecer que pacientes com níveis significativamente aumentados de enzimas hepáticas sejam classificados no quadro de Dengue Grave, mesmo na ausência de permeabilidade vascular aumentada ou hemorragia (Srikiathachorn et al. 2011). Por este motivo, médicos estão preocupados que este critério possa resultar em admissão excessiva de pacientes em hospitais, durante epidemias. Neste caso, a qualidade do atendimento hospitalar poderá ser afetada. Por isso, a nova classificação foi qualificada como "inútil" (Halstead 2013). Estima-se que, a cada ano, cerca de 500.000 pacientes com quadro grave são hospitalizados e, aproximadamente, 2,5% dos casos são fatais (WHO 2012).

Nas Américas, em torno de um milhão de casos foram registrados, na década de 80.

Entre 2000 e 2007, o número de casos passou para cerca de 4,8 milhões. Durante as últimas décadas, a morbidade e a mortalidade causadas pela dengue também aumentaram (San Martin et al. 2010).

O primeiro surto de dengue do século 20 no Brasil, causado pelos sorotipos DENV-1 e DENV-4, ocorreu na cidade Boa Vista, RO, entre 1981 e 1982 (Osanai et al. 1983). O DENV-1 foi introduzido no estado do Rio de Janeiro em 1986 (Schatzmayr et al. 1986). Com esse segundo evento e a propagação para outros estados, a dengue se tornou um sério problema de saúde no País. A situação se agravou após a introdução do DENV-2 em 1990, quando os primeiros casos fatais foram observados (revisado por Nogueira et al. 2007). Na década de 2000 a 2010, houve três epidemias em nível nacional, em 2002, 2008 e 2010. A maior epidemia ocorreu em 2013, quando em torno de 1,4 milhões de casos foram notificados (Figura 2). Atualmente, a transmissão da doença ocorre em quase todo o país (Figura 3).

Um número crescente de casos graves da doença foi observado na década passada, refletindo um aumento da taxa de casos de hospitalização. Em 1998, houve apenas 4 hospitalizações por 100.000 casos e em 2010, o número aumentou para 49 (Teixeira 2012).

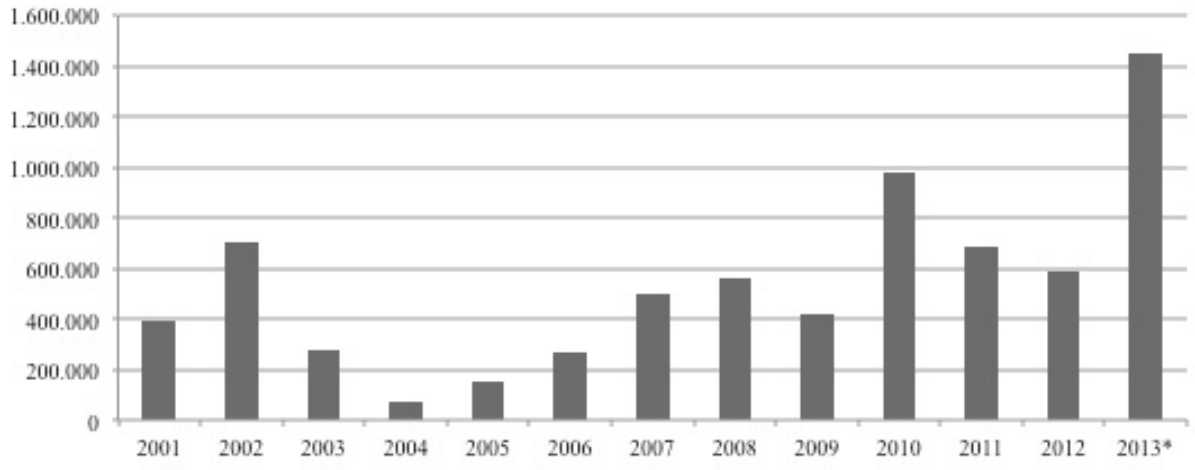


Figura 2. Número de casos notificados de dengue no Brasil entre 2001 e 2013. (SINAN 2014, *PAHO 2014)

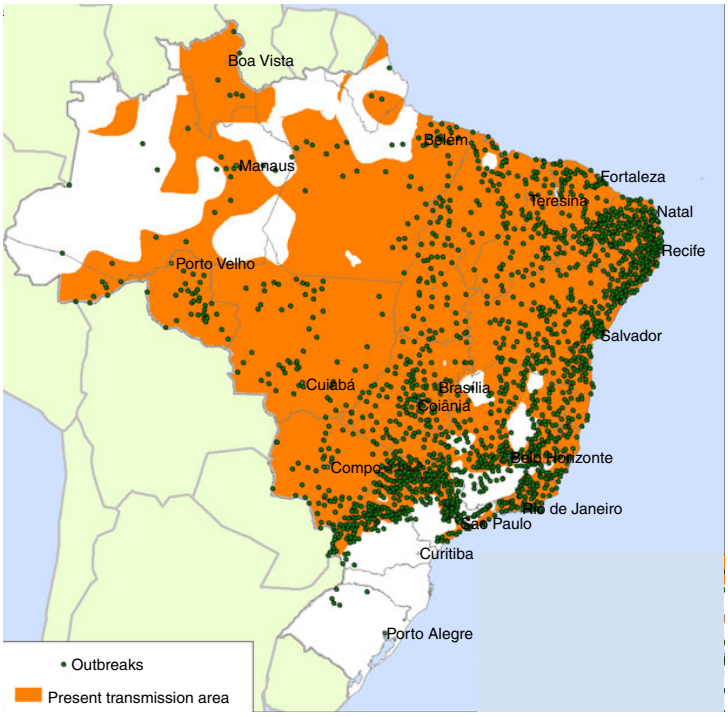


Figura 3. Mapa da área de transmissão de dengue no Brasil em 2012 (em laranja) e localidades de surtos de dengue (pontos verdes) entre 2001 e 2012. (Barcellos e Lowe 2014).

1.1.2 Impacto econômico

Em função da complexidade da análise dos custos indiretos, como perda de horas de trabalho, de aulas, produtividade, ou prejuízos no turismo, o impacto econômico real da dengue é dificilmente estimado com precisão.

Em Cuba, houve uma grande epidemia em 1981 e os custos associados foram avaliados em torno de 103 milhões de dólares, considerando despesas médicas, salários pagos, custos diretos do controle vetorial, da campanha educativa e perda de produtividade (Kouri et al. 1989). Shepard e colaboradores estimaram os custos anuais médios da dengue nas Américas em 2,1 bilhões de dólares, não incluindo os custos do controle vetorial (Shepard et al. 2011).

No Brasil, são raros os estudos sobre o impacto econômico da dengue. Os custos diretos do programa de prevenção e controle da dengue em 2005 foram calculados em R$ 21.774.282, no Município de São Paulo (Taliberti & Zucchi 2010). O custo direto e indireto da dengue em 21 municípios de Minas Gerais, com uma população total de cerca 2 milhões habitantes, foi estimado em US$ 19.557.671, no período entre abril de 2009 e junho de 2011 (Pepin et al. 2013). Suaya e colaboradores (2009) levantaram os custos diretos e indiretos da dengue em oito países, incluindo o Brasil, utilizando os dados de 2005, sobre pacientes tratados em ambulatórios e hospitais de Goiânia. Os custos totais por caso tratado foram, em

média, 291 e 676 dólares em ambulatórios e hospitais no Brasil, respectivamente. Dos casos tratados em ambulatórios, os estudantes perderam em média 5,2 dias de escola e trabalhadores faltaram ao trabalho, em média, 7,1 dias. A perda para pessoas hospitalizadas foi de 6,8 dias de escola e 10,7 de trabalho. Os custos da dengue no Brasil, excluindo os custos totais do monitoramento e combate vetorial, foram estimados em 135,2 milhões de dólares anuais (Suaya et al. 2009).

A influência da morbidade e mortalidade de uma doença em uma população pode ser expressa em forma do índice AVAI (Anos de Vida Ajustados por Incapacidade, do inglês "DALY" - "Disability-Adjusted Life Years"), originalmente usado no Relatório de Desenvolvimento Mundial (*World Development Report*) do Banco Mundial, em 1993. A perda média anual de AVAIs causada pela dengue, por um milhão de habitantes em Porto Rico, de 1984 a 1994, foi estimada em 580 AVAIs. Este valor é comparável com a perda de AVAIs causada por meningite, hepatite, malária ou doenças da infância (poliomielite, sarampo e difteria) na América Latina e Caribe (Meltzer et al. 1998). No Sudeste da Ásia, a perda anual causada pela dengue foi estimada em 420 AVAIs por milhão de habitantes, correspondendo a um terço do prejuízo causado pelo HIV na região (Shepard et al. 2004). Entre os anos 1986 e 2006, foram perdidas por causa da dengue em média 22 e 56 AVAIs por milhão de habitantes no Brasil e na cidade de Rio de Janeiro, respectivamente (Luz et al. 2009). No ano 2002, foram perdidas 560 AVAIs por uma milhão de pessoas no Rio de Janeiro (Luz et al. 2009).

1.1.3 O *Aedes aegypti* e a transmissão da dengue

O vírus é transmitido durante a hematofagia, através da saliva de mosquitos *Aedes* (*Stegomyia*) spp. infectados. No Brasil, o vetor é o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Linnaeus 1762). Atenção também tem sido dedicada ao "tigre asiático", o *Aedes albopictus* (Skuse 1894) embora, a transmissão natural da dengue por este mosquito ainda não tenha sido comprovada no Brasil e não é aceita pelo Ministério de Saúde. No entanto, o isolamento de DENV-1, DENV-2 e DENV-3, em larvas infectadas desta espécie, coletadas nos estados de Minas Gerais (Cecilio et al. 2009; Serufo et al. 1993), São Paulo (Figueiredo et al. 2010) e Ceará (Martins et al. 2012), já foi descrito. Mais ainda, a susceptibilidade e a capacidade elevada de transmissão vertical do vírus da dengue foram comprovadas em linhagens brasileiras de *Ae. albopictus* (Castro et al. 2004) e a infecção natural de adultos de *Ae. albopictus* já foi demonstrada na Colômbia (Mendez et al. 2006).

Os adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* se caracterizam por apresentar o corpo com

aspecto enegrecido e desenhos de escamas branco-prateadas (Figura 4). A diferença mais marcante entre as duas espécies é o detalhe no escudo: o *Ae. aegypti* apresenta um desenho em forma de uma lira, enquanto o *Ae. albopictus* possui uma faixa longitudinal (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994).



Figura 4. Fêmeas de *Ae. aegypti* (esquerda) e *Ae. albopictus* (direta) (Florida Medical Entomology Laboratory 1999).

O *Ae. aegypti* é uma espécie oriunda do continente africano, originalmente descrita no Egito (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Na década de 2000, essa espécie se disseminou por quase todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (Mackenzie et al. 2004). No período colonial, os "mosquitos da Febre Amarela" foram introduzidos no Brasil (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994) e os primeiros registros de epidemias no país são datados em 1845 (Pinheiro & Nelson 1997). Em 1955, o mosquito foi considerado erradicado, como consequência do combate extensivo da Febre Amarela (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). A segunda infestação do Brasil por *Ae. aegypti* se iniciou doze anos depois, inicialmente em Belém (PA) (MS/FUNASA 2001; Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). Atualmente, o mosquito é encontrado em todos os estados do país.

Os mosquitos adultos de ambos os sexos se alimentam de néctar de flores. Para o desenvolvimento dos ovos, as fêmeas necessitam de proteínas, que obtém em repastos sanguíneos, realizados preferencialmente no período diurno. Desta forma, somente as fêmeas estão diretamente envolvidas na transmissão do vírus. A localização dos hospedeiros é baseada em estímulos olfatórios, visuais e térmicos (Becker 2010). Em áreas urbanas, o *Ae. aegypti* se alimenta quase exclusivamente em seres humanos (Ponlawat & Harrington 2005; Scott et al. 1993a). Frequentemente, as fêmeas realizam múltiplos repastos sanguíneos em cada ciclo gonotrófico, especialmente, quando são interrompidas durante o processo (Scott et

al. 1993b). Tal comportamento favorece a propagação do vírus entre hospedeiros.

Os mosquitos se infectam, principalmente, a partir da hematofagia em humanos portadores do vírus. O intervalo entre o repasto sanguíneo infectante e a transmissão do vírus para uma outra pessoa (período de incubação extrínseco, PIE) é de 5 a 33 dias (média de 15 dias), em um ambiente com temperatura média de 25°C. Com temperatura ambiental média de 30°C, o PIE é diminuído para 2 a 15 dias (média 6,5 dias) (Chan & Johansson 2012). As fêmeas infectadas podem também transmitir o vírus verticalmente (Gokhale et al. 2001; Khin & Than 1983; Serufo et al. 1993).

Após um repasto sanguíneo completo, o *Ae. aegypti* produz e deposita em torno de 100 ovos (Nelson 1986), altamente resistentes à desidratação. Este aspecto assegura viabilidade dos ovos por meses, em ambientes com baixas umidades (Hien 1976) e favorece a dispersão passiva dos mosquitos.

As fêmeas tem preferência por criadouros com água relativamente pobre em matéria orgânica e utilizam para desova uma grande variedade de recipientes comuns do ambiente urbano, como por exemplo, caixas d´água, tonéis, latões, cisternas, frascos e latas vazias, pneus, pratos de vasos, bromélias etc. (Consoli & Lourenço-de-Oliveira 1994). A escolha de um criadouro apropriado é fundamental para assegurar o desenvolvimento completo até a forma adulta. Para isso, o criadouro não deve secar, a presença de predadores deve ser limitada e a abundância de material orgânico para a alimentação das larvas é necessária, ao longo do processo. A oviposição é mediada por estímulos físicos e químicos. Por exemplo, a adição de uma infusão de feno fermentada aumenta a atratividade das ovitrampas (Reiter et al. 1991). Sant'ana e colaboradores (2006) mostraram ainda que a atratividade da infusão depende do estado da folha utilizada (fresca e madura, fresca e imatura, seca), tipo (aeróbico ou anaeróbico) e duração da fermentação. Outro fator que parece estimular a oviposição é a presença de ovos coespecíficos, em uma certa quantidade (Allan & Kline 1998; Williams et al. 2008). Um estudo recente, em condições de campo e semi-campo, revelou que as fêmeas grávidas depositam os ovos preferencialmente em criadouros, que já contém larvas e pupas de fêmeas coespecíficas (Wong et al. 2011). O mesmo estudo apontou que vários fatores secundários influenciam as fêmeas grávidas na seleção de criadouro, como o tamanho, tipo de manejo e a exposição à luz solar do criadouro. Em relação ao tamanho, ficou evidente que as grávidas preferem os criadouros maiores, provavelmente, por causa da menor chance de dessecação e maior abundância de alimento (Wong et al. 2011).

Os ovos são depositados em diversos criadouros, um comportamento chamado "oviposição em saltos" (do termo inglês *skip oviposition*) (revisado por Reiter 2007). É

altamente provável que tal comportamento represente uma estratégia evolutiva para redução dos riscos dos criadouros temporários e para evitar grandes populações de larvas em criadouros com nutrientes limitados (Reiter 2007). Portanto, a oviposição em saltos é um fator que contribui para dispersão dos vetores da dengue.

Vários estudos com objetivo de avaliar a dispersão de *Ae. aegypti* foram conduzidos, em lugares com diferentes condições ambientais. Em geral, o *Ae. aegypti* voa de 100 a 500 m (McDonald 1977; Ordonez-Gonzalez et al. 2001; Russell et al. 2005; Trpis & Hausermann 1986). Estas distâncias são pequenas em comparação com outras espécies de mosquitos como, por exemplo, o *Ochlerotatus taeniorhynchus* (Wiedemann) ou *Coquilettidia pertubans* (Walker), que voam 10 km ou mais (Becker 2010). Em uma área urbana no estado do Rio de Janeiro, ovos marcados de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* foram recuperados em ovitrampas, posicionadas em distâncias de 800 m do ponto de liberação das fêmeas grávidas, seis dias após a liberação (Honório et al. 2003). Como não havia armadilhas posicionadas em distâncias maiores, os autores do estudo concluíram que é altamente provável que a dispersão seja ainda maior que 800 m. Esse resultado confirma que mosquitos infectados com DENV tem a capacidade de disseminar o vírus em grandes áreas urbanas, em poucos dias.

1.2 O controle da dengue

No momento, nenhuma vacina licenciada para a dengue está comercialmente disponível no mercado. A pesquisa sobre as vacinas é dificultada por diferentes motivos, especialmente a necessidade de polivalência, ou seja, a imunização simultânea para todos os sorotipos virais conhecidos (Hombach 2007). A recente descoberta do DENV-5 (Normile 2013) poderá dificultar ainda mais o desenvolvimento de uma vacina, de maneira que uma quinta valência poderá ser necessária.

Na década passada, houve progresso no desenvolvimento de uma vacina para a dengue. No momento, há seis vacinas candidatas tetravalentes em estudos clínicos de fases I a III (Gubler 2011b). A vacina candidata em avaliação, na fase de teste mais avançada, é a da empresa Sanofi Pasteur, que se encontra em fase III (Bärnighausen et al. 2013; Wallace et al. 2013). Um estudo clínico da fase IIb, com 4002 crianças na idade escolar na Tailândia, foi completado recentemente (Sabchareon et al. 2012). Nesse estudo, não foram observados efeitos colaterais, durante dois anos. A proteção para infecções com DENV variou de acordo com o sorotipo. A proteção contra DENV-2 não foi significativa e para os demais sorotipos variou entre de 60 a 90% (Sabchareon et al. 2012).

Na ausência de uma vacina, o esforço da luta e prevenção da doença está limitado, por ora, ao controle de vetores. Em 1996, o Ministério da Saúde do Brasil criou o Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa). Com a implementação do PEAa, houve um aumento das ações de controle do vetor porém, ficou evidente, que a erradicação do *Ae. aegypti* não pode ser alcançada (MS/FUNASA 2002). No ano de 2002, o Ministério da Saúde elaborou com o apoio da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), o "Programa Nacional de Controle da Dengue" (PNCD), que descreve como a vigilância e controle da dengue devem ser realizados no Brasil, com os objetivos de reduzir a incidência da doença, os níveis de infestação de *Ae. aegypti* e a letalidade dos casos de dengue hemorrágica no país (MS/FUNASA 2002). As metas do PNCD são (1) "reduzir a menos de 1% a infestação predial em todos os municípios" (2) "reduzir em 50% o número de casos de 2003 em relação a 2002, e nos anos seguintes, 25% a cada ano" e (3) "reduzir a letalidade por FHD a menos de 1%" (MS/FUNASA 2002). Pessanha e colaboradores (2009) avaliaram o PNCD em municípios considerados prioritários (capitais, municípios com ≥ 50 mil habitantes e municípios considerados possíveis pontos de entrada de novos sorotipos) e descreveram que as metas não foram completamente alcançadas. A meta da redução de casos foi alcançada em 51% dos municípios, a taxa de letalidade ficou abaixo do limite de 1% em 77% dos municípios, e mais de 50% dos municípios apresentaram índices de infestação acima de 1% (Pessanha et al. 2009).

A vigilância entomológica do PNCD é baseada na inspeção de residências para verificação da presença de criadouros dos vetores da dengue. O objetivo é monitorar a densidade de vetores em ambientes urbanos, a fim de direcionar as ações de controle. Durante as inspeções, todos os possíveis criadouros são examinados, as larvas são coletadas e o Índice de Infestação Predial (IIP = percentagem de casas examinadas positivas para larvas de *Ae. aegypti)* (Connor & Monroe 1923), o Índice de Breteau (IB = número total de recipientes com larvas de *Ae. aegypti* por 100 residências) (Breteau 1954) são calculados. Recentemente no Brasil, os índices de larvas são rotineiramente calculados baseados em um método denominado "Levantamento de Índice Rápido de Infestação da *Aedes aegypti*" (LIRAa) (MS/SVS 2012). Para a realização do LIRAa, os municípios estão divididos em estratos de, 8100 - 12000 imóveis. O tamanho da amostra (número de imóveis inspecionados por estrato), varia de 426 a 450, dependendo do número dos imóveis do estrato. O número de quarteirões inspecionados por estrato depende do número médio de imóveis por quarteirão. Em cada quarteirão selecionado, 20% dos imóveis são inspecionados para presença de larvas de *Ae. aegypti* e os IIP e IB são calculados para cada estrato (MS/SVS 2012). Concomitantemente,

todos os depósitos de água são examinados e classificados em grupos, de acordo com a regulamentação oficial (MS/SVS 2012). Os IIP e IB são importantes para avaliar o efeito das intervenções de controle de larvas. Entretanto, o valor destes índices, para estimativa das populações de vetores adultos ou dos riscos de transmissão da dengue, é limitado (Focks 2003). Adicionalmente, o LIRAa, realizado até 4 vezes ao ano, apresenta uma baixa resolução espacial e temporal e não toma em consideração a produtividade significativamente diferente, observada nos diversos criadouros estudados (Focks 2003).

Outro método recomendado pelo PNCD, para o monitoramento entomológico, é a utilização de armadilhas de oviposição (ovitrampas). Este método é altamente sensível para detecção de *Ae. aegypti* (Focks 2003). As ovitrampas consistem em um recipiente plástico preto, contendo uma infusão de feno e uma palheta de madeira fixada no interior, na qual *Ae. aegypti* grávidas depositam seus ovos (Fay & Eliason 1966). A palheta pode ser removida e enviada para um laboratório, onde o número de ovos depositados será contado. Desta maneira, a presença dos vetores da dengue é detectada indiretamente pelos ovos nas ovitrampas. Contudo, como o número de ovos depositados por fêmea é desconhecido, não há como determinar quantos indivíduos depositaram seus ovos na armadilha.

Os principais métodos de controle utilizados, além da eliminação dos criadouros durante as visitas das casas, são os tratamentos focal, perifocal e ultrabaixo volume (UBV). O tratamento focal se baseia na utilização de inseticidas, como o Temefós, contra as larvas em recipientes com água. Os principais entraves para esse tipo de controle são a recusa dos moradores ao tratamento dos recipientes de água e também a necessidade da sua repetição regular. O tratamento perifocal é recomendado para locais recentemente colonizados por vetores ou inadequados para a alternativa focal. Nestes terrenos, como depósitos de sucata, uma camada de inseticida de ação residual é aplicada nas paredes externas dos objetos com aspersores manuais, objetivando atingir mosquitos adultos. O tratamento de ultrabaixo volume é realizado nos surtos e epidemias da doença ou para bloqueio de transmissão, em paralelo com os demais tipos de controle (MS/SVS 2009a). Para o bloqueio, o tratamento é realizado no quarteirão onde houve um caso de dengue e nos adjacentes, em um raio de 150 m (MS/SVS 2009a). Um dos problemas observados neste método reside no fato de que os inseticidas são aplicados por veículos com máquinas pulverizadoras nas ruas. Esse sistema de aplicação é pouco eficaz, uma vez que *Ae. aegypti* é raramente afetado, devido à sua permanência preferencial no interior das casas. Neste sentido, mosquitos adultos sofrerão exposições subletais ou nulas aos inseticidas, tornando o tratamento UBV ineficaz ou limitado (Castle et al. 1999; Perich et al. 2000). Ademais, já foi demonstrado que os vetores tem a

capacidade de voar distâncias bem maiores que 150 m, em áreas urbanas do Brasil, em poucos dias (Honório et al. 2003). Consequentemente, no momento da tentativa de bloqueio da transmissão, após a confirmação do caso de dengue, é altamente provável que os mosquitos infectados no indivíduo virêmico já tenham se distanciado muito além do raio tratado, de 150 m descrito.

Outra desvantagem do uso de agentes químicos no controle de mosquitos está relacionada com o desenvolvimento de resistência (WHO 1992). A Rede Nacional de Monitoramento da Resistência do *Aedes aegypti* a Inseticidas (MoReNAa), criada em 1999, é uma das ações incorporadas ao PNCD. Essa rede avaliou a resistência de populações de *Ae. aegypti* ao organofosforado Temefós (Braga & Valle 2007). Este agente químico tem sido utilizado no Brasil para controle da dengue e da febre amarela, desde o fim da década de 60. A resistência foi detectada em muitas das populações de mosquitos avaliadas (Braga et al. 2004). A partir dos resultados obtidos pela MoReNAa, medidas de manejo da resistência de *Ae. aegypti* foram incluídas na estratégia de controle vetorial. A aplicação sistemática do Temefós que, além do tratamento focal, foi também empregada para o controle de vetores adultos no Brasil, contribuiu para o desenvolvimento de altas taxas de resistência. Para evitar esse efeito, o uso dos organofosforados para controle de adultos foi substituído por piretróides, que atuam com um modo de ação distinto (Braga & Valle 2007). Em áreas críticas, o uso de Temefós em criadouros foi substituído pelo agente de controle biológico, o *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) (Braga & Valle 2007). Atualmente, o Ministério de Saúde recomenda o uso de *Bti*, quando os mosquitos locais são resistentes aos organofosforados (MS/SVS 2009a). As desvantagens do *Bti*, quando comparado ao Temefós, são a sua curta persistência no ambiente e seu maior custo (Braga & Valle 2007).

De maneira que, é necessária a avaliação de substâncias alternativas para o uso em água potável. Recentemente, foi descrito que a presença de larvas coespecíficas aumenta significativamente a seleção de criadouros para oviposição de *Ae. aegypti*, em condições de semi-campo (Wong et al. 2011). Isso implica que o uso de estratégias pupicidas e não larvicidas, como os reguladores de crescimento metoprene ou pyriproxifen, tem um efeito maior no controle vetorial. O pyriproxifen mostrou ser de grande interesse, uma vez que as fêmeas podem transferir essa substância de um criadouro para outros (Devine et al. 2009; Wong et al. 2011).

1.3 Novas ferramentas no controle de dengue

Como a maioria das ferramentas de controle dos vetores da dengue disponíveis atualmente apresentam eficácia limitada, o Grupo de Trabalho Científico sobre a dengue (*Scientific Work Group*, SWG) do Programa Especial de Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais da OMS (*World Health Organization Special Programme in Research and Training in Tropical Diseases* - WHO/TDR) apontou a necessidade do desenvolvimento e avaliação de novas estratégias de controle (TDR/WHO 2007). Tais estratégias devem ser ambientalmente corretas, seguras, eficazes, com boa relação custo-benefício e aceitas pela população, uma vez que dependem da sua participação ativa.

Com este objetivo, várias pesquisas vem sendo realizadas em diversas áreas de conhecimento, desde a geração de novos inseticidas com efeito residual até o desenvolvimento de estratégias biológicas e genéticas. Para controlar os vetores e, consequentemente, reduzir o número de casos da dengue, é improvável que uma dessas estratégias, empregada de forma isolada, resolverá o problema. Um programa sustentável e de longo prazo necessita da associação de várias formas de controle e da participação das comunidades (Gubler 2005; Gubler 2011a).

Em alguns casos, o controle biológico tem provado ser eficaz, como a aplicação de Copépoda ou peixes larvófagos, em tanques que servem como criadouros de mosquitos (Kay & Vu 2005; Kay et al. 2002; Nam et al. 2012; Pamplona et al. 2004; Seng et al. 2008). Essa estratégia funciona somente em locais onde os criadouros principais de *Ae. aegypti* são tanques com grandes volumes de água, necessários para estes peixes. O grande sucesso dos estudos realizados no Vietnã também foram atribuídos à grande participação da comunidade em projetos de reciclagem de pequenos recipientes, não adequados para o tratamento com Copépoda (Kay et al. 2002).

Uma abordagem mais recente do controle biológico é a introdução da *Wolbachia*, uma bactéria intracelular, em populações de *Ae. aegypti*. Quando infectados com essa bactéria, a vida dos mosquitos é reduzida à metade e a sua competência vetorial é prejudicada (McMeniman et al. 2009; Moreira et al. 2009). O primeiro estudo de campo foi realizado em Queensland na Austrália em 2011, onde a infecção com *Wolbachia* em mosquitos liberados se disseminou com sucesso em duas populações locais de *Ae. aegypti* (Hoffmann et al. 2011). Desta forma, foi possível estabelecer uma população de mosquitos com capacidade reduzida de infectar humanos com o vírus da dengue. O próximo passo dos estudos de controle biológico com *Wolbachia* é a verificação da eficácia da estratégia no combate de FD e FHD

(Hoffmann et al. 2011). O projeto "Eliminar a Dengue – desafio Brasil", uma cooperação internacional com participação da Fiocruz, se encontra em fase de preparação para a liberação de *Ae. aegypti* infectados com *Wolbachia* no Rio de Janeiro, planejada para meados de 2014. Para aplicação do método, o apoio da população é indispensável, considerando que em algumas regiões, os habitantes se mantém céticos e mesmo resistentes, quanto à liberação de mosquitos infectados, para diminuição da capacidade vetorial da população de mosquitos no local.

Outra estratégia é a técnica de insetos estéreis (SIT, do inglês: *sterile insect technique*), na qual machos estéreis são liberados para o acasalamento com fêmeas selvagens. Essa técnica tem sido utilizada com sucesso contra a mosca de miíase, *Cochliomyia hominovorax*, e contra a mosca-das-frutas-do-mediterrâneo, *Caratitis capitata*. Todavia, não houve ainda estudos em grande escala sobre esta técnica para o combate de mosquitos. Um dos problemas observados deste método foi uma redução drástica na capacidade de acasalamento dos machos esterilizados pela radiação. Estes machos apresentam uma desvantagem competitiva com os machos selvagens locais (Wilke & Marrelli 2012). Por esta razão, o SIT foi aperfeiçoado com o uso de alterações genéticas, em substituição à esterilização por radiação. A técnica é chamada "liberação de insetos portadores de (gene) letal dominante" (*Release of Insects carrying a Dominant Lethal* - RIDL) (Thomas et al. 2000).

A Oxitec, empresa *spin-off* da Universidade de Oxford no Reino Unido, desenvolveu duas cepas RIDL de *Ae. aegypti*, que vem sendo avaliadas para o uso em grande escala (Lacroix et al. 2012; Wise de Valdez et al. 2011). Uma cepa já foi testada em campo aberto na ilha Grande Caimã e na Malásia, onde a competição para acasalamento, a longevidade e dispersão dos machos foram analisadas. O resultado da competição de acasalamento no campo foi positivo. A longevidade dos mosquitos transgênicos liberados foi comparável com a dos selvagens porém, a sua dispersão foi menor (Harris et al. 2011; Lacroix et al. 2012). No Brasil, foi desenvolvido o Projeto *Aedes* Transgênico (PAT), uma colaboração entre a empresa Oxitec, a empresa brasileira Moscamed e a Universidade de São Paulo (USP). A partir desta colaboração, um estudo de campo com a participação da comunidade local, foi recentemente finalizado em Juazeiro, na Bahia. Neste experimento, as larvas de *Ae. aegypti* provenientes de gerações transgênicas apresentam fluorescência, de forma que sua paternidade pode ser evidenciada, com o uso de ovitrampas e a posterior eclosão dos ovos coletados. Com aumento de mosquitos liberados no campo em Bahia, a porcentagem de larvas fluorescentes e, por conseguinte, de mosquitos portadores do gene RIDL que não se tornaram adultos, aumentou em até 97%, resultando na supressão da população selvagem

(Carvalho et al. 2012). Esse resultado é muito promissor porém, estudos em grande escala serão necessários para confirmar a eficiência da estratégia em grandes centros urbanos. Ainda mais, além da necessidade de avaliar a relação de custo-benefício do método, existem questões sobre biossegurança, aspectos legais, éticos e sociais a serem esclarecidas.

Neste sentido, o Programa Especial de Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais da OMS (WHO/TDR) financiou o projeto MosqGuide, com a finalidade de desenvolver diretrizes para uma possível abordagem de mosquitos modificados geneticamente, aplicados no controle da dengue e da malária (Mumford et al. 2009).

Uma estratégia não biológica de controle vetorial, praticada na década passada com sucesso na América Latina, é baseada no uso de materiais impregnados com inseticidas, como mosquiteiros, cortinas ou coberturas para jarros de armazenamento de água (Kroeger et al. 2006; Lenhart et al. 2008; Vanlerberghe et al. 2011). Entretanto, os resultados promissores do uso de cortinas impregnadas não foram confirmados na Tailândia (Lenhart et al. 2013). Estudos em grande escala ainda não foram conduzidos e questões a respeito da duração do efeito da impregnação em campo, sobre a transmissão da doença e a relação custo/benefício precisam ser respondidas (Vanlerberghe et al. 2011).

1.4 Coleta massal por armadilhas

A coleta massal é baseada na utilização de armadilhas para o controle, eliminação ou erradicação de pragas, geralmente com a ajuda de atrativos sintéticos espécie-específicos, como feromônios sexuais ou de agregação, em uma área geograficamente definida (El-Sayed et al. 2006). No campo da Entomologia Agrícola, a técnica da coleta massal tem sido utilizada para combater várias pragas como, por exemplo, *Cydia pomonella* (mariposa-das-maçãs), *Pectinophora gossypiella* (lagarta rosada), *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro). Os resultados encontrados foram variáveis, uma vez que dependem de diferentes fatores, como formulação e dosagem do atrativo, desenho experimental, densidade e posicionamento das armadilhas e densidade populacional do organismo de alvo (revisado por El-Sayed et al. 2006).

Ainda na Entomologia Médica, alvos iscados tem sido usados com sucesso para moscas tsé-tsé (*Glossina morsitans*), transmissoras da tripanossomíase em humanos (doença do sono) e bovinos (doença nagana) (Vale et al. 1988; Willemse 1991).

A exploração da coleta massal para o manejo de mosquitos foi estimulada em 1989, quando o 1º Simpósio Internacional sobre Atrativos de Insetos Hematófagos foi realizado em

Minneapolis, EUA (Kline 2006). Antes de 1989, as armadilhas foram utilizadas apenas como instrumentos de vigilância em programas de controle de mosquitos em geral, para avaliar sua eficácia. Naquela década, existiam apenas dois tipos de armadilhas para mosquitos: a luminosa New Jersey (Mulhern 1985) e a CDC (Centers of Disease Control) (Sudia & Chamberlain 1988).

Desde 1995, várias empresas privadas passaram a desenvolver novas armadilhas, atualmente disponíveis no mercado, projetadas para mosquitos (Kline 2006). O primeiro estudo de campo para avaliar o controle de mosquitos, baseado na combinação de armadilhas com atrativos, foi realizado entre 1993 e 1995, em uma ilha isolada na Flórida, EUA, onde o *Ae. taeniorhynchus* foi a espécie predominante (Kline & Lemire 1998).

Para o controle do *Ae. aegypti*, experimentos de coleta massal foram realizados com ovitrampas letais (OLs) no Brasil, Tailândia, Colômbia e Austrália (Ocampo et al. 2009; Perich et al. 2003; Rapley et al. 2009; Sithiprasasna et al. 2003). A diferença entre as OLs e ovitrampas convencionais (como antes mencionadas) é o tratamento da palheta de oviposição com uma inseticida. Os mosquitos se intoxicam quando entram em contato com o substrato de oviposição impregnado com inseticida. No estudo realizado no Brasil, em um dos dois municípios selecionados, o número médio de *Ae. aegypti* adultas capturadas com aspiradores foi significativamente reduzido na área tratada, em comparação com a de controle. Reduções significativas de pupas por pessoa e do número de criadouros positivos foram observadas em ambos municípios (Perich et al. 2003). Na Tailândia, as OLs promoveram um efeito não significativo sobre todas as variáveis de monitoramento no primeiro ano do experimento, provavelmente devido a uma contaminação fúngica das faixas letais de oviposição. No ano seguinte, sem o problema da contaminação, uma supressão significativa de larvas, pupas e adultos de *Ae. aegypti* foi alcançada (Sithiprasasna et al. 2003). No trabalho realizado na Colômbia, a coleta massal, associada à educação dos moradores, não foi mais eficiente do que o uso exclusivo da campanha educacional (Ocampo et al. 2009).

Na Austrália, dois experimentos de campo com quatro semanas de duração, um na estação chuvosa e outro na seca, foram promovidos para avaliar a associação da coleta massal usando OLs, com o controle de larvas e o uso de armadilhas BG-Sentinel (BGS), em algumas residências. Na estação seca, não houve redução significativa de adultos e ovos *de Ae. aegypti*. Na estação chuvosa, os números médios de adultos e de ovos de *Ae. aegypti* foram significativamente diminuídos na área com OLs, BGSs e controle larvário, em comparação com a área sem tratamento e a com somente controle de larvas (Rapley et al. 2009). Os autores atribuíram o efeito de supressão da população na estação chuvosa, principalmente, ao

uso das OLs, uma vez que foram utilizadas BGSs apenas em uma pequena fração do número de casas.

Na mesma publicação, os autores apresentam resultados de um terceiro experimento de coleta massal com ovitrampas letais biodegradáveis (OLBs), desenvolvido em associação com o controle larvário, na estação chuvosa. Neste caso, uma queda significativa do número de adultos capturados em BGS de monitoramento foi observada porém, não houve redução de capturas em ovitrampas com cartão adesivo (*sticky ovitraps*) (Rapley et al. 2009).

Em função dos diferentes desenhos experimentais, uma comparação direta entre esses estudos é controversa. Em suma, a maioria dos estudos com OLs demonstrou o potencial da coleta massal para redução de populações de *Ae. aegypti* mas, nenhum deles avaliou o efeito da técnica na redução de casos de dengue. Ademais, a coleta massal é vista como uma técnica a ser utilizada em conjunto com outras medidas de controle vetorial.

O único estudo, até o presente momento, que avaliou uma estratégia integrada de controle, incluindo o uso em massa de OLs, foi procedido em áreas rurais na Tailândia. Neste estudo, além das OLs, as medidas de controle vetorial consistiram na redução de criadouros com participação ativa da comunidade, uso de *Bti* e copépoda em criadouros, uso de coberturas para alguns tipos de criadouros, aplicados em áreas focais de transmissão da doença. Estes focos foram identificados a partir da presença de crianças soropositivas para DENV (Kittayapong et al. 2008). A interpretação dos resultados apontou um efeito significativo na redução de mosquitos e na supressão da transmissão de DENV, na população humana (Kittayapong 2008). Entretanto, antes da utilização rotineira desta estratégia integrada, recomenda-se a realização de experimentos em grande escala, na forma de estudos controlados de conglomerados randomizados (*cluster randomized controlled trials*). Nestes, é necessária a avaliação de cada componente do controle integrado e a análise do seu efeito sobre a incidência da doença, em áreas rurais e urbanas. Apenas a interpretação dos resultados destes experimentos poderá comprovar o efeito da coleta massal com OLs, em estudos integrados.

1.5 Novas tecnologias de armadilhas para mosquitos

1.5.1 MosquiTRAP®

A MosquiTRAP® (MQT) é uma armadilha ambientalmente correta, desenvolvida, na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e licenciada pela empresa *spin-off* Ecovec SA (Belo Horizonte, MG, Brasil), especialmente para o monitoramento de *Ae. aegypti*

grávidas. A armadilha atrai mosquitos por estímulos visuais e olfativos.

A MQT, com 33 cm de altura, é composta por duas subunidades plásticas pretas. A parte inferior tem fundo vedado e é preenchida com cerca de 300 mL de água de corrente comum (Figura 5). A parte superior é aberta para permitir o acesso dos mosquitos ao interior da armadilha, onde serão capturados em um cartão adesivo. Neste cartão, há um liberador do atraente de oviposição sintético (AtrAedes™, Ecovec SA), que torna a armadilha particularmente atraente para fêmeas grávidas. O cartão adesivo com mosquitos capturados é de fácil substituição (Eiras & Resende 2009).

Os agentes de campo podem identificar os mosquitos nas inspeções das armadilhas em poucos minutos, com a ajuda de uma lupa. O tempo gasto para a vistoria da MQT é 17 minutos menor que o da realização da pesquisa larvária, implicando um aumento de eficiência e redução de custos (Resende et al. 2010). As armadilhas devem ser instaladas ao abrigo da exposição solar direta e chuvas. Considerando que experimentos de campo demonstraram que as MQTs capturam cinco vezes mais *Ae. aegypti* fêmeas, quando instaladas no peridomicílio em relação ao intradomicílio, recomenda-se que sejam dispostas fora das habitações (Fávaro et al. 2006).

A MQT tem sido utilizada e avaliada em vários contextos, inclusive em estudos comparativos entre a armadilha e outros métodos de monitoramento de vetores da dengue Gama et al. 2007; Lourenço-de-Oliveira et al. 2008; Maciel-de-Freitas et al. 2008b, Fávaro et al. 2008, Steffler et al. 2011, Resende et al. 2013) e em experimentos de marcação, liberação e recaptura (Maciel-de-Freitas et al. 2008a). Estudos longitudinais de monitoramento para caracterização de padrões temporais da dinâmica de populações de *Ae. aegypti* e para avaliação da associação entre as capturas da MQT com fatores meteorológicos (Honório et al. 2009a) e coleta de mosquitos adultos para posterior detecção de infecção com DENV (Vilela et al. 2010) também foram realizados.

No estudo longitudinal conduzido no Rio de Janeiro, as ovitrampas e as MQTs produziram resultados comparáveis, com a maior abundância de *Ae. aegypti*, nos períodos chuvosos de verão (Honório et al. 2009a). Resende e colaboradores (2013) compararam os resultados de capturas com MQTs com os da pesquisa larvária e das ovitrampas e acharam correlações significativas entre os índices dos três métodos.

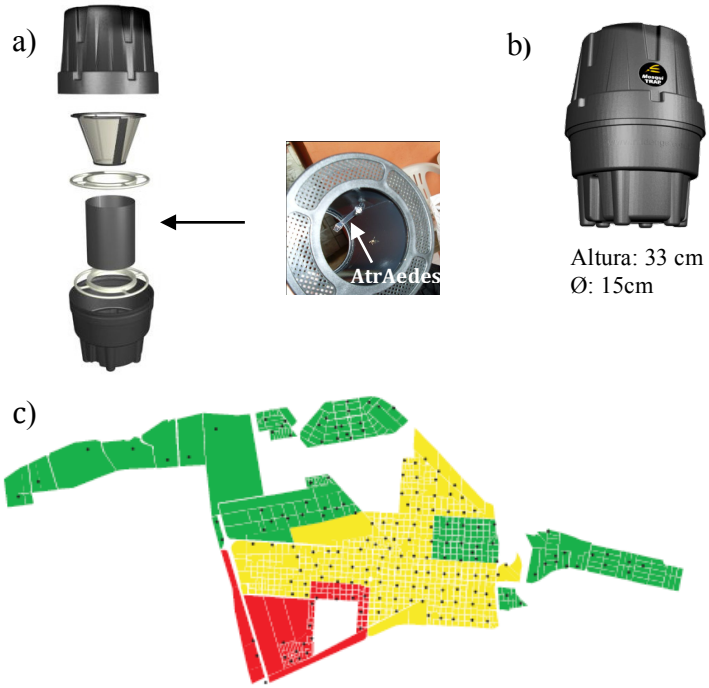


Figura 5. MQT Versão 3.0. a) Componentes (de cima para baixo): tampa, funil, suporte superior do cartão adesivo, cartão adesivo, suporte inferior do cartão adesivo, parte inferior. O detalhe indica a localização do atraente, aplicado no cartão. b) Armadilha montada. c) Mapa geo-referenciado de quatro semanas consecutivas, gerado pela tecnologia MI-Dengue. Cada ponto representa uma MosquiTRAP. (Adaptada de Eiras & Resende 2009)

A sensibilidade da MQT na detecção do *Ae. aegypti* é comparável à de aspiradores de Nasci, uma ferramenta frequentemente usada para monitorar populações adultas, embora menor que a de armadilhas de oviposição (Favaro et al. 2008, Maciel-de-Freitas et al. 2008a). Contudo, as armadilhas de oviposição podem detectar apenas a presença do vetor indiretamente, enquanto a MQT captura adultos. De forma que, por meio do uso de MQTs, é possível estimar a população de vetores adultos, variável mais importante em termos de estimativa do risco de transmissão da doença. De fato, já foi observado que as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas com MQTs apresentam maior correlação temporal e espacial com a distribuição de casos de dengue, quando comparadas com as capturas de ovitrampas e os resultados da pesquisa larvária (Melo et al. 2012).

1.5.2 Monitoramento inteligente da Dengue (MI-Dengue)

O MI-Dengue (Monitoramento Inteligente da Dengue, MI-D) é uma tecnologia que associa a armadilha MQT com um sistema de informações rápidas, no qual os dados de campo são documentados e disposto na internet em tempo real, em um banco de dados e visualizados em mapas geo-referenciados. Isso possibilita às autoridades de saúde das cidades dotadas com o MI-D, o uso de medidas de controle precoces e específicas, nas áreas com altas

infestações de adultos (Eiras & Resende 2009).

A transferência dos dados ocorre no momento em que o agente de campo inspeciona a armadilha. Normalmente, o cartão adesivo da MQT é removido e os mosquitos capturados são identificados, com o auxílio de uma lupa. As informações obtidas são digitalizadas em um telefone celular programado e enviadas a um computador central da Ecovec, em Belo Horizonte.

Os mapas geo-referenciados são codificados por cores, de acordo com a captura de *Ae. aegypti* fêmeas. O código de cor classifica os quarteirões: verde - nenhuma fêmea de *Ae. aegypti* capturada; amarelo - baixa infestação (uma fêmea de *Ae. aegypti*/MQT/semana), laranja - média infestação (duas fêmeas de *Ae. aegypti*/MQT/semana); vermelho – elevada infestação (mais de 2 fêmeas de *Ae. aegypti*/MQT/semana).

Para os dados mensais, os riscos de surtos da dengue em bairros podem ser classificados por códigos de cores (Figura 5c). Para isto, os índices médios das fêmeas do *Ae. aegypti* (IMFA = número de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas / número de armadilhas) em quatro semanas epidemiológicas consecutivas são associados ao IMFA temporal (IMFAt = soma de IMFA por quatro semanas consecutivas/4). Os códigos de cores são: verde - sem risco de surto da dengue (IMFAt < 0,2); amarelo - alerta de dengue (0,2 < IMFAt < 0,4); vermelho- condição crítica, risco de surto da dengue (IMFAt > 0,4) (Eiras & Resende 2009). Bairros frequentemente em vermelho ("risco elevado de surto da dengue") nos mapas geo-referenciados podem ser considerados como *hot-spots* de infestação de *Ae. aegypti* adultos.

A análise preliminar da tecnologia MI-D sugeriu que os casos de dengue podem ser reduzidos nos municípios que adotam esse sistema e direcionam as medidas de controle, de acordo com os dados do monitoramento (Eiras & Resende 2009). Recentemente, estimou-se que o uso do MI-D em 21 cidades do estado de Minas Gerais preveniu 27.191 casos de dengue, economizando, aproximadamente, US$ 364.517 por ano em custos de controle vetorial e cuidados com a saúde, e US$ 7.138.940 em salários perdidos. Desta forma, a relação favorável custo-eficácia do MI-D foi comprovada (Pepin et al. 2013).

1.5.3 Biogents-Sentinel®

A Biogents-Sentinel® (BG-Sentinel, BGS) é uma armadilha originalmente usada para o monitoramento de *Ae. aegypti*. A armadilha foi desenvolvida na Universidade de Regensburg e é comercializada pela Biogents SA (Regensburg, Alemanha), uma empresa *spin-off* do Instituto de Zoologia desta Instituição. A BGS atrai mosquitos por estímulos visuais, por meio da simulação de correntes de convecção de ar em torno de um corpo humano e por iscas

olfativas dispersadas por um liberador (BG-Lure), no interior da armadilha (Kröckel et al. 2006).

O BG-Lure é constituído de amônia, ácido lático e ácido capróico, compostos naturalmente encontrados na pele (Bosch et al. 2000; Geier et al. 1999), em concentrações específicas que simulam o odor humano. A armadilha é constituída por um corpo cilíndrico branco (com 35 cm Ø e 40 cm de altura) que, em seu interior, possui um tubo de sucção com um ventilador de corrente contínua (12V e 0,3A), na parte inferior. Na extremidade superior do tubo de sucção, há um funil preto com coletor de insetos removível de cor preta (Figura 6a). O ventilador produz uma sucção através do funil, suficiente para aspirar os mosquitos para o interior do coletor de insetos, onde morrem em 1-2 dias por desidratação. Além da sucção, o ventilador produz uma corrente de convecção de ar, liberada pela área coberta com gaze tela na parte superior da armadilha. As BGSs não usam inseticidas ou atraem insetos benéficos, como borboletas ou abelhas, e os componentes do BG-Lure são atóxicos.

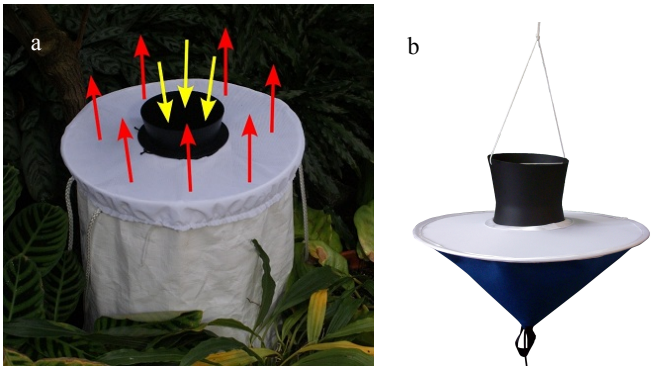


Figura 6. a) BG-Sentinel (Fonte: www.bg-sentinel.com). Setas amarelas indicam a sucção através do funil preto e setas vermelhas indicam a liberação da corrente de convecção de ar b) BG-Mosquitito (Foto: Biogents SA).

Kröckel e colaboradores (2006) observou em testes de campo realizados em Belo Horizonte, que a BGS capturou significativamente mais *Ae. aegypti* fêmeas do que as armadilhas Mosquito Magnet Liberty (MML) e a Fay-Prince, ambas utilizadas com CO_2, um atrativo eficaz para mosquitos e de alto custo. Foi demonstrado ainda que a BGS pode ser usada como ferramenta de monitoramento confiável, substituindo capturas por atração humana, uma vez que a captura da BGS não foi significativamente menor. Vários outros experimentos de campo independentes, conduzidos no Brasil, Austrália e EUA, também comprovaram a alta eficácia da armadilha na captura de vetores da dengue (Maciel-de-Freitas et al. 2006; Meeraus et al. 2008; Schmaedick et al. 2008; Williams et al. 2006).

Recentemente, a Biogents desenvolveu uma versão compacta da BGS, a Biogents-Mosquitito (BG-Mosquitito, BGM) (Figura 6b), que opera com o mesmo princípio da BGS

original. As principais diferenças são o exterior em formato cônico azul e a instalação de forma suspensa. Experimentos preliminares conduzidos na Itália, nas Ilhas Maurícias e no Brasil, demostraram que a BGM é tão eficiente quanto a BGS (Degener et al.; Englbrecht et al.; *dados não publicados*, Ázara et al. 2012). Porém, em um estudo realizado em duas ilhas do Pacífico Sul, a BGS capturou mais *Aedes polynesiensis* (Marks) que a BGM, e em uma das ilhas, a diferença foi significativa (Hapairai et al. 2013).

A primeira evidência em suporte da BGS, como uma ferramenta efetiva para o controle de vetores da dengue, foi observada em um experimento realizado em *habitat* artificial, uma estufa da Universidade de Regensburg (Obermayr 2006, Almeida et al. 2010). Inicialmente, uma colônia de *Ae. aegypti* foi estabelecida na estufa, com um repasto sanguíneo diário e criadouros adequados. Nestas condições, uma única BGS foi utilizada constantemente na estufa por seis semanas, e a população de *Ae. aegypti* foi completamente eliminada, após o término do experimento. Outro estudo de campo realizado em Cesena, Itália, mostrou que o uso constante da BGS pode influenciar a distribuição etária de populações de *Ae. albopictus* (Englbrecht 2009). As armadilhas foram instaladas em Cesena, no início da primavera, e permaneceram em funcionamento até o outono seguinte. Uma baixa taxa de fêmeas paridas foi observada nas áreas com coleta massal, durante todo o experimento. Entretanto, a taxa de paridas aumentou consideravelmente nas áreas controle (sem armadilhas). Uma taxa maior de fêmeas paridas implica que existe um número maior de mosquitos com o repasto sanguíneo já realizado, em uma área. Estes mosquitos são epidemiologicamente mais significativos, uma vez que tem sua probabilidade de veicular o DENV aumentada. Adicionalmente, a taxa de captura por isca humana foi reduzida nas áreas tratadas em até 90%, em comparação com as controle. Isso indica que a coleta massal resultou na diminuição da população de mosquitos adultos.

A BGS é atrativa para mosquitos do gênero *Aedes,* em diferentes fases do desenvolvimento ovariano. Além de atrair fêmeas na busca de um hospedeiro humano, grávidas, ingurgitadas e machos também são capturados (Englbrecht 2009; Maciel-de-Freitas et al. 2006). Ao capturar grávidas, a oviposição é impedida, acarretando em uma redução da população do vetor. É possível que a BGS possa interromper o ciclo de transmissão da dengue pela captura do vetor, antes da sua infecção, após um repasto sanguíneo em humanos virêmicos.

Para poder transmitir o vírus da dengue, o mosquito infectado tem que sobreviver por mais de cerca 10 dias, após o repasto sanguíneo, em função do período de incubação extrínseco (PIE) (Gubler 1998; Siler et al. 1925). Quando o mosquito é capturado por uma

BGS nesse prazo, o ciclo de transmissão é interrompido. Mais ainda, o número de machos férteis diminui, exercendo também um efeito negativo sobre a população. Em síntese, pode-se esperar que, após a utilização da coleta massal em uma área por determinado período, a probabilidade de sobrevivência diária dos vetores da dengue diminuirá. A menor probabilidade de sobrevivência diária resultará em um declínio da capacidade vetorial (Cv).

A Cv é útil para avaliar os riscos de transmissão ou de variações deste parâmetro. A Cv descreve quantas pessoas podem se infectar por dia, por caso de doença de infecção e pode ser expressa pela seguinte fórmula (Garrett-Jones 1964):

$$Cv = \frac{m\, a^2\, P^n}{-\ln P}$$

m = população de mosquitos por pessoa.
a = taxa de pessoas picadas por mosquito
P = probabilidade de sobrevivência diária
n = período de incubação extrínseco em dias

A fórmula mostra que uma bissecção da população de mosquitos por pessoa (m) resultará em uma bissecção do valor de Cv. A probabilidade de sobrevivência diária tem uma maior magnitude de efeito sobre Cv. Para ser capaz de transmitir o DENV, o mosquito tem que sobreviver, pelo menos, o tempo entre a emergência e o primeiro repasto sanguíneo (geralmente, no máximo dois dias), mais o intervalo de tempo do período de incubação extrínseco. Isto explica porque os mosquitos com idades cronológicas avançadas oferecem maior risco potencial de transmissão da infecção. A fórmula da Cv mostra também muito claramente que a probabilidade de sobrevivência diária (P) tem um forte efeito sobre a capacidade vetorial, como é elevada à potência de n (período de incubação extrínseco em dias, n = 10) no numerador.

2 Justificativa

A dengue é um problema mundial de saúde pública. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em países endêmicos e correm o risco de infecção por essa arbovirose (WHO 2009). O principal vetor da dengue no Brasil é o *Ae. aegypti*, um mosquito altamente antropofílico e endofílico, encontrado em áreas urbanas em todo o país (Forattini 2002).

A inexistência de vacinas restringe o controle da doença a maneiras alternativas. Telas mosquiteiras para camas e ambientes não fornecem proteção, uma vez que os mosquitos transmissores realizam repastos sanguíneos preferencialmente no período diurno. Os repelentes, devem ser aplicados regularmente, não podem ser utilizados em indivíduos alérgicos e são onerosos. Mesmo que o controle químico tenha eficácia limitada, seu uso é inaceitável para muitas pessoas e instituições, em função do seu caráter negativo do ponto de vista ambiental. Como apenas ferramentas de controle limitadas estão disponíveis, novas tecnologias promissoras devem ser avaliadas cientificamente, quanto à sua eficiência no combate da dengue.

No presente trabalho, três armadilhas, projetadas para capturar *Ae. aegypti*, foram avaliadas em experimentos de coleta massal. O primeiro experimento objetivou reduzir as populações adultas de vetores da dengue, com o uso das armadilhas BGSs, em um bairro de alta infestação por larvas de *Ae. aegypti* em Manaus (AM), detectada pelo LIRAa. O segundo trabalho avaliou o uso de MQTs para controle de *Ae. aegypti*, também em Manaus. No terceiro experimento, a coleta massal com BGM foi utilizada, em um bairro de alta infestação em Sete Lagoas (MG), identificado pelo sistema MI-D. Em todos os experimentos, as áreas apresentavam infestações de *Ae. aegypti* elevadas, apesar da prática regular de ações de controle preconizadas pelo PNCD. Todas as armadilhas utilizadas são atóxicas e ambientalmente corretas. O quarto trabalho comparou as armadilhas MQT e BGS como ferramentas de monitoramento e avaliou como as capturas foram influenciadas pelas variáveis meteorológicas, em Manaus.

Os estudos com ovitrampas letais (OLs) para a coleta massal demonstraram a tendência da redução da abundância de mosquitos *Ae. aegypti*, especialmente quando usado em combinação com a aplicação de larvicidas em criadouros (Perich et al. 2003; Sithiprasasna et al. 2003; Rapley et al. 2009). No entanto, é necessário um número muito elevado de armadilhas (10 por casa) para ter efeito da redução de adultos. Portanto, torna-se impraticável esta metodologia.

A BGS mostrou a ser uma ferramenta potencialmente eficiente para o controle de vetores da dengue (Obermayr 2006; Englbrecht 2009). Considerando que as BGS capturam mosquitos adultos em todas as fases fisiológicas, ao invés de somente grávidas, é possível que a sua utilização para coleta massal alcance resultados ainda melhores do que os obtidos com OLs, para a mesma finalidade.

A MQT é uma armadilha adesiva que atrai fêmeas grávidas. A grande vantagem dessa armadilha, em relação às OLs, é a não utilização de inseticidas. Como estudos de coleta massal com OLs resultaram em uma redução da abundância do *Ae. aegypti*, é possível que a coleta massal com MQTs tenha também um efeito sobre a abundância destes mosquitos.

A avaliação preliminar do monitoramento MI-D indicou que o seu uso pode reduzir os casos de dengue em municípios, onde as medidas de controle são orientados de acordo com os resultados do MI-D (Eiras & Resende, 2009). Ainda mais, a associação temporal e espacial entre as capturas das MQTs e a ocorrência de casos da dengue foi confirmada (Melo et al. 2012). Neste sentido, a associação da coleta massal com BGMs com a tecnologia MI-D, que detecta os locais mais infestados da cidade, aumenta as chances do sucesso da coleta massal, fazendo a sua aplicação mais vantajosa. As armadilhas para coleta massal podem ser instaladas apenas em pontos críticos, onde as medidas de controle rotineiras não conseguem baixar os índices de infestação pelos vetores.

Estudos de campo são fundamentais para avaliar a eficácia da técnica da coleta massal e a aceitação do público de um método novo de controle de mosquitos. Também é essencial determinar como novas tecnologias podem ser usadas na rotina do programa de controle de mosquitos de um município.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

O objetivo do estudo foi avaliar a técnica da coleta massal com armadilhas BGS e MQT e a combinação do sistema de monitoramento MI-D e a coleta massal, com armadilhas BGM, para redução da densidade populacional do vetor da dengue e da transmissão da infecção.

3.2 Objetivos Específicos

• Analisar se a técnica coleta massal com BGS reduz populações adultas do vetor da dengue.
• Determinar se a técnica coleta massal com BGS tem um efeito sobre a taxa de paridas.
• Analisar se a prevalência de anticorpos para o vírus da dengue pode ser reduzida pela coleta massal com BGS.
• Determinar se a técnica coleta massal com MQT tem um efeito sobre a taxa de paridas.
• Analisar se a técnica coleta massal com MQT reduz populações adultas do vetor da dengue.
• Analisar se a prevalência de anticorpos para o vírus da dengue pode ser reduzida pela coleta massal com MQT.
• Analisar se a coleta massal com BGM reduz as populações de vetores adultos em uma área de alta infestação com vetores, determinada pelo MI-D.
• Avaliar a aceitação das armadilhas BGS, MQT e BGM pelos residentes das áreas experimentais.
• Caracterizar as alterações temporais da população de mosquitos adultos, avaliadas por meio do uso de MQTs e BGSs, em Manaus.
• Investigar a influência de variáveis meteorológicas sobre capturas de mosquitos com MQTs e BGSs.
• Avaliar a associação entre as capturas de mosquitos adultos com MQTs e BGSs e os a incidência de dengue, em Manaus.

Capítulo I:

Avaliação da coleta massal de *Aedes aegypti* com armadilhas BG-Sentinel em áreas urbanas de Manaus (AM).

Artigo publicado no *Journal of Medical Entomology*
Vol. 51 (2), páginas 408 – 420

I.1 Resumo

O objetivo do trabalho aqui apresentado foi avaliar a efetividade da coleta massal de *Aedes aegypti* com armadilhas BG-Sentinel® (BGS), por meio de um experimento randomizado controlado de conglomerados, em uma área urbana de Manaus, Brasil. Após um questionário inicial e monitoramento prévio (pré-intervenção) da abundância de adultos de *Ae. aegypti* com o uso da BGS em 12 conglomerados, seis conglomerados foram aleatoriamente designados para a intervenção, onde cada residência participante recebeu uma BGS para coleta massal. O monitoramento quinzenal com BGS, nas áreas de intervenção e controle (sem armadilhas), possibilitou a investigação do efeito da intervenção na população de *Ae. aegypti* adultos. Uma pesquisa de anticorpos específicos para DENV foi realizada nos últimos dois meses do estudo. Após o término do experimento, um questionário foi aplicado aos moradores das residências dos conglomerados tratados.

Os resultados do monitoramento entomológico sugerem que a coleta massal reduziu a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, nos primeiros cinco meses do estudo (estação chuvosa). Na época de seca, quando a população de adultos foi menor, não foi observado um efeito positivo da coleta massal sobre a abundância destes. Nos meses chuvosos subsequentes, menos fêmeas foram capturadas nas áreas tratadas porém, sem diferença significativa. A pesquisa de anticorpos específicos (IgM) indicou que infecções recentes de DENV foram menos frequentes em áreas tratadas, mas a diferença entre as áreas não foi significativa. O questionário mostrou que a maioria dos participantes teve boa aceitação da armadilha e muitos relataram perceber um efeito favorável da sua utilização sobre a redução de mosquitos nas suas moradias.

Os resultados não foram completamente conclusivos mas, houve evidências de que a BGS é uma ferramenta promissora, que pode ser utilizada como um componentes de programas de controle da dengue. Estudos adicionais, nos quais outras formas de controle associadas à coleta massal, com um número superior de conglomerados, são necessários para comprovação de um efeito significativo da coleta massal sobre a transmissão da dengue e a abundância do vetor.

Palavras chave: BG-Sentinel, armadilha de mosquitos, controle da dengue, coleta massal, *Aedes aegypti*.

Abstract

The objective of this study was to assess the effectiveness of BG-Sentinel traps (BGS) for mass trapping at the household level to control the dengue vector, *Aedes aegypti* in an urban area of Manaus, Brazil by performing a cluster randomized controlled trial.

After an initial questionnaire and baseline monitoring, six out of 12 clusters were randomly allocated to the intervention arm, where participating premises received one BG-Sentinel trap for mass trapping. The other six clusters did not receive traps and were considered as the control arm. Biweekly monitoring with BGS in both arms assessed the impact of mass trapping. At the end of the study, a serological survey was conducted and a second questionnaire was conducted in the intervention arm.

Entomological monitoring indicated that mass trapping with BGS traps significantly reduced the abundance of adult female *Ae. aegypti* during the first five rainy months. In the following dry season when the mosquito population was lower, no effect of mass trapping was observed. Fewer *Ae. aegypti* females were measured in the intervention arm during the following rainy period, but no significant difference between both arms was observed. The serological survey revealed that in participating houses of mass trapping areas recent dengue infections were less common than in control areas, although this effect was not statistically significant. The second questionnaire showed that the majority of participants responded positively to questions concerning user satisfaction.

Our results suggest that BGS traps are a promising tool, which might be deployed as a part of dengue control programs. Further studies where mass trapping is evaluated in conjunction with other control method, using a higher number of clusters, are necessary to prove a significant effect of BGS traps on dengue transmission and mosquito abundance.

Keywords: BG-Sentinel, mosquito trap, dengue control, mass trapping, *Aedes aegypti*.

I.2 Introdução

A dengue é uma arbovirose que se dissemina com rapidez em áreas tropicais e subtropicais. Todos os anos, de 50 a 100 milhões de pessoas são infectadas por este vírus (WHO 2013). Em função da indisponibilidade de uma vacina licenciada comercial, o controle da dengue é baseado no controle do vetor, com o objetivo de minimizar as taxas de incidência da infecção.

O *Aedes aegypti*, vetor principal da virose, é altamente adaptado a áreas urbanas, onde utiliza uma grande variedade de criadouros artificiais para o desenvolvimento das formas imaturas. As fêmeas adultas se alimentam de preferência em humanos (Christophers 1960; Scott et al. 1993a) e permanecem em repouso no interior das residências, em áreas protegidas e escuras (Perich et al. 2000).

A experiência acumulada nas décadas anteriores possibilitou a detecção de falhas das estratégias de controle do vetor, aplicadas rotineiramente na atualidade. Geralmente, essas estratégias consistem na redução de criadouros e na aplicação de inseticidas para larvas e adultos.

A eliminação de todos os criadouros é praticamente inviável e, frequentemente, os moradores recusam o tratamento de tanques de água com inseticidas. No Brasil, principalmente, organofosforados e piretróides vem sendo utilizados porém, estudos indicam que os vetores desenvolvem resistência a esses inseticidas (Braga et al. 2004; Cunha et al. 2005). Durante as epidemias de dengue, o tratamento ultra baixo volume (UBV) tem sido utilizado, com o objetivo de interromper a cadeia de transmissão do vírus. Considerando que as recomendações da OMS para aplicação da técnica UBV são raramente seguidas, que o vetor é endófilico, e que o contato com doses subletais do inseticida favorece o desenvolvimento de resistência, a técnica tem eficácia limitada (Perich et al. 2000; Thammapalo et al. 2012).

O uso da coleta massal ou de técnicas *lure and kill* (atrair e matar) para o controle de mosquitos é relativamente recente. As ovitrampas letais (OLs), armadilhas do tipo *lure and kill*, foram utilizadas, pelo menos em alguns períodos dos experimentos, com sucesso, para coleta massal de vetores da dengue no Brasil e Tailândia (Perich et al. 2003; Sithiprasasna et al. 2003). Kittayapong (2008) e colaboradores avaliaram o uso de OLs, conjugadas com várias outras estratégias, em focos soropositivos de dengue na Tailândia e observaram efeitos significantes sobre a abundância do vetor e a transmissão da doença. Ocampo e colaboradores (2009) compararam quatro tipos de intervenções: aplicação do larvicida biológico, o *Bacillus*

thuringiensis var *israeliensis* (*Bti*), uso de OLs, coleta massal em associação com educação e aplicação de *Bti* e educação, exclusivamente. Os autores observaram que a coleta massal não foi mais eficiente do que a educação isoladamente (Ocampo et al. 2009). Em um estudo realizado na Austrália, a coleta massal com OLs foi associada com o uso de BGS, em algumas casas com controle larval. Os autores observaram uma redução da população de *Ae. aegypti* na estação chuvosa (Rapley et al. 2009).

O presente estudo é a primeira avaliação da coleta massal com BGS, no mundo. A BGS foi originalmente projetada e usada com sucesso para monitoramento de *Ae*. *aegypti* mas, tem sido utilizada também para capturar outros culicídeos, principalmente, *Aedes albopictus* (Skuse), *Aedes polynesiensis* (Marks) e *Culex* spp. (Linnaeus) (Maciel-de-Freitas et al. 2006; Maciel-de-Freitas et al. 2007; Schmaedick et al. 2008; Williams et al. 2006; Williams et al. 2007; Krueger & Hagen 2007). A sua grande vantagem sobre outros tipos de armadilhas para adultos, como a CDC (*Centers of Disease Control*), a EVS (*Encephalitis Virus Surveillance trap*) ou Mosquito Magnet é a captura significativamente maior de culicídeos, sem adição de CO_2, em relação as demais, que utilizam esse atraente (Kröckel 2006, Williams 2006, Farajollahi 2009). A BGS atrai fêmeas em várias fases fisiológicas, além de machos (Ball & Ritchie, 2010; Johnson et al. 2012; Maciel-de-Freitas et al. 2006).

Neste estudo, foi analisada a capacidade da coleta massal com BGS de reduzir populações de *Ae. aegypti* e modificar a estrutura etária, promovendo uma queda nas taxas de infecção da população humana com o DENV.

I.3 Material e Métodos

I.3.1 Área Experimental

Manaus, a capital do estado do Amazonas, tem uma população estimada de 1.802.525 (Censo IBGE, 2010). A cidade está localizada na confluência do Rio Solimões com o Rio Negro (3 ° 07 'S, 59 ° 57' W) e é cercada pela floresta tropical. O clima é equatorial úmido, com médias anuais de 27 °C, 2300 mm de precipitação e 180 dias chuvosos. A época de seca é, geralmente, de junho a outubro, com precipitações mensais totais acima de 130 mm. Considerando os dados meteorológicos coletados ao longo o estudo, os meses de julho a novembro foram considerados como estação de seca (Figura I.1).

No período do estudo, entre fevereiro de 2009 e junho de 2010, um total de 579 casos confirmados de dengue foram registrados em Manaus (SINAN-AM). O monitoramento entomológico nesta cidade é baseado em índices de larvas, investigados quatro vezes por ano, com o método LIRAa (Levantamento do Índice Rápido da infestação de *Aedes aegypti*) (MS/SVS 2012). O controle vetorial (tratamento focal, eliminação de criadouros e educação) é aplicado nas áreas, onde os Índices de Infestação Predial (IIP) estão acima de 1%. Quando há casos notificados ou suspeitos de dengue, o bloqueio de transmissão é realizado em um raio de 300 metros da residência do indivíduo infectado (Luzia Mustafa, Fundação de Vigilância em Saúde de Amazonas, FVS/AM, comunicação pessoal).

O estudo foi realizado na Cidade Nova, o maior bairro de Manaus, localizado na Zona Norte (Figura I.2a), com uma população estimada de 121.135 habitantes (Censo IBGE 2010). A média do índice predial da Cidade Nova foi de 3,5 em janeiro de 2009 (FVS/AM 2009), considerado alarmante, de acordo com o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) (MS/SVS 2009a). O bairro é predominantemente residencial, a maioria das ruas é asfaltada, com casas de madeira ou tijolos, geralmente com quintal ou/e varanda e saneamento regular. Os doze conglomerados de estudo, constituídos por áreas de quatro a sete quarteirões com um total entre 103 e 151 casas, foram escolhidos dentro do bairro (Figuras I.2b, I.2c; veja Figura I.3 para um diagrama de fluxo CONSORT (Moher et al. 2010), descrevendo a seleção, composição e destino dos conglomerados). Desta forma, a área de estudo incluiu cerca de 1440 casas, com em torno de 6300 habitantes. Em estudos para a avaliação de materiais tratados com inseticidas, nos quais conglomerados de intervenção e controle foram vizinhos imediatos, efeitos de transbordamento da intervenção foram observados (Kroeger et al. 2006; Lenhart et al. 2008). As áreas selecionadas apresentam uma distância mínima de 250 m entre si, para evitar os efeitos de transbordamento.

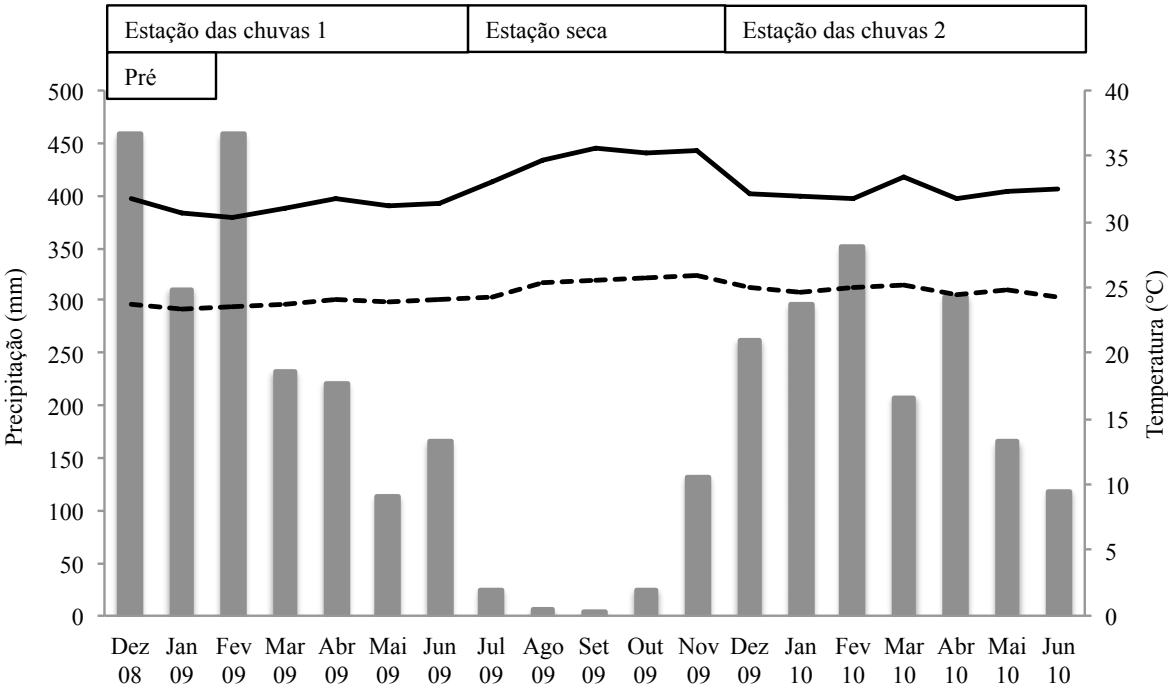


Figura I.1. Precipitação mensal acumulada (mm), temperatura máxima e mínima entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. Pré: Período pré-intervenção.

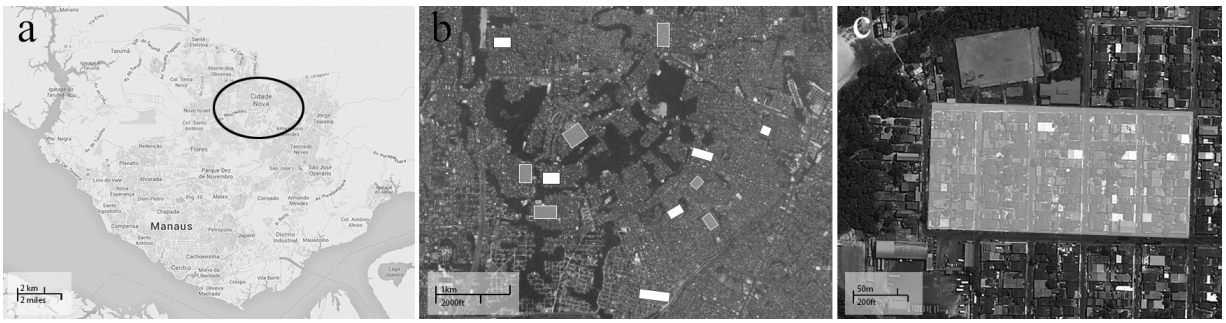


Figura I.2. Mapas do local do estudo. a) a cidade de Manaus e a localização do bairro Cidade Nova, na Zona Norte (círculo preto) ; b) localização dos doze conglomerados na Cidade Nova. Conglomerados de intervenção em branco e de controle em cinza; c) exemplo de um conglomerado de intervenção.

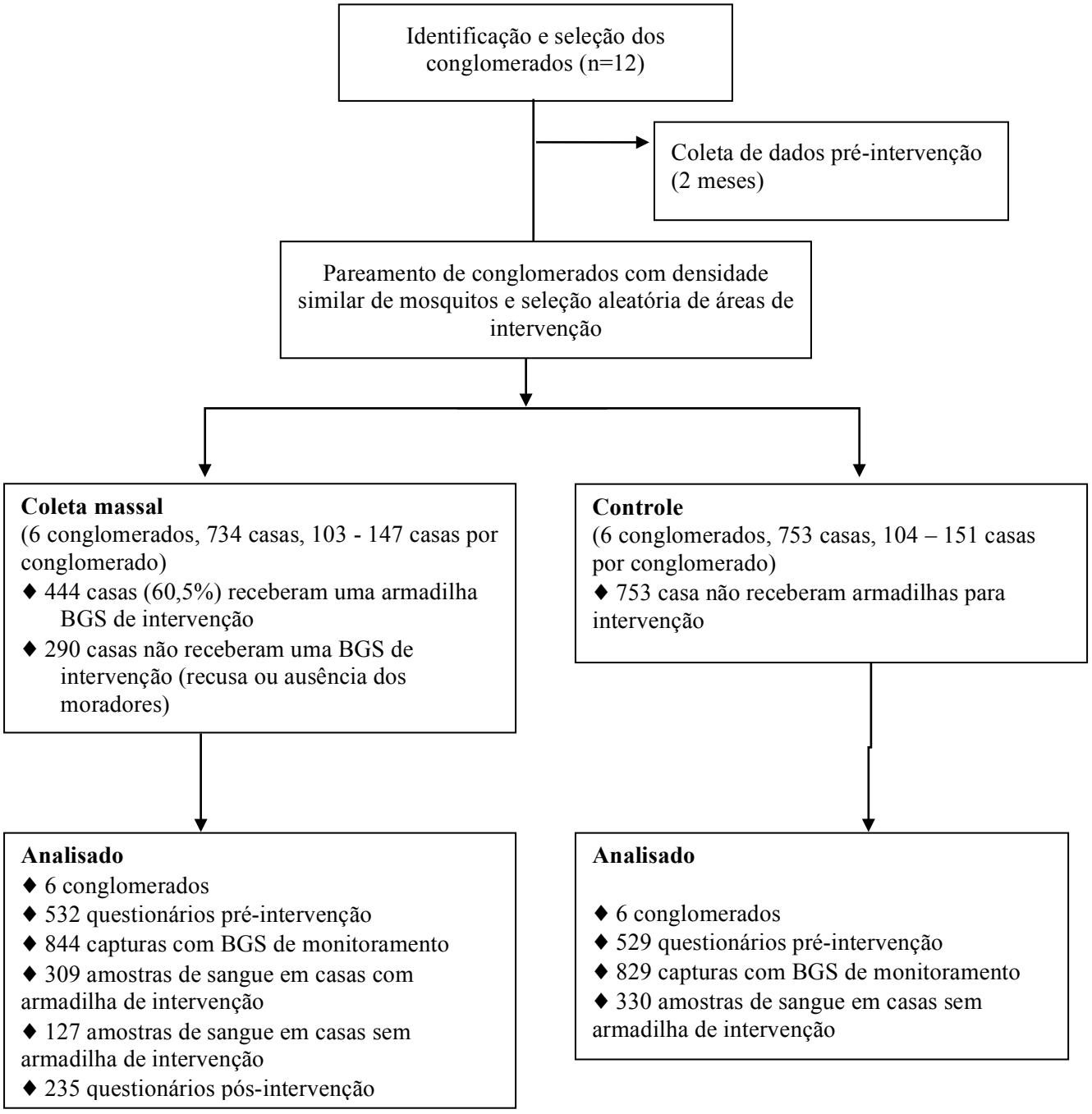


Figura I.3. Diagrama de fluxo CONSORT, descrevendo a seleção, composição e destino dos conglomerados no experimento randomizado controlado de conglomerados, para avaliação da coleta massal com armadilhas BGS.

I.3.2 Monitoramento do vetor adulto

Os levantamentos entomológicos nos doze conglomerados foram procedidos quinzenalmente. O monitoramento foi iniciado em dezembro de 2008, dois meses antes do início da intervenção (monitoramento pré-intervenção), e foi continuado em todos os 17 meses da intervenção (de fevereiro 2009 a junho 2010).

As armadilhas BGS (Biogents SA), utilizadas para o monitoramento, foram exatamente as mesmas da coleta massal. Doravante, estas serão denominadas "BGS de monitoramento". As armadilhas foram instaladas nas áreas peri-domésticas de quatro casas aleatoriamente selecionadas, no centro de cada um dos doze conglomerados (seis de intervenção e seis de controle). As posições (casas) das armadilhas foram mudadas em todos os ciclos de monitoramento. A instalação das armadilhas ocorreu em todas as áreas, no mesmo dia, entre 8:00 e 10:00 h da manhã, e sua remoção foi realizada após 24 h de coleta. Eventualmente, os dados de algumas armadilhas foram desconsiderados, como quando o morador estava ausente, no momento da sua retirada, ou quando houve falhas de energia elétrica no período.

As bolsas de captura foram etiquetadas e enviadas para o Laboratório Entomológico na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), em Manaus, para triagem, contabilização, sexagem e identificação dos insetos coletados (em nível de espécie para vetores da dengue e gênero para os outros mosquitos), com o auxílio da chave de identificação de Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994).

Os abdomens de *Ae. aegypti* fêmeas foram removidos e dissecados para a determinação da paridade, classificando os mosquitos como nulíparas (extremidades das traqueíolas ovarianas enroladas), paridas (extremidades das traqueíolas ovarianas esticadas) ou estados avançados (estágio de Christopher de desenvolvimento ovariano acima de II), utilizando a técnica de traqueação ovariana (Detinova 1960). Para calcular a taxa de paridade, somente as nulíparas e paridas foram consideradas.

Dois meses de coleta pré-intervenção foram conduzidos para confirmar densidades populacionais semelhantes de mosquitos, nos conglomerados de intervenção e controle. As áreas com densidades semelhantes foram pareadas e, em cada um dos seis pares, um conglomerado foi aleatoriamente escolhido (lançamento de uma moeda) para receber o tratamento de coleta massal, com as BGS. As áreas controle não receberam tratamento com *dummy traps*, desta forma, o estudo não foi cego. O monitoramento pré-intervenção começou em dezembro de 2008, dois meses antes da instalação das armadilhas para a coleta massal.

I.3.3 Questionários

Três meses antes do início do experimento, um folheto informativo sobre o estudo foi distribuído nas residências da área experimental (Anexo I). Posteriormente, entre os dias 03/11 e 16/12/2008, seis agentes de campo treinados visitaram as residências, para o preenchimento de um questionário (Anexo II) por meio de uma entrevista, incluindo nome, endereço, sexo, idade, escolaridade, hábitos de vida, situação de trabalho, nível de conhecimento sobre a transmissão da dengue, bem como a utilização de medidas de proteção contra a doença. No total, 1061 moradores participaram desse primeiro questionário, 529 dos conglomerados de controle e 532 dos de coleta massal.

Um segundo questionário (Anexo III) foi aplicado aos moradores das residências que participaram na coleta massal, na forma de entrevista direta, após da retirada das armadilhas. O questionário, respondido por 235 moradores, foi direcionado para levantar os problemas, aperfeiçoamentos sugeridos, satisfação e indicadores subjetivos do valor da armadilha.

I.3.4 Coleta massal com armadilhas BG-Sentinel

Após o monitoramento pré-intervenção, as BGS para coleta massal foram distribuídas em todas as casas das áreas de intervenção, onde os moradores concordaram em participar do projeto (444 de 734 casas [60,5%], Figura I.3) e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo IV). Uma BGS de intervenção foi instalada por casa, preferencialmente, na área peri-doméstica como, por exemplo, no quintal ou varanda, abrigada do sol e chuvas fortes. Na falta de lugares cobertos no peri-domicílio, as armadilhas foram instaladas no interior das casas. Os moradores foram orientados a manter as armadilhas constantemente ligadas, 24h por dia.

As residências com armadilhas de intervenção foram vistoriadas quinzenalmente. Durante as inspeções das armadilhas, as bolsas de captura foram etiquetadas (data, código de área, número de identificação da armadilha e endereço da casa) e substituídas. As bolsas foram enviadas para o Laboratório Entomológico da FMT-HVD, onde os mosquitos foram separados de outros insetos capturados, contados, sexados e identificados (em nível de espécie para vetores da dengue e gênero para outros mosquitos), com auxílio da chave de identificação de Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994). Quando a coleta de mosquitos do gênero *Culex* foi muito elevada (maior ou igual a 50 indivíduos), o número total de mosquitos foi estimado. Para isto, uma placa de Petri (ø 10 cm) foi marcada com caneta em oito seções iguais, nas quais os mosquitos foram distribuídos homogeneamente por agitação. Em seguida,

em apenas uma seção, os mosquitos foram contados, sexados, e os valores obtidos foram multiplicados por oito.

Como as bolsas de captura das BGS de intervenção foram trocadas regularmente, obteve-se uma estimativa indireta do número de armadilhas instaladas no campo. A cobertura média de armadilhas, expressa em porcentagem de casas com armadilha de intervenção, foi estimada para períodos diferentes, considerando-se as bolsas de captura etiquetadas que foram remetidas do campo.

As armadilhas permaneceram nas residências por 17 meses, de fevereiro 2009 até junho 2010.

I.3.5 Pesquisa de anticorpos específicos para DENV

Durante os dois últimos meses da intervenção (maio e junho de 2010), amostras de sangue dos moradores das doze áreas foram coletadas em papel de filtro esterilizado, por punção da polpa digital, com estilete estéril descartável. Apenas os membros da família que permaneciam a maior parte do tempo na residência foram selecionados para esta pesquisa. No total, foram coletadas amostras de sangue de 766 habitantes (436 nos conglomerados de coleta massal e 330 nos conglomerados de controle). A idade média (± desvio padrão, DP) dos participantes foi de 30,47 ± 20,34 e 30,61 ± 19,63 anos, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente.

As amostras de sangue foram identificadas com um número de registro individual, um código para área de coleta, as iniciais do nome e a idade do doador. As mesmas informações e o endereço do participante foram registradas em uma tabela. Após a secagem a temperatura ambiente (TA), as amostras foram acomodadas individualmente em sacos plásticos transparentes e mantidas a 4°C, até o momento da análise.

A detecção de IgM pelo teste de ELISA foi realizada, segundo Rocha e colaboradores (Rocha et al. 2013), com modificações menores. Brevemente, placas de poliestireno com 96 poços foram sensibilizadas com antígenos recombinantes para DENV 1-4 (50 ng de cada proteína E recombinante de DENV/poço) e incubadas a 4°C, durante a noite. No dia seguinte, 100 µL de albumina fetal bovina (BSA) a 1% em PBS 0,05% Tween 20 (PBS-T) foram adicionados às placas, que foram incubadas por 1 h a 37°C, para o bloqueio de reações inespecíficas. Em seguida, as placas foram lavadas 4 vezes com PBS-T e as amostras teste, eluídas do papel de filtro com o sangue coletado, foram adicionadas em duplicata. Alíquotas de uma amostra positiva (soro com título neutralizante maior ou igual a 30 para DENV 1-4, titulado pelo teste de neutralização por redução de placas de lise – PRNT) e negativa foram

incluídas em todas as placas, como controles. Após a incubação a TA por 1 h, as placas foram lavadas com PBS-T e anticorpos IgM anti-humano conjugados com peroxidase *horseradish* a 100 µL/poço, diluídos a 1:5000, foram adicionados nas cavidades das placas. Depois da incubação por 1 h a TA, as placas foram novamente lavadas com PBS-T, 4 vezes. A reação com a peroxidase foi iniciada pela adição de 100 µL/poço de uma solução de TMB, como substrato. Após a incubação a TA por 10 minutos, a reação foi terminada, adicionando-se 100 µL de 2M H_2SO_4 e analisada em um leitor de ELISA, a 450 nm.

I.3.6 Desenho experimental

O desenho experimental foi de conglomerados randomizados controlados com seis conglomerados (*clusters*) de intervenção (coleta massal) e seis conglomerados de controle (sem tratamento).

A forma principal de mensuração do efeito da técnica da coleta massal foi a observação do número de *Ae. aegypti* fêmeas capturado com BGSs, durante o monitoramento. Paralelamente, as taxas de paridade e frequência de habitantes soropositivos (IgM para DENV) foram também avaliadas. Ademais, os usuários das BGSs foram entrevistados para avaliar a aceitação em relação ao uso das armadilhas.

I.3.7 Análise dos dados

O resultado das capturas de *Ae. aegypti* fêmeas, obtido pelas armadilhas de monitoramento, foi utilizado para a avaliação do efeito de supressão na população de mosquitos, promovido pela coleta massal. As tendências dos dados dos dois tipos de áreas, ao longo do tempo, foram comparadas, utilizando-se a tendência das áreas controle, para evidenciar a flutuação natural da população do vetor.

As capturas das armadilhas de cada conglomerado foram somadas e divididas pelo número de armadilhas utilizadas para o monitoramento, em cada semana. Desta forma, houve um ponto de dados (média de *Ae. aegypti* fêmeas) para cada um dos doze conglomerados, a cada duas semanas. Para o ajuste dos modelos estatísticos, a média de mosquitos capturados por conglomerado a cada semana foi $\log_{10}(x+1)$-transformado, para obtenção de uma distribuição gaussiana (Zar 2010).

As doze séries temporais das capturas quinzenais foram analisadas, utilizando-se um modelo generalizado aditivo misto (GAMM, *Generalized Additive Mixed Model*), um método de modelagem estatística, que estende os modelos generalizados lineares, incluindo funções

de suavização não-paramétricas e efeitos aleatórios (Faraway 2005).

O primeiro modelo, com objetivo de analisar a tendência média da infestação de mosquitos, em áreas de coleta massal e controle, é um modelo GAMM para o todo o período do estudo (pré-intervenção e intervenção). Neste modelo, uma função de suavização foi incluída separadamente para cada tipo de área, para capturar o efeito não-linear do tempo (variável *semana*), na abundância dos mosquitos nas áreas de coleta massal e controle. A variável *conglomerado* foi incluída no modelo como efeito aleatório, para considerar o agrupamento dos dados em conglomerados.

O modelo completo adotou a seguinte fórmula:

$$(1)\ Y_{hi} = \alpha + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$$

Onde Y_{hi} é a média de *Ae. aegypti* fêmeas (log-transformado) por *conglomerado* h (h = 1,...,12), no ponto de tempo i (i = 1,...,41); α é o intercepto; $f_{Th}(i)$ é o efeito suavizado não-linear do tempo para cada tipo de *tratamento* T_h (T_h = 0 para os conglomerados de controle, T_h = 1 para os conglomerados de coleta massal), a_h e ε_{hi} são o intercepto aleatório e o erro residual, com os seguintes distribuições respectivas: $a_h \sim N(0,\tau^2)$ e $\varepsilon_{hi} \sim N(0, \sigma^2)$.

As diferenças entre conglomerados de coleta massal e controle, durante o monitoramento pré-intervenção, foram analisadas com um modelo linear de efeitos mistos (LME, *Linear Mixed Effects model*), com o fator fixo *tratamento* e com *conglomerado* como efeito aleatório:

$$(2)\ Y_{hi} = \alpha + \beta T_h + a_h + \varepsilon_{hi}$$

Os índices *h* e *i* estão como anteriormente explicado na equação (1). T_h é uma variável *dummy* (*tratamento*), indicando se o conglomerado foi de controle (T_h = 0) ou de intervenção (T_h = 1), β é o efeito fixo da coleta massal.

O efeito da coleta massal, no período de intervenção, foi investigado com o seguinte modelo GAMM:

$$(3)\ Y_{hi} = \alpha + \beta_1 \cdot T_h + \beta_2 \cdot P_h + \beta_3 \cdot T_h \cdot P_h + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$$

$P_{h,}$ é o número médio de fêmeas capturadas durante o período pré-intervenção, em cada conglomerado *h*, $\log_{10}(x+1)$–transformado e centralizado (*Clogpré*). Essa variável foi incluída no modelo, para considerar as diferenças de fêmeas capturadas nos doze conglomerados, no período pré-intervenção. Os β's são os efeitos fixos da intervenção de coleta massal (β_1), da densidade de mosquitos, no período pré-intervenção (β_2), e a interação das duas (β_3).

Como o modelo (1) apontou que o efeito do tratamento variou com o tempo, modelos GAMM adicionais foram ajustados, considerando separadamente os três períodos do estudo: semanas 1 a 22 (primeira estação chuvosa), semanas 23 a 42 (estação de seca) e semanas 43 a

73 (segunda estação chuvosa).

Os modelos GAMM e LME, com intercepto aleatório, ajustaram melhor que modelos com intercepto e declive aleatórios. Plotagens diagnósticas foram geradas para avaliar a adequação dos modelos.

As diferenças de resultados binários do primeiro questionário entre as áreas de coleta massal e controle foram modeladas, utilizando modelos logísticos mistos (LMMs, *Logistic Mixed Models*) com a variável *tratamento* (T_h), como efeito fixo e a variável *conglomerado* (h), como efeito aleatório.

O teste de Fisher foi aplicado para comparação das frequências de pessoas soropositivas (presença de anticorpos IgM para DENV) nas áreas de intervenção e controle, e para comparação das taxas de paridade dos mosquitos, nos quatros períodos do estudo. Esse teste, que não leva em consideração o desenho de conglomerados, foi adotado em função da baixa taxa de soropositivos e de nulíparas,

Todas as análises foram processadas utilizando-se o programa R, versão R 2.12.1 (R development Core Team 2010). Os modelos GAMM, LME e LMM foram implementados, usando as bibliotecas mgcv (Wood 2006), nlme (Pinheiro et al. 2010) e lme4 (Bates et al. 2011), respectivamente.

I.3.8 Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

I.3.9 Avaliação da comissão de ética

O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão Ética da Fundação de Medicina Tropical de Amazonas (FMT-AM) (certificado de apresentação para apreciação ética - CAAE: 0013.0.114.00-08). Um morador adulto representante de cada casa, que recebeu uma armadilha ou participou na pesquisa de anticorpos, assinou um termo de consentimento livre e esclarecido.

I.4 Resultados

I.4.1 Primeiro questionário

Um total de 1061 indivíduos respondeu ao primeiro questionário, sendo 67,7% dos participantes do sexo feminino. A Tabela I.1 apresenta os resultados sobre a experiência e o conhecimento, em relação à dengue.

Tabela I.1. Questionário I. Experiência e conhecimento sobre a dengue nas doze áreas de estudo na Cidade Nova, Manaus, novembro e dezembro de 2008. (N: número de pessoas que responderam às questões; n: número de pessoas que responderam em cada categoria de resposta.)

Questões	**n**	**%**
Você já ouviu falar sobre a febre de dengue? (N = 924)		
sim	924	100
não	0	0
Você ouviu falar sobre a febre hemorrágica de dengue? (N = 918)		
sim	894	97,4
não	24	2,6
Você ou algum membro da família já teve dengue? (N = 925)		
sim	584	63,1
não	341	36,9
A doença foi diagnosticada pelo médico? (N = 836)		
sim	478	57,2
não	358	42,8
Você ouviu falar sobre um caso fatal de dengue em Manaus? (N = 920)		
sim	650	70,7
não	270	29,3
Você aplicou recentemente uma medida contra mosquitos? (N = 923)		
sim	829	89,8
não	94	10,2
Qual membro da família é responsável para a aplicação de medidas de controle de mosquitos? (N = 864)		
Mãe	613	70,9
Pai	94	10,9
Crianças	15	1,7
Outros e combinações das respostas acima	142	16,4
Doenças como dengue não podem ser controladas pela população. (N=921)		
concordo	602	65,4
discordo	319	34,6

Segundo a análise das respostas do questionário, todos os participantes estavam cientes do problema da dengue. Quase todos (97,4%) declararam conhecimento sobre a forma hemorrágica da doença e, aproximadamente, dois terços da amostra (63,1%) já tinham sido infectados ou tiveram casos de dengue na família. Dois terços desses casos (63,1%) foram diagnosticados pelo médico. A maioria dos participantes (70,7%) tinha informações sobre casos fatais de dengue, em Manaus. Cerca de dois terços (64,5%) da amostragem opinaram que a dengue não pode ser controlada pela população e 69,2% afirmaram ter preocupações maiores do que combater a doença. Mesmo assim, quase todos os participantes mostraram estar familiarizados com as medidas ambientais para o controle da dengue e 89,8% relataram a recente aplicação de, no mínimo, uma dessas medidas, nas suas casas. Na maior parte das moradias (70,9%), a chefe da família é responsável pela aplicação das medidas de controle do vetor.

A Tabela I.2 apresenta comparações entre os dois tipos de conglomerados. A idade média dos participantes (± desvio padrão, DP) foi de 43,6 (± 15,7) e 39,4 (± 14,9) anos, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente. O número médio de moradores na casa foi 4,4 (± 2,1) nas áreas de intervenção e 4,6 (±1,9) nas de controle.

Tabela I.2. Primeiro questionário. Comparações entre os dois grupos (coleta massal e controle) antes do início da coleta massal, novembro e dezembro de 2008 em Manaus, AM. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas, que concordaram em cada categoria de resposta.)

	Coleta massal			**Controle**			
Variáveis	Média	DP	N	Média	DP	N	
Idade	43,6	15,7	492	39,4	14,9	433	
Número de moradores na casa	4,4	2,1	492	4,6	1,9	432	
Variáveis binomiais	n	%	N	n	%	N	p
Educação (acima do ensino primário)	365	69,5	525	355	67,2	528	0,645
Equipamento da casa (ar condicionado)	329	63,4	519	288	54,6	527	0,400
Aplicação de medidas de controle	463	87,5	529	458	87,1	526	0,853
Solidariedade na vizinhança[1]	469	98,5	476	407	92,7	439	0,012
Familiaridade na vizinhança[2]	455	96,6	471	375	91,9	408	0,019
Dengue - conscientização da comunidade[3]	382	90,7	421	329	86,4	381	0,291

Os participantes foram questionados se concordam com as afirmações:

[1] "se for necessário, as pessoas em minha vizinhança podem juntas ajudar na luta contra problemas comuns".

[2] "as pessoas da minha vizinhança se conhecem muito bem".

[3] "comumente se discute sobre dengue na nossa vizinhança".

As comparações entre os grupos indicaram diferenças significativas nas categorias "solidariedade na vizinhança" (se for necessário, as pessoas na minha vizinhança podem juntas ajudar na luta contra problemas comuns) e "familiaridade na vizinhança" (as pessoas da minha vizinhança se conhecem muito bem), de forma que a familiaridade e solidariedade foi maior nas áreas de coleta massal. Não houve diferenças entre as outras variáveis (educação, equipamento das moradias, aplicação de medidas de controle e conscientização da comunidade), antes do começo da intervenção (Tabela I.2).

I.4.2 Participação no estudo

Do total de 734 residências nas seis áreas de intervenção, 444 (60,5%) concordaram, inicialmente, em participar no estudo. Na área com a maior cobertura de armadilhas, 67% das casas participaram e, na área com a menor cobertura, 44,9% das casas concordaram em receber uma BGS (Tabela I.3).

Durante do estudo, o percentual de casas com armadilhas diminuiu, de modo que no final do estudo, 36% das casas estavam usando uma BGS para coleta massal.

Tabela I.3. Número de BGSs instaladas por conglomerado e porcentagem de cobertura com armadilhas, no início, durante os três períodos e no final do estudo em Manaus, AM.

			% de casas com armadilha				
Conglomerado	**N de casas**	**N de BGS instaladas**	**Início**	**semana 1 -22**	**semana 23-42**	**semana 43-72**	**Fim**
1	119	78	65,5	54,7	39,0	35,1	31,9
2	126	80	63,5	53,1	46,3	42,9	41,3
3	105	70	66,7	54,0	52,0	47,0	50,5
4	103	69	67,0	62,1	58,2	50,0	41,7
5	134	81	60,4	46,9	37,6	32,9	32,8
6	147	66	44,9	37,8	32,7	30,0	23,1
Total	**734**	**444**	**60,5**	**50,6**	**43,3**	**38,8**	**36,0**

I.4.3 Total de mosquitos capturados

Durante os 17 meses da coleta massal, as BGSs de intervenção capturaram, no mínimo, 675.641 culicídeos, sendo 42.409 (6,3%) fêmeas e 12.177 (1,8%) machos de *Ae. aegypti*, e 292 (0,04%) fêmeas e 59 (0,01%) machos de *Ae. albopictus*. A maior proporção de mosquitos capturados foi do gênero *Culex*, com uma coleta total estimada em 365.040 (54,0%) fêmeas e 255.664 (37,8%). Entretanto, provavelmente as coletas foram maiores, o que foi concluído em função da presença constante de formigas nos coletores de insetos. Ainda mais, as taxas de captura das armadilhas de monitoramento, que permaneceram somente 24h no campo, alcançaram taxas de capturas diárias mais altas, em comparação com as de intervenção, que foram vistoriadas somente a cada duas semanas. As BGSs de intervenção capturaram em média (± DP); 3,7 (± 8,63) *Ae. aegypti* fêmeas em duas semanas, o que corresponde à captura de 0,26 indivíduos por dia. Porém, as armadilhas de monitoramento capturaram em média 0,62 (± 1,66) fêmeas por dia.

As percentagens de mosquitos capturados, nas armadilhas de monitoramento das áreas de intervenção foram semelhantes às percentagens das de intervenção: as armadilhas de monitoramento capturaram predominantemente mosquitos do gênero *Culex* (50,23% fêmeas e 43,63% machos), 3,18% e 2,56% fêmeas e machos de *Ae. aegypti*, respectivamente, e somente 0,41% do total dos mosquitos foi classificado como *Ae. albopictus*.

Tabela I.4. Resumo dos mosquitos capturados (soma, média, desvio padrão DP e máximo), em armadilhas BG-Sentinel de intervenção (N = 11464) e em armadilhas de monitoramento (N = 932), nas seis áreas de intervenção em Manaus, AM.

		Ae. aegypti **fêmeas**	***Ae. aegypti*** **machos**	***Ae. albopictus*** **fêmeas**	***Ae. albopictus*** **machos**	***Culex sp.*** **fêmeas**	***Culex sp.*** **machos**
BGS de intervenção	Soma	42409	12177	292	59	365040	255664
	Média (24h)	0,26	0,08	0,002	0,0004	2,27	1,59
	DP	0,62	0,39	0,04	0,01	7,7	5,96
	Máximo (2 semanas)	269	203	42	12	3100	3078
BGS de monitoramento	Soma	581	467	45	29	9171	7966
	Média (24h)	0,62	0,5	0,05	0,03	9,84	8,55
	DP	1,66	1,95	0,49	0,48	19,75	22,37
	Máximo (24h)	30	31	12	10	278	380

I.4.4 Monitoramento entomológico

No período pré-intervenção (semanas -8 - 0), as capturas médias de *Ae. aegypti* fêmeas (± desvio padrão, DP) foram de 1,35 (± 1,26) e 1,25 (± 1,29) nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente (Figura I.4, Tabela I.5). O modelo LME não indicou uma diferença significativa entre as coletas de *Ae. aegypti* fêmeas, nos dois tipos de áreas, antes do início do período de intervenção (p = 0,898; Tabela I.6).

A Figura I.5 apresenta o efeito suavizado do tempo na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, nos dois tipos de áreas, durante todo o período de estudo. A figura indica um declínio da abundância de mosquitos, nas duas áreas. Entretanto, nos conglomerados da área de intervenção, a redução ocorreu mais rapidamente, presumivelmente, devido à coleta massal. Já a diminuição nas áreas de controle representa a flutuação natural da população de mosquitos.

O modelo GAMM para todos os dados do período pós-intervenção (semana 1-73) indicou uma diferença média de 0,13 ± 0,092 fêmeas de *Ae. aegypti* (transformação reversa do efeito ± erro padrão) entre conglomerados de coleta massal e controle, controlado por *Clogpré* (média de fêmeas capturadas durante o período pré-intervenção, $\log_{10}(x+1)$– transformado e centralizado) e a interação entre *Clogpré* e *tratamento*. Essa diferença é marginalmente significante ao nível p < 0,1 (Tabela I.6). A interação entre *Clogpré* e *tratamento* foi significativa. Isso significa, que o efeito da intervenção dependeu da média de mosquitos capturados na pré-intervenção, de forma que o efeito da coleta massal foi mais pronunciado nos conglomerados com uma menor infestação de fêmeas no período pré-intervenção.

Imediatamente após a instalação das armadilhas, as médias de capturas diminuíram nas áreas de intervenção (Figura I.4, I.5). Na primeira estação de chuva, a média de fêmeas capturadas diminuiu de 1,35 para 0,62 (redução de 54%) nas áreas de coleta massal, enquanto nas áreas de controle, houve um discreto aumento da média, de 1,25 para 1,29 (aumento de 3%) (Tabela I.5). O efeito da coleta massal foi significativo (p = 0,013), comprovado pelo modelo GAMM ajustado para esse período, controlado pelo *Clogpré* e a interação entre *Clogpré* e *tratamento* (Tabela I.6), sugerindo uma redução na população do vetor pela coleta massal. O modelo estimou uma diferença da abundância de *Ae. aegypti,* nos dois tipos de conglomerados de, em média (± erro padrão, EP), 0,26 ± 0,13 fêmeas (transformação reversa do efeito ± erro padrão, Tabela I.6).

Na época de seca, a população do vetor já estava reduzida nas áreas de intervenção e as

capturas de *Ae. aegypti,* nas armadilhas de monitoramento, diminuíram levemente, de 0,62 para um valor médio de 0,58 fêmeas por armadilha (-6,5%) (Tabela I.5). Nas áreas controle, a população do vetor diminuiu consideravelmente em 56,6%, para um valor médio de 0,56 fêmeas por armadilha (Tabela I.5). Neste período, *tratamento* não foi uma variável significativa no modelo GAMM (p = 0,719).

Nas últimas 30 semanas chuvosas do experimento, as médias de captura diminuíram nas áreas de coleta massal para 0,47 fêmeas por armadilha (-17,2%). Nas áreas de controle, as capturas aumentaram em 35,7%, para um valor médio de 0,80 fêmeas por armadilha. O modelo GAMM não apontou *tratamento* como variável explicadora significativa (p = 0,398).

Um padrão similar foi observado para os resultados do monitoramento de larvas na forma de "Levantamentos do Índice Rápido de *Aedes aegypti*", LIRAa, que foram realizados pela Fundação de Vigilância em Saúde de Amazonas (FVS-AM), nas áreas do bairro Cidade Nova, onde o estudo foi desenvolvido. Um mês antes do início da coleta massal, houve um Índice de Infestação Predial (IIP, porcentagem de residências com criadouros positivos para formas imaturas de *Ae. aegypti*) de 4,8. Depois a instalação das armadilhas, na primeira estação de chuva, o IIP se reduziu para 0,86, em abril. Na época de seca (agosto), o IIP permaneceu baixo (0,78) e aumentou no final da época de seca (outubro) para um valor de 1,26. Depois do aumento das chuvas, houve um IIP de 1,52, portanto, bem mais baixo do que observado no início da primeira estação de chuva (dados fornecidos pela FVS-AM).

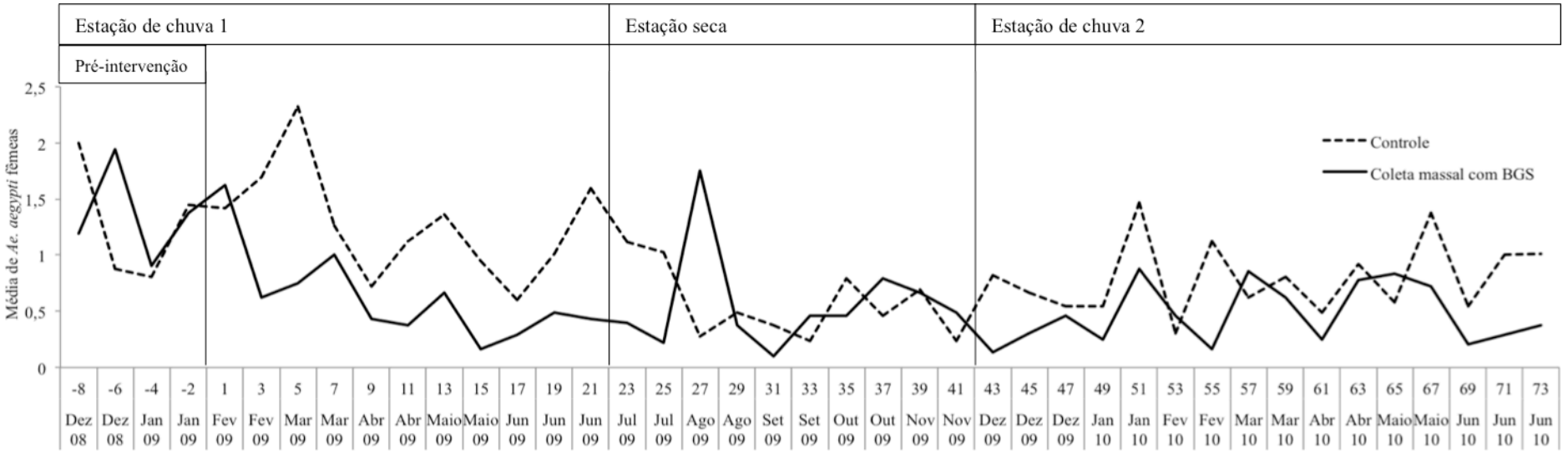


Figura I.4. Monitoramento com BGS: média de captura de fêmeas de *Ae. aegypti* nas seis áreas de controle (linha tracejada) e médias das seis áreas de intervenção (linha sólida), entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM.

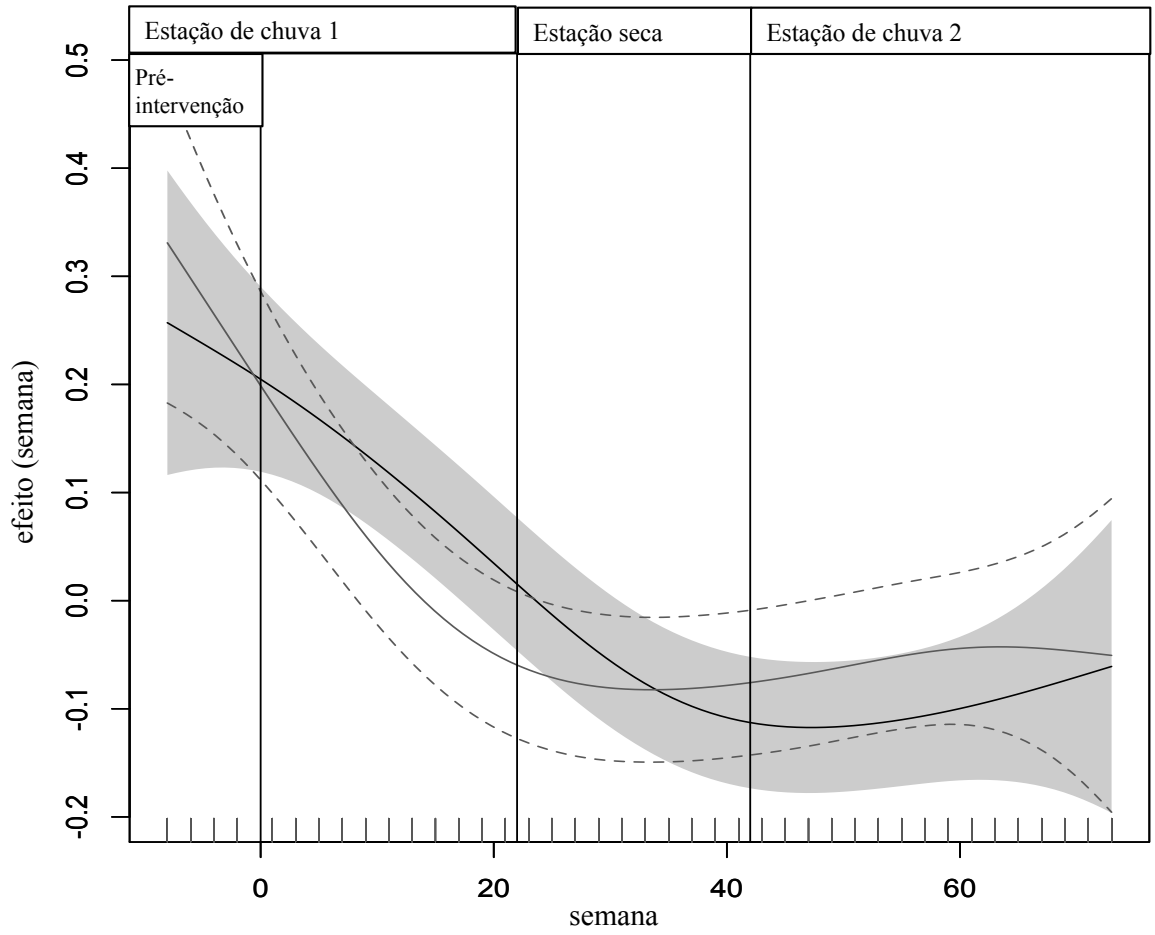


Figura I.5. Efeito estimado do tempo na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas em áreas de coleta massal e de controle, em Manaus, AM. Linha preta: áreas de controle. Linha cinza: áreas de coleta massal. A área sombreada e as linhas tracejadas indicam o intervalo de confiança de 95%, em áreas de controle e áreas tratadas, respectivamente.

Tabela I.5. Média (± desvio padrão, DP) de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em BGSs de monitoramento: comparação entre áreas de intervenção e controle, nos quatro períodos do estudo, entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM.

	Semanas -8-0 (N=3-4)		**Semanas 1-22 (N=11)**		**Semanas 23-42 (N=9-10)**		**Semanas 43-73 (N=16)**	
	Pré-intervenção		**Estação de chuva 1**		**Estação de seca**		**Estação de chuva 2**	
Par	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**
1	0,13 (0,25)	0,53 (0,41)	0,37 (0,36)	0,75 (0,72)	0,28 (0,42)	0,69 (0,49)	0,34 (0,37)	1,07 (0,89)
2	0,79 (0,62)	0,69 (0,77)	0,26 (0,32)	1,66 (0,97)	0,20 (0,26)	0,50 (0,71)	0,56 (0,50)	0,34 (0,38)
3	1,00 (0,79)	0,71 (0,82)	0,48 (0,21)	2,91 (1,84)	0,23 (0,28)	1,17 (0,89)	0,21 (0,25)	2,18 (2,07)
4	1,54 (0,98)	1,19 (0,62)	1,12 (1,14)	0,94 (0,83)	1,43 (1,79)	0,38 (0,36)	0,12 (0,21)	0,94 (1,05)
5	1,79 (1,01)	1,90 (2,27)	0,86 (1,04)	0,49 (0,40)	0,85 (1,19)	0,21 (0,30)	1,12 (0,68)	0,02 (0,06)
6	2,88 (3,33)	2,31 (1,39)	0,64 (0,60)	1,13 (1,06)	0,46 (0,65)	0,40 (0,35)	0,49 (0,56)	0,26 (0,29)
Total	**1,35 (1,26)**	**1,25 (1,29)**	**0,62 (0,74)**	**1,29 (1,28)**	**0,58 (1,02)**	**0,56 (0,62)**	**0,47 (0,56)**	**0,80 (1,24)**

Tabela I.6. Resultados do modelos utilizados para os diferentes períodos do estudo, para análise da variação do número médio de *Ae. aegypti* fêmeas ($\log_{10}(x+1)$-transformado), capturado com BGSs, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM.

Período	**Modelo**	**Variável**	**Efeito**	**EP**	**P**
Todos os dados	$Y_{hi} = \alpha + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$	*coleta massal|semana*	suavizado		<0,001
(semanas -8-73)		*controle|semana*	suavizado		<0,001
Pré-intervenção (semanas -8-0)	$Y_{hi} = \alpha + \beta T_h + a_h + \varepsilon_{hi}$	*tratamento*	0,025	0,192	0,898
Intervenção	$Y_{hi}=\alpha+\beta_1 \cdot T_h+\beta_2 \cdot P_h+\beta_3 \cdot T_h \cdot P_{h+}f_{Th}(i)+a_h+\varepsilon_{hi}$	*tratamento*	-0,144	0,088	0,099
(semanas 1-73)		*Clogpré*	-0,556	0,214	0,0095
		tratamento:Clogpré	0,736	0,267	0,0061
		coleta massal|semana	suavizado		<0,001
		controle|semana	suavizado		0,26
Estação de chuva 1	$Y_{hi}=\alpha+\beta_1 \cdot T_h+\beta_2 \cdot P_h+\beta_3 \cdot T_h \cdot P_{h+}f_{Th}(i)+a_h+\varepsilon_{hi}$	*tratamento*	-0,299	0,119	0,013
(semanas 1-22)		*Clogpré*	-0,442	0,290	0,130
		tratamento:Clogpré	0,662	0,362	0,070
		coleta massal|semana	suavizado		0,004
		controle|semana	suavizado		0,313

I.4.5 Estudo de paridade

A paridade foi determinada para 1341 mosquitos (95,8%) do total de 1400 *Ae. aegypti* fêmeas, capturadas por armadilhas BGS de monitoramento. Considerando somente o período pós-intervenção, houve predominantemente fêmeas em fases avançadas do ciclo de desenvolvimento ovariano, com percentagens de 72,6% e 77,4%, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente. As fêmeas paridas foram observadas com menor frequência, em 23,1% e 20,9% das capturadas. Apenas 4,3% e 1,7% das fêmeas foram categorizadas como nulíparas, nas áreas tratadas e não-tratadas, respectivamente.

A taxa de paridade, que considera somente fêmeas nulíparas e paridas, não diferiu nos dois tipos de áreas, nos períodos de pré-intervenção, da estação de seca e das últimas 30 semanas do experimento (Tabela I.7). Durante as primeiras 22 semanas, a partir da instalação das armadilhas para coleta massal, houve uma taxa de paridade significativamente maior nas áreas controle (p = 0,029). Esta observação apontou uma mudança no perfil etário dos mosquitos na área de intervenção, de forma que a população das fêmeas se tornou mais nova, indicando uma menor probabilidade de sobrevivência.

Tabela I.7. Estudo de paridade nos quatro períodos do experimento: comparação entre áreas de intervenção e áreas de controle, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM.

	Intervenção				**Controle**				
	Estado fisiológico (%)*			Taxa de paridade	Estado fisiológico (%)*			Taxa de paridade	Teste de Fisher
Período	Nulí-paras	Paridas	Estados avançados	%§	Nulí-paras	Paridas	Estados avançados	%§	p
pré-intervenção	9 (8,6)	48 (45,7)	48 (45,7)	84,2	4 (4,1)	32 (32,7)	62 (63,3)	88,9	0,76
semanas 1-22	10 (6,5)	35 (22,7)	109 (70,8)	77,8	7 (2,4)	80 (27,0)	209 (70,6)	91,9	0,029
semanas 23-42	1 (0,9)	42 (38,9)	65 (60,2)	97,7	0 (0)	37 (33,3)	74 (66,7)	100,0	1
semanas 43-73	8 (4,5)	24 (13,6)	144 (81,8)	75,0	5 (1,7)	29 (9,9)	259 (88,4)	85,3	0,36

I.4.6 Pesquisa de anticorpos IgM para DENV

Para avaliação do efeito da coleta massal sobre a prevalência da infecção, foi verificado o título de IgM para o DENV no soro de moradores dos 12 conglomerados. Um total de 766

amostras de sangue foram coletadas, sendo 436 nas áreas de intervenção e 330 nas de controle. Entre as 436 amostras coletadas nas áreas de intervenção, 309 se originaram de participantes que residiam em casas com uma BGS para coleta massal, enquanto 127 amostras foram coletadas em casas sem armadilha de intervenção.

Pessoas soropositivas para DENV foram raras na área do estudo, na época da coleta de sangue (Tabela I.8). Nas áreas de intervenção, 2 moradores (0,65%) de casas com armadilha foram soropositivos, enquanto nas casas sem armadilha, 4 participantes (3,15%) foram soropositivos.

A comparação das frequências de soropositividade para DENV entre casas com e sem BGS de intervenção, nos conglomerados de coleta massal, sugere marginalmente menos pessoas nas casas tratadas (teste exato de Fisher, p = 0,062; OR = 4,97). Este resultado indica que o uso das armadilhas não promoveu um efeito para todo o conglomerado e, aparentemente, reduziu o risco de infecção para dengue para as pessoas com a armadilha em sua residência.

Quando se comparou o número de soropositivos das casas tratadas dos conglomerados de coleta massal com os casos das áreas de controle, observou-se que o tratamento não afetou a frequência da soropositividade (teste exato de Fisher, p = 0,288; OR = 2,84).

Tabela I.8. Pesquisa de anticorpos para DENV: frequência de moradores soropositivos e soronegativos nos dois tipos de áreas, em maio e junho de 2013, em Manaus, AM.

Área	Tipo de casa	N	N positivo	% positivo
Intervenção				
	com armadilha BGS	309	2	0,65
	sem armadilha BGS	127	4	3,15
	Total	436	6	1,38
Controle		330	6	1,82

I.4.7 Segundo questionário

A grande maioria dos participantes, que respondeu ao segundo questionário, afirmou que a armadilha reduziu notavelmente a densidade populacional de mosquitos nas suas casas (88,8%) e, consequentemente, o incômodo causado por estes (88,4%). A maioria dos participantes (70,6%) ficou menos preocupada com a dengue e 60,8% se sentiu mais

protegido contra a doença, quando armadilha foi usada. Os problemas de funcionamento da armadilha, como falta de eficiência ou o consumo de energia foram relatados em 10 casas (4,6%).

A maior parte dos usuários estava satisfeita com a performance da armadilha (90,6%), 97,0% relataram que a armadilha não trouxe desconfortos com seu funcionamento e 89,5% gostariam continuar a usá-la depois da conclusão do projeto. Quando questionados sobre a aquisição da armadilha, 74,5% manifestaram que baseariam a sua decisão no preço, enquanto 14,9% declaram o desejo de comprar independente do custo e 4,3% não demonstraram qualquer interesse. O preço médio da armadilha foi estimado em R$ 123,30 (± DP = 105,6) e o valor médio para o custo mais alto declarado, aceitável para a compra, foi de R$ 65,70 (± DP = 47,8).

I.5 Discussão

A amostragem dos participantes do primeiro questionário incluiu moradores com educação e níveis socioeconômicos diferentes. De maneira que, é provável que o resultado do questionário tenha refletido uma imagem representativa de práticas e atitudes sobre a dengue, no bairro Cidade Nova, em Manaus. A grande maioria dos participantes dos conglomerados de coleta massal e controle relatou investir tempo e esforços na aplicação das medidas de controle, como a eliminação de criadouros.

As comparações indicaram que a maioria das variáveis, potencialmente interferentes nos efeitos da coleta massal, foram igualmente distribuídas entre os dois grupos. Diferenças foram observadas entre solidariedade e familiaridade na vizinhança, de tal forma que os entrevistados nas áreas de intervenção concordaram mais frequentemente com as afirmações de solidariedade e familiaridade, fator não confirmado pela pergunta ligada à conscientização da comunidade sobre o problema da dengue.

Com uma participação média de 60,5%, mais da metade dos moradores das áreas de intervenção concordou em participar do estudo. Algumas casas não foram incluídas, porque os moradores não puderam ser encontrados. Foi observado que alguns moradores recusaram as armadilhas, alegando o custo do consumo elétrico gerado pelo seu uso contínuo. Entretanto, a BGS consome apenas 3,4 Watts por hora. Como o custo do kWh foi cerca de R$ 0,42 em Manaus em 2009, uma BGS constantemente ligada, 24h por dia, consumiu, aproximadamente, 1 real por mês. Isso foi informado por escrito e pessoalmente pelos agentes de campo. Todavia, aparentemente, os moradores se mantiveram céticos, provavelmente

associando o custo elétrico da armadilha ao de um ar condicionado. Outros ficaram preocupados com o risco de incêndio.

Paz-Soldan e colaboradores (2011) avaliaram em um estudo qualitativo, realizado na forma de grupos de discussões no Peru e na Tailândia, a aceitabilidade de uma estratégia *push-pull*, baseada no uso de repelentes espaciais, como componente *push,* e BGS, como componente *pull*. Os autores reportaram que o custo das armadilhas foi o ponto mais preocupante para os participantes da Tailândia, principalmente, quando a aquisição regular de um atraente é necessária. Como não foi mencionado na publicação, possivelmente, a questão do custo da eletricidade não foi discutida pelos participantes do estudo (Paz-Soldan et al. 2011).

Em cinco das seis áreas de coleta massal, mais de 60% das casas participaram no estudo, enquanto em um conglomerado, somente 45% concordaram em receber uma BGS. Foi observado que o agente de campo responsável por esta última área não possuía habilidades sociais bem desenvolvidas, o que pode ter acarretado este efeito negativo. Quando membros da equipe científica interagiram diretamente nesta área, os moradores manifestaram sua rejeição ao referido agente, que motivou a sua substituição. Apesar da providência, a resistência dos habitantes permaneceu alta e o novo agente conseguiu instalar BGSs em apenas algumas das casas, que originalmente rejeitaram a armadilha. Tal experiência assinalou a importância de habilidades sociais dos membros da equipe. Infelizmente, observou-se que não há grande disponibilidade de agentes de campo bem treinados, motivados e com boas habilidades sociais, provavelmente ligada à baixa remuneração.

A maioria de estudos de coleta massal com OLs obteve maiores taxas de participação, provavelmente, decorrente do fato destas não necessitarem de eletricidade. Perich et al. (2003) e Sithiprasasna et al. (2003) relataram a instalação de 10 OLs em 100% das casas, na área de intervenção dos seus estudos, conduzidos no Brasil e na Tailândia, respectivamente. Na Austrália, Rapley e colaboradores (2009) relataram obter uma participação de 71 a 75% em dois experimentos, com duração de um mês. Em um estudo de campo na Venezuela, para avaliação da efetividade de materiais tratados com inseticidas (*insecticide treated materials*, ITMs) para o controle do vetor da dengue, inicialmente, 79,7% das casas utilizaram cortinas tratadas com inseticida mas, ao final de 18 meses do experimento, somente 32,3% ainda as utilizavam (Vanlerberghe et al. 2011). No presente trabalho, em comparação, a redução da taxa de casas com armadilhas de 60,5% para 36% foi relativamente pequena, considerando-se que os períodos dos experimentos foram equivalentes e que o uso das BGSs foi associado a despesas, na forma de custos de energia elétrica.

Infelizmente, não foi possível controlar quantas casas participantes efetivamente estavam utilizando a armadilha initerruptamente. Em projetos futuros, este aspecto poderia ser controlado mediante a instalação de um dispositivo capaz de medir o tempo de funcionamento da armadilha.

No total, 92% dos mosquitos capturados com as armadilhas de intervenção foram do gênero *Culex*. Entre estes predominou o *Cx. quinquefasciatus* (Tatiana Mingote Ferreira de Ázara, comunicação pessoal), espécie altamente antropofílica e endofílica, conhecida pelo uso de criadouros com águas poluídas. A elevada abundância deste mosquito, com capturas de até 278 fêmeas em 24h, em uma única armadilha, sugere um alto nível de incômodo nas tardes e noites, e é preocupante, considerando-se as doenças transmissíveis por esta espécie. Uma alta infestação de residências em Manaus com *Cx. quinquefasciatus* já foi descrita anteriormente (Ázara et al. 2013; Charlwood 1979). No Brasil, o *Cx. quinquefasciatus* é o vetor principal da filariose bancroftiana (Rachou 1956; Rocha & Fontes 1998) e também um vetor secundário do vírus de Oropouche (Pinheiro et al. 1981). A filariose bancroftiana esteve presente em Manaus, na década de 50 do século passado (Rocha & Fontes 1998) e, atualmente, a transmissão da doença no Brasil ocorre em Recife (MS/SVS 2009b).

É altamente provável que as capturas totais das BGSs de intervenção tenham sido muito maiores, do que as apresentadas na Tabela I.4. Como essas armadilhas ficaram um período de duas semanas nas residências, formigas foram frequentemente observadas dentro e fora das bolsas de captura. Isso representou um viés na avaliação quantitativa das capturas em duas maneiras: (1) mosquitos capturados foram consumidos e/ou retirados por formigas e (2) mosquitos mortos "vazaram" dos coletores, através dos orifícios abertos pelas formigas no tecido. Presumivelmente ainda, mosquitos escaparam das armadilhas, quando ocorreu uma falha elétrica na área do estudo. Visando corrigir este aspecto, o projeto da BGS deve ser aperfeiçoado de maneira que impossibilite a fuga dos mosquitos durante interrupções acidentais ou falhas elétricas.

O monitoramento com BGS revelou que a coleta massal causou um efeito significativo sobre a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas durante a primeira estação de chuva, até o início da época de seca. A ausência de um efeito significativo em todo o período do estudo está provavelmente associada à flutuação natural da população de mosquitos, representada pela brusca diminuição de capturas na época de seca, nas áreas não-tratadas. Depois do início da segunda estação de chuva, a população de mosquitos aumentou apenas levemente, de forma que os altos níveis observados na primeira época de chuva não foram alcançados. O motivo da ausência de um aumento da população de mosquitos, após a época de seca pode ser

associado com a precipitação acumulada extremamente baixa na época de seca. Tal fato poderia ter causado um declínio maior do que o esperado na população de mosquitos. Nos meses entre junho e outubro 2009, um total de 226 mm de chuva foi registrado em Manaus; porém, entre 1961 e 1990, a média da precipitação total acumulada no período foi de 468 mm. Em novembro de 2009, a chuva acumulada de 132 mm caiu em somente 4 dias. Durante essa época com baixa abundância de mosquitos, as BGSs de monitoramento não detectaram um efeito positivo da coleta massal. Ademais, na segunda estação chuvosa, o número reduzido de casas participantes pode ter contribuído para a ausência de um efeito significativo da intervenção. O resultado da ausência de um efeito da coleta massal na a época da seca está em concordância com os resultados de Rapley et al. (2009), na Austrália.

É altamente provável que o efeito da coleta massal tenha sido reduzido, porque todos os conglomerados do estudo foram constituídos de pequenas áreas de cerca de 120 casas, em meio a uma grande área urbana com, aproximadamente, de 2 milhões de habitantes. Esta condição favorece a dispersão de mosquitos em um grau elevado. Um efeito positivo da coleta massal seria provavelmente mais aparente, quando aplicada em áreas maiores como, por exemplo, áreas geograficamente isoladas. Melhor ainda, comunidades inteiras, como unidades de conglomerado, com um maior número de armadilhas por residência. Ainda mais, para o monitoramento de um número maior de armadilhas, períodos mais longos deveriam ser utilizados (Williams et al. 2007).

A análise dos dados da paridade demonstrou que, na primeira estação chuvosa, houve uma taxa de paridade significativamente mais elevada nas áreas não-tratadas, sugerindo estruturas etárias distintas nos dois tipos de área. Uma proporção maior de nulíparas nas áreas de coleta massal apontou que houve mais mosquitos com idade inferior a 3-4 dias, nos quais o período de incubação extrínseco ainda não poderia ter ocorrido. Desta forma, os mosquitos nas áreas tratadas tiveram menor probabilidade de transmissão do DENV. É interessante que esse efeito foi observado somente no período do estudo, quando foi possível perceber um efeito da coleta massal sobre a população. Nos experimentos com OLs na Austrália, a intervenção não promoveu um efeito sobre a frequência de *Ae. aegypti* paridas, em BGS de monitoramento, na estação de seca ou chuva (Rapley et al. 2009).

A detecção de poucas amostras soropositivas prejudicou a avaliação da variação dos títulos de IgM para o DENV na população humana, ao longo do experimento. Este resultado impossibilitou uma análise estatística avançada que considera a variável *conglomerado* como efeito aleatório. Logo, todos os resultados obtidos representam somente tendências. A pesquisa de IGM sugeriu que a coleta massal reduziu o risco de infecções com DENV, nas

pessoas que moravam em casas com uma armadilha para coleta massal. O fato das casas com armadilhas terem sido mais protegidas nos conglomerados com coleta massal do que as sem, pode indicar que o efeito da coleta massal não ocorreu no conglomerado inteiro. Neste contexto, é importante enfatizar que a coleta das amostras de sangue foi realizada no final do estudo, quando o monitoramento entomológico não apontou um efeito sobre a abundância dos mosquitos ou sobre a distribuição etária da população de mosquitos. Como a população geral dos mosquitos não foi reduzida drasticamente nas áreas de intervenção, as BGSs nas casas participantes podem ter reduzido o risco de contato com mosquitos infectantes pela competição da sua atração com a dos moradores e, portanto, reduzindo os ataques, ao invés de proteger o conglomerado inteiro. Nas residências sem armadilha não houve um "competidor", de forma que é possível que a frequência de picadas nos moradores tenha sido maior. A taxa de soropositividade geral de, aproximadamente, 2% nas áreas de controle foi similar a de 1,3 a 4,7%, obtida no Rio de Janeiro, em um período não epidêmico (Honório et al. 2009b).

Durante todo o transcurso do estudo, 579 e 147 casos confirmados de dengue foram registrados em Manaus e Cidade Nova, respectivamente (SINAN-AM). Em 2008, um ano antes deste estudo, mais de 8000 casos foram confirmados em Manaus, sendo mais de 1000 casos somente no bairro Cidade Nova (SINAN-AM). Depois do presente estudo, entre julho e dezembro de 2010, um total de aproximadamente 2200 casos foi notificado em Manaus. Portanto, o experimento foi desenvolvido ao longo de uma época de pouca transmissão de dengue, o que pode ter contribuído para o baixo número de indivíduos soropositivos. Outro fator limitante foi a não obtenção de dados de prevalência de anticorpos no período de pré-intervenção para assegurar que as taxas nos dois tipos de área foram comparáveis. Em futuros experimentos, a coleta periódica de amostras de soro ou plasma seria de interesse, antes e depois do início do estudo, a cada seis meses ou, pelo menos, uma vez em cada estação de chuva e seca.

As respostas do segundo questionário indicam que a grande maioria dos participantes percebeu uma redução da abundância e incômodo dos mosquitos. O componente principal dessa percepção pode ser, provavelmente, associado à redução de *Culex*, o mosquito predominante em Cidade Nova, capturado em altos números pelas BGSs. As taxas de concordância maiores ou iguais a 89,5%, para todas as perguntas sobre o tema, comprovaram a satisfação dos entrevistados com a utilização da armadilha. Entre os participantes do segundo questionário, 60,8% se sentiram mais protegidos contra a dengue e 70,6% ficaram menos preocupados com a doença. Possivelmente, os moradores se sentiram mais protegidos, porque tiveram um objeto bastante visível na casa, para captura de mosquitos. O fato de que

quase 90% dos moradores terem alegado uma diminuição do número de mosquitos nas suas casas sugere que o uso da armadilha foi percebido como um fator significativo na prevenção da doença, contribuindo com a redução desta preocupação. Teoricamente, esta menor preocupação com a dengue poderia ser associada a uma prática também reduzida de medidas de controle. Como exemplo, a prática de remoção de criadouros ou lavagem de tanques poderia ter sido descuidada. Neste caso, este efeito poderia representar uma grave fator epidemiológico, provavelmente resultando no aumento de criadouros e sua produtividade. Como o questionário aplicado não examinou a possível associação entre a diminuição de preocupação e uma mudança da aplicação de medidas de controle, sugere-se a investigação desta possibilidade em novos trabalhos.

No entanto, para as considerações sobres as conclusões obtidas, a partir da análise das respostas do questionário, alguns possíveis vieses não podem ser excluídos. Em princípio, em entrevistas diretas é possível que o entrevistado responda da maneira que o entrevistador consideraria favorável. Segundo, algumas melhorias percebidas poderiam ser resultantes das expectativas geradas, em vez da eficiência da armadilha. Este viés de expectativa poderia ser avaliado, utilizando-se armadilhas falsas em futuros estudos, nas áreas controle.

O valor médio, que os consumidores reportaram como aceitável a compra da armadilha, foi de cerca da metade do preço estimado da armadilha para sua aquisição em uma loja. A discrepância observada entre os dois valores pode refletir a hipótese de que os entrevistados acreditaram que suas estimativas serão usadas para estabelecer o preço da armadilha no mercado. O preço da BGS quando adquirida na Alemanha é €149 (cerca R$390). O preço é alto por causa do pequeno número de unidades que vem sendo produzidas. Com aumento de encomendas, na faixa de dez mil armadilhas por ano, os preços poderão cair abaixo de €70 (cerca R$182). Com aumento de encomendas, na faixa de dez mil armadilhas por ano, o custo unitário poderá cair abaixo €70 (cerca R$182). Com encomendas ainda maiores, os preços poderão alcançar ainda cerca de €45 (R$117) (Martin Geier, Diretor da Biogents SA, comunicação pessoal).

Ademais, é importante levar em consideração que os preços estimados estão claramente associados com a condição econômica dos participantes e a aceitação em relação ao uso da armadilha, pessoalmente percebida.

Quando se considera a aplicabilidade de novas estratégias de controle de vetores é importante ter em conta os recursos humanos necessários para o seu uso. A coleta massal com BGSs necessita relativamente pouco recurso humano, comparado a outras estratégias. O maior número de agentes de campo foi necessário no início do estudo, quando o folheto

informativo sobre o estudo foi distribuído e para a instalação das armadilhas. No decorrer do projeto, muito poucas armadilhas necessitaram de manutenção. Observamos que apenas três armadilhas foram destruídas por cães e foram substituídas. Nenhuma armadilha mas, por vezes, os cabos elétricos com transformadores 12 V desapareceram, presumivelmente, porque pessoas pensaram que seu uso para recarregar telefones celulares seria possível (baseado em comentários dos agentes de campo). O tempo de vida útil das BGSs, quando usadas para coleta massal, ainda precisa ser investigado para períodos maiores que 17 meses.

Na prática, visitas quinzenais às casas não são necessárias, porém recomenda-se a realização de vistorias periódicas, assegurando a utilização contínua das armadilhas e a detecção de reparos eventualmente necessários, a cada três meses.

A utilização da BGS não traz nenhuma dificuldade ou necessidade de adaptação dos seus usuários, de maneira que a armadilha pode ser vista como "ecologicamente correta e amigável". A maioria das outras estratégias de controle de dengue necessitam de ações regulares, como reaplicação de copépoda ou peixe nos criadouros, reaplicação de adulticidas ou a re-impregnação de ITMs. Para campanhas de redução de criadouros, as pessoas necessitam de incentivos regulares e, mesmo assim, a participação da comunidade é frequentemente baixa.

Uma outra vantagem da BGS é a não utilização de inseticidas ou captura de insetos benéficos, como dos grupos *Hymenoptera* ou *Lepidoptera*. Em adição, a utilização da BGS pode ser incluída em estratégias de controle integrado, juntamente com outros métodos de controle de larvas, resultando em efeitos melhores. A maior desvantagem da armadilha é a sua necessidade de energia elétrica, gerando custos e restrições de instalação.

Os resultados obtidos demostraram pela primeira vez uma redução de *Ae. aegypti* fêmeas, utilizando coleta massal com BGS, em uma área urbana. Um efeito significativo foi observado na primeira estação de chuva, quando a infestação com mosquitos foi maior do que nas épocas de seca e de chuva subsequentes. Uma tendência de um efeito da coleta massal sobre a transmissão da dengue foi também observado. Efeitos positivos de intervenções com ovitrampas letais (OLs), sobre a abundância de *Ae. aegypti* adultos, já foram descritos no Brasil (Perich et al. 2003) e Tailândia (Sithiprasasna et al. 2003). No Brasil, o número de adultos capturados foi significativamente diminuído em uma das duas áreas de intervenção (Perich et al. 2003). No estudo da Tailândia, dois experimentos com duração de sete meses foram realizados, por dois anos seguidos. A redução da população adulta de *Ae. aegypti* foi observada somente no segundo ano do estudo. No primeiro ano, não houve um efeito das OLs, resultado atribuído ao viés da presença de fungos na faixa de oviposição, tratada com

inseticida (Sithiprasasna et al. 2003). Na Colômbia, as OLs foram avaliadas isoladamente e em combinação com educação e aplicação de Bti (Ocampo et al. 2009). Nenhum dos dois tratamentos resultou em uma redução significativa do número de formas imaturas de *Ae. aegypti*, quando comparada com a área controle (somente com tratamento de educação). Os autores argumentaram que as áreas pequenas utilizadas e a baixa susceptibilidade da cepa local de *Ae. aegypti* para a deltametrina, utilizada para impregnação das faixas de oviposição, devem ter influenciado os resultados (Ocampo et al. 2009). Na Austrália, observou-se um efeito do uso de OLs, em combinação com a aplicação de larvicidas e o uso de BGSs em algumas casas, durante a época de chuva, embora não na época de seca (Rapley et al. 2009), corroborando portanto com nossas observações em Manaus.

Durante o estudo houve pelo menos dois grandes aspectos desfavoráveis para as análises (1) a densidade muito baixa dos vetores da dengue na área de estudo e (2) a baixa transmissão de DENV na população humana. No entanto, os dados obtidos forneceram informações importantes sobre o potencial de armadilhas, que podem ser aplicadas para o controle de vetores da dengue, no âmbito de residências.

Todavia, investigações adicionais e aperfeiçoamentos são necessários. Como é improvável atingir maiores taxas de aceitação dos moradores, a coleta massal deve ser investigada conjuntamente com outras estratégias de controle. Neste contexto, a combinação com controle larvário, que evita re-infestações de áreas tratadas, como feito em Rapley et al. (2009), parece interessante. Ainda melhor seria a inserção da coleta massal em um esquema de controle integrado, incluindo a educação da comunidade, campanhas de eliminação de criadouros e a aplicação de larvicidas. Uma estratégia de *push-pull*, onde BGSs são o componente *pull* e repelentes espaciais ou produtos químicos irritantes de contato (*contact irritant chemicals*) o componente *push*, como proposto recentemente (Paz-Soldan et al. 2011; Salazar et al. 2012), também parece ser uma abordagem promissora.

Para futuros estudos de coleta massal com BGSs, os resultados sugerem que um maior número de conglomerados deve ser adotado, preferencialmente, onde a migração de mosquitos de áreas próximas seja minimizado. Em regiões urbanas, pode se esperar que o efeito da coleta massal seja maior, quando aplicado em áreas maiores. Desta forma, em vez de empregar áreas de somente 4-7 quadras, o uso de conglomerados maiores é aconselhável como, por exemplo, bairros inteiros como unidade experimental.

Antes de uma aplicação rotineira, é necessário avaliar a coleta massal com BGSs, como parte de um sistema de controle integrado. Para tal, experimentos em grande escala, na forma de conglomerados randomizados controlados, incluindo a avaliação de cada componente do

controle integrado e a análise do efeito do controle sobre a incidência da infecção, precisam ser implementados, em uma época de alta transmissão do vírus na população humana. Estudos que avaliam o efeito da estratégia em épocas epidêmicas são também necessários, para investigação da relação custo-benefício das armadilhas.

Capítulo II:

Avaliação da coleta massal de *Aedes aegypti* com armadilhas MosquiTRAP em áreas urbanas de Manaus (AM).

II.1 Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade da coleta massal de *Aedes aegypti* com armadilhas MosquiTRAP® (MQT), em uma área urbana de Manaus, Brasil. Inicialmente, um levantamento prévio por meio de um questionário e o monitoramento pré-intervenção da abundância de *Ae. aegypti* adultos, com o uso de armadilhas BG-Sentinel® (BGS), foram realizados em seis conglomerados. Entre estes, três conglomerados foram designados aleatoriamente para a intervenção, nos quais as residências participantes receberam três MQTs para coleta massal, por 17 meses. O monitoramento quinzenal com BGS, em todos os seis conglomerados do estudo, investigou o efeito da intervenção sobre a população de *Ae. aegypti* adultos. Uma pesquisa de anticorpos específicos para o vírus da dengue (DENV) foi realizada nos últimos dois meses do estudo. Após o término do experimento, um segundo questionário foi submetido aos moradores das residências dos conglomerados tratados.

Os resultados do monitoramento entomológico indicaram que a coleta massal com MQTs não reduziu a abundância de *Ae. aegypti* adultas. Não houve diferença entre as frequências de fêmeas nulíparas e paridas dos dois tipos de áreas. A frequência de infecções recentes por DENV não foi menor nas áreas de coleta massal, em comparação com as não-tratadas. A análise das respostas do questionário mostrou que a maioria dos participantes manifestou boa aceitação em relação ao uso da armadilha e muitos relataram perceber um efeito favorável da sua utilização, na redução de mosquitos das suas moradias.

Considerando os resultados obtidos, não houve evidências de que a coleta massal com MQT pode ser utilizada como estratégia de combate dos vetores da dengue em Manaus, nas condições utilizadas, porém seu uso é recomendável apenas para o monitoramento de fêmeas de *Ae. aegypti*.

Palavras chave: MosquiTRAP, armadilha de mosquitos, controle da dengue, coleta massal, *Aedes aegypti*.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of *Aedes aegypti* mass trapping using MosquiTRAPs® (MQT) by performing a cluster randomized controlled trial in an urban area of Manaus, Brazil.

After an initial questionnaire and baseline monitoring of adult *Ae. aegypti* abundance with BG-Sentinel (BGS) traps in all six clusters, three clusters were randomly assigned to the intervention arm where each participating household received three MQTs for mass trapping during 17 months. The other three clusters did not receive traps and were considered as the control arm. The effect of the intervention on adult *Ae. aegypti* abundance was evaluated through bi-weekly monitoring with BGS traps in all six clusters. During the last two months of the study, a serological survey was conducted and a second questionnaire was applied in the intervention arm.

Entomological monitoring did not indicate, that mass trapping with MQTs reduced adult *Ae. aegypti* abundance. The serological survey did not indicate, that recent dengue infections were less frequent in the intervention arm. The second questionnaire showed that the majority of participants responded positively to questions concerning user satisfaction.

According to the results, there is no evidence that mass trapping with MQTs (using three traps per household) might be used as a part of a dengue control program in Manaus. The use of the trap is therefore only recommendable for monitoring of *Ae. aegypti* females.

Keywords: MosquiTRAP, mosquito traps, dengue control, mass trapping, *Aedes aegypti*.

II.2 Introdução

A dengue é, no momento, a arbovirose mais importante, que acomete seres humanos, no mundo. Entre vários outros fatores, principalmente a globalização, a urbanização sem planejamento e a falta de técnicas de controle vetorial eficaz tem contribuído para o aumento da incidência da infecção e sua gravidade, no decorrer das três últimas décadas (Gubler 2011a). Para reverter essa tendência, o desenvolvimento e implementação de estratégias de controle vetorial eficaz podem representar um passo significativo.

O *Aedes aegypti*, principal vetor da dengue, é de difícil controle, uma vez que é altamente adaptado ao ambiente urbano, onde um elevado número de criadouros e hospedeiros podem ser encontrados. Existem várias linhas de pesquisa que buscam desenvolver alternativas para otimizar o controle desse mosquito, incluindo estratégias biológicas e genéticas (Hoffmann et al. 2011; Kay & Vu 2005; Kittayapong et al. 2008; Kroeger et al. 2006; Lacroix et al. 2012; Lenhart et al. 2013; Nam et al. 2012).

As ovitrampas foram desenvolvidos na década de 1960 (Fay & Eliason, 1966) e tem sido utilizadas desde então para a vigilância de *Ae. aegypti*. Na década de 1970, ovitrampas foram usadas pela primeira vez como parte de um programa de controle de *Ae. aegypti*, no Aeroporto Internacional de Cingapura (Chan 1972). Posteriormente, a armadilha foi modificada de forma a ser letal para as fêmeas ovipositoras, impregnando-se o suporte de oviposição com inseticida (Zeichner & Perich 1999). Essa armadilha modificada, do tipo *lure and kill* (atrai e mata), foi chamada ovitrampa letal (OL). Uma infusão de feno é adicionada na armadilha para aumentar a sua atratividade. Em experimentos de campo, o uso em massa de OLs para vetores de dengue tem sido avaliado desde a última década, na maioria das vezes com resultados total ou parcialmente positivos (Perich et al. 2003; Sithiprasasna et al. 2003; Ocampo et al. 2009; Rapley et al. 2009).

A armadilha aderente MosquiTRAP (MQT), desenvolvida especificamente para o monitoramento de *Ae. aegypti* grávidas, atrai os mosquitos usando estímulos visuais (cor preta) e olfativos (atraente de oviposição sintético) (Fávaro et al. 2006; Eiras & Resende 2009). Os mosquitos que adentram a MQT são retidos em um cartão aderente de fácil remoção, permitindo a identificação dos espécimes capturados no momento da vistoria dos agentes de campo treinados, com ajuda de uma lupa de mão (Eiras & Resende 2009). A MQT apresenta uma maior sensibilidade na detecção do *Ae. aegypti*, em relação à pesquisa larvária (Gama et al. 2007; Steffler et al. 2011; Melo et al. 2012). Todavia, comparada à ovitrampa, o uso da MQT resultou em menor sensibilidade para a detecção dos vetores da dengue em alguns trabalhos (Fávaro et al. 2008; Gama et al. 2007; Honório et al. 2009). Em outro estudo,

os dois tipos de armadilhas apresentaram sensibilidades similares (Fávaro et al. 2006). Melo e colaboradores (2012) mostraram que MQTs e ovitrampas obtiveram concordâncias espaciais semelhantes entre a presença do vetor e os casos de dengue, porém a concordância temporal da MQT foi superior. A sensibilidade da MQT foi similar a do aspirador costal (Fávaro et al. 2008). Em relação à Adultrap, outra armadilha específica para fêmeas grávidas, a MQT se mostrou mais eficiente (Maciel-de-Freitas et al. 2008b).

Apesar de MQT ser desenvolvida para o monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas e sempre ter sido utilizada para esta finalidade, foi descrito no presente trabalho o primeiro experimento de coleta massal com este tipo de armadilha.

II.3 Material e Métodos

II.3.1 Área experimental

Manaus, a capital do estado do Amazonas, tem uma população estimada de 1.802.525 (Censo IBGE 2010). A cidade está localizada na confluência do Rio Solimões com o Negro (3°07'S, 59°57'W) e é cercada por floresta tropical. O clima é equatorial úmido, com médias anuais de 27 °C e 2300 mm de precipitação.

O estudo foi realizado na Cidade Nova, o maior bairro de Manaus, localizado na Zona Norte, com aproximadamente 1.802.525 habitantes (Censo IBGE 2010). A média do índice de infestação predial (IIP) de *Ae. aegypti* da Cidade Nova foi de 3,5 em janeiro de 2009 (FVS-AM), considerada alarmante, de acordo com o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) (MS/SVS 2009a). O bairro é predominantemente residencial, a maior parte das ruas são asfaltadas, com casas de madeira ou tijolos, geralmente, dotadas de quintal ou/e varanda e saneamento de águas regular. Os seis conglomerados de estudo, constituídos por áreas com 104 – 151 casas (média de 130 casas), foram escolhidos dentro do bairro. No total, a área de estudo incluiu 776 residências. Todos os conglomerados selecionados tem uma distância mínima de 250 m entre si, a fim de se evitar a dispersão de mosquitos entre as áreas.

II.3.2 Monitoramento do vetor adulto

Os levantamentos entomológicos nos seis conglomerados foram realizados a cada quinze dias, utilizando armadilhas BG-Sentinel (BGS, Biogents SA, Regensburg, Alemanha). O monitoramento pré-intervenção foi iniciado em dezembro de 2008, dois meses antes do início da intervenção. O monitoramento foi continuado ao longo de todos os 17 meses do experimento (de fevereiro 2009 até junho 2010).

As armadilhas foram instaladas nas áreas peri-domiciliares de quatro casas aleatoriamente selecionadas, no centro de cada um dos seis conglomerados (Figura II.1). As posições das armadilhas foram modificadas em todos os ciclos de monitoramento. A instalação das armadilhas ocorreu em todos os conglomerados no mesmo dia entre 8:00 e 10:00 horas da manhã e a sua remoção foi realizada após 24 horas de coleta.

Os sacos coletores de mosquitos etiquetados foram enviadas para o Laboratório Entomológico na Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), em Manaus, para triagem, contabilização, sexagem e identificação dos insetos capturados (em nível de espécie para vetores da dengue e gênero para os outros mosquitos), de acordo com a chave de identificação de Consoli & Lourenço-de-Oliveira (1994).

Os abdomens das *Ae. aegypti* fêmeas foram removidos e dissecados para a determinação da paridade, classificando os espécimes como nulíparas (extremidades das traqueíolas ovarianas enroladas), paridas (extremidades das traqueíolas ovarianas esticadas) ou grávidas (Christopher estágio de desenvolvimento ovariano > II), utilizando a técnica de traqueação ovariana (Detinova 1960).

Depois de dois meses de coleta pré-intervenção, conglomerados com densidades populacionais de mosquitos semelhantes foram pareados e, em cada um dos três pares, uma área foi, aleatoriamente, escolhida (lançamento de moeda) para receber o tratamento de coleta massal com MQTs.

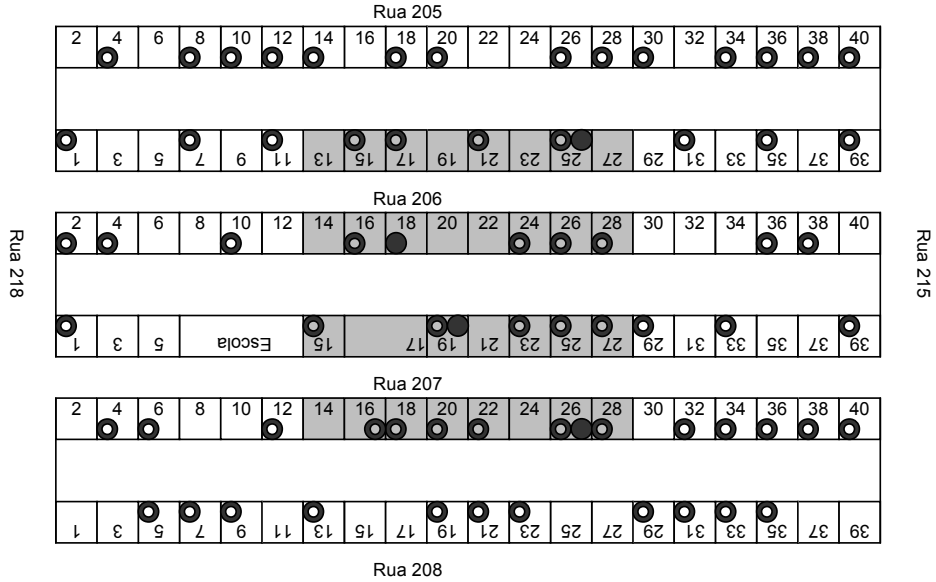


Figura II.1. Esquematização de uma área de intervenção em Manaus. As casas em cinza foram utilizadas para o monitoramento com BGS. Os círculos preenchidos representam BGSs de monitoramento e os não preenchidos representam três MQT de intervenção.

II.3.3 Questionários

Três meses antes do início do experimento, um folheto informativo sobre o estudo foi distribuído nas residências da área experimental (Anexo I). Posteriormente, entre os dias 03/11 e 15/12/2008, três agentes de campo treinados visitaram as residências, para o preenchimento de um questionário (Anexo II) por meio de entrevista, objetivando o levantamento de dados como sexo, idade, escolaridade, hábitos de vida, situação de trabalho, nível de conhecimento sobre a dengue, bem como a utilização de medidas de proteção contra a doença. No total, 519 moradores participaram nesse primeiro levantamento, 264 dos conglomerados de controle e 255 dos de intervenção.

Um segundo questionário (Anexo III) foi aplicado aos moradores das residências que concordaram em receber MQTs, para coleta massal. O questionário foi aplicado na forma de entrevista direta, depois da retirada das armadilhas, em julho de 2010. O questionário, respondido por 127 moradores, teve como objetivo identificar problemas, aperfeiçoamentos sugeridos, satisfação e indicadores subjetivos do valor monetário das MQTs.

II.3.4 Coleta massal com armadilhas MosquiTRAP

As MQTs para a coleta massal foram distribuídas, após o monitoramento pré-intervenção, em todas as casas dos três conglomerados de intervenção, nas quais os moradores concordaram em participar do projeto (206 de 403 casas correspondendo a 51,1%) e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo IV). Três MQTs por casa foram instaladas, de preferência na área peri-doméstica, protegidas do sol direto e chuvas fortes, em altura máxima de 1,5 m acima do nível de solo.

As residências participantes foram vistoriadas quinzenalmente por agentes de campo treinados. Durante as inspeções das armadilhas, os mosquitos capturados nas três MQTs foram contados, identificados e sexados, com auxílio de uma lupa. Os dados obtidos foram digitados em um telefone celular com aplicativo específico e enviados para um banco de dados da Ecovec SA (Belo Horizonte, Brasil), com a soma dos mosquitos capturados em todas as três armadilhas de cada residência. Desta forma, não foram considerados os dados das armadilhas individuais. Os cartões adesivos foram substituídos a cada 8-10 semanas, ou antes quando necessário, dependendo das suas condições. O AtrAedes foi substituído a cada seis semanas. Em cada vistoria, após a substituição da água na parte inferior de cada armadilha, uma gota de uma cultura de *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, Bti (BT-horus SC®) foi adicionada à água, para evitar o desenvolvimento de larvas. As armadilhas para

coleta massal permaneceram nas residências por 17 meses, de fevereiro 2009 até junho 2010.

Os conglomerados controle não receberam armadilhas *dummy*, desta forma, o estudo não pode ser considerado cego.

II.3.5 Pesquisa de anticorpos

Durante os dois últimos meses da intervenção (maio e junho de 2010), amostras de sangue dos moradores das seis áreas foram coletadas em papel de filtro esterilizado, conforme explicado no Capítulo I.3.5 e em Degener et al. (2014).

As amostras de sangue foram coletados de 340 habitantes (191, nos conglomerados de intervenção e 149, nos conglomerados de controle). Os participantes tiveram uma idade média (± desvio padrão, DP) de 36,8 ± 18,6 e 31,3 ± 20,1 anos, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente.

II.3.6 Desenho experimental

O desenho experimental foi de conglomerados randomizados controlados com três conglomerados de intervenção (coleta massal com MQTs) e três conglomerados de controle (sem tratamento).

O efeito da coleta massal com MQTs foi avaliado, tendo-se em consideração a quantidade de *Ae. aegypti* fêmeas capturada com BGSs, durante o monitoramento bissemanal. As taxas de paridade e a frequência de habitantes soropositivos (IgM para DENV) foram paralelamente investigadas. Ademais, os participantes do estudo foram entrevistados para avaliação das atitudes em relação ao uso das MQTs.

II.3.7 Análise dos dados

O resultado das capturas de *Ae. aegypti* fêmeas, obtidas pelas BGSs de monitoramento, foi utilizado para a avaliação do efeito de supressão na população de mosquitos, promovido pela coleta massal com MQTs. As capturas de cada conglomerado foram somadas e divididas pelo número de armadilhas utilizadas para o monitoramento, a cada semana. Desta forma, houve um ponto de dados (média de *Ae. aegypti* fêmeas) para cada um dos seis conglomerados, a cada duas semanas. Para o ajuste dos modelos estatísticos, a média de mosquitos capturados por conglomerado a cada semana foi $\log_{10}(x+1)$-transformado, para obtenção de uma distribuição gaussiana (Zar 2010).

Em uma das três áreas de coleta massal, as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas aumentaram consideravelmente após o período pré-intervenção, de forma que as capturas médias semanais em todo o período de pós-intervenção nesse conglomerado foram entre 8,3 e 38,9 vezes maiores, em comparação com as médias semanais dos outros cinco conglomerados. Como esse conglomerado foi considerado *outlier*, as análises dos dados foram realizadas para todos os três pares de conglomerados e para os dois pares de conglomerados, que não incluíram o par com o conglomerado *outlier*.

As seis séries temporais das capturas quinzenais de todos os três pares de conglomerados foram analisadas, utilizando-se modelos mistos. Em todos os modelos mistos, a variável *conglomerado* foi incluída como efeito aleatório, considerando o agrupamento dos dados. O primeiro modelo, com objetivo de analisar a tendência média da infestação de mosquitos em áreas de coleta massal e de controle, foi um modelo generalizado aditivo misto (GAMM, *Generalized Additive Mixed Model*) para o período inteiro do estudo (pré-intervenção e intervenção). Neste modelo, uma função de suavização foi incluída separadamente para cada tipo de área, para captura do efeito não-linear do tempo (variável *semana*), na abundância dos mosquitos nas áreas de coleta massal e controle.

O modelo adotou a seguinte fórmula:

$$(1)\ Y_{hi} = \alpha + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$$

Onde Y_{hi} é a média de *Ae. aegypti* fêmeas (log-transformado) por *conglomerado h* (h=1,...6), no ponto de tempo *i* (i=1,...,41); α é o intercepto; $f_{Th}(i)$ é o efeito suavizado não-linear do tempo para cada tipo de *tratamento* T_h (T_h = 0 para os conglomerados de controle, T_h = 1 para os conglomerados de coleta massal), a_h e ε_{hi} são o intercepto aleatório e o erro residual, com os seguintes distribuições respectivas: $a_h \sim N(0,\tau^2)$ e $\varepsilon_{hi} \sim N(0, \sigma^2)$.

As diferenças entre conglomerados de coleta massal e controle, durante o monitoramento pré-intervenção, foram testadas com um Modelo Linear de Efeitos Mistos (LME, *Linear Mixed Effect model*), com o fator fixo *tratamento* e com *conglomerado* como aleatório:

$$(2)\ Y_{hi} = \alpha + \beta T_h + a_h + \varepsilon_{hi}$$

Os índices *h* e *i* correspondem ao anteriormente explicado na equação (1). T_h é uma variável *dummy* (*tratamento*), indicando se o conglomerado foi de controle (T_h = 0) ou intervenção (T_h = 1), β é o efeito fixo da coleta massal.

O efeito da coleta massal, no período de intervenção, foi investigado com o seguinte modelo GAMM:

$$(3)\ Y_{hi} = \alpha + \beta_1 \cdot T_h + \beta_2 \cdot P_h + \beta_3 \cdot T_h \cdot P_h + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$$

Onde $P_{h,}$ é o número médio de fêmeas capturadas durante o período pré-intervenção em cada *conglomerado h*, $\log_{10}(x+1)$–transformado e centralizado (*Clogpré*). Essa variável foi incluída no modelo para considerar as diferenças de fêmeas capturadas nos seis conglomerados, no período pré-intervenção. Os β's são os efeitos fixos da intervenção de coleta massal (β_1), da densidade de mosquitos no período pré-intervenção (β_2) e a interação das duas (β_3).

Como o modelo (1) apontou que a abundância das *Ae. aegypti* fêmeas variou com o tempo, modelos GAMM adicionais foram ajustados, considerando separadamente os três períodos do estudo: semanas 1 a 22 (primeira estação chuvosa), 23 a 42 (estação de seca) e 43 a 73 (segunda estação chuvosa). Plotagens diagnósticas foram geradas para avaliar a adequação dos modelos.

As quatro séries temporais do banco de dado reduzido (sem o par do conglomerado *outlier*) foram analisadas com os mesmos três modelos acima mencionados, porém sem inclusão da variável *conglomerado* como efeito aleatório. Desta forma, modelos generalizados aditivos (GAM, *Generalized Additive Models*) foram utilizados em vez dos modelos GAMM nas fórmulas (1) e (3) e o modelo LME da fórmula (2) foi substituído por um modelo linear. Os modelos mistos foram também ajustados mas, como nestes a variância estimada entre os conglomerados foi próxima a zero, a inclusão do intercepto aleatório não se justificou.

As diferenças de resultados binários do primeiro questionário entre as áreas de coleta massal e controle foram modeladas, utilizando modelos logísticos mistos (LMM, *Logistic Mixed Models*) com a variável *tratamento* (T_h), como efeito fixo e a variável *conglomerado* (*h*), como efeito aleatório.

O teste de Fisher foi aplicado para comparação das frequências de pessoas soropositivas (presença de anticorpos IgM para DENV) nas áreas de intervenção e controle, e para comparação das taxas de paridade dos mosquitos, nos quatros períodos do estudo. Esse teste, que não leva em consideração o desenho de conglomerados, foi adotado em função da baixa frequência de soropositividade e de mosquitos nulíparas.

Todas as análises foram efetivadas, utilizando-se o programa R versão R 2.12.1 (R development core team 2010). Os modelos GAMM, GAM, LME e LMM foram implementados, usando as bibliotecas mgcv (Wood 2012), nlme (Pinheiro et al. 2010) e lme4 (Bates 2011).

II.3.8 Avaliação da Comissão de Ética

O estudo foi aprovado pela Comissão Ética da Fundação de Medicina Tropical de Amazonas (FMT-AM) (certificado de apresentação para apreciação ética - CAAE: 0013.0.114.00-08). Um morador adulto representante de cada casa, que recebeu armadilhas para coleta massal ou participou no estudo de anticorpos, assinou um termo de consentimento livre e esclarecido.

II.4 Resultados

II.4.1 Primeiro Questionário

O primeiro questionário foi respondido por 518 pessoas, 66,4% do sexo feminino. Os resultados do questionário sobre a experiência e o conhecimento, em relação à dengue, estão resumidos na Tabela II.1.

As comparações entre os conglomerados de coleta massal e controle estão apresentados na Tabela II.2. A idade média dos participantes (± desvio padrão, DP) foi de 41,9 (± 13,7) e 39,5 (± 15,1) anos, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente. O número médio (± DP) de moradores nas casas foi 4,7 (± 2,0) nas áreas de intervenção e 4,6 (±1,8), nas de controle. As comparações entre os grupos indicaram diferenças significativas nas categorias "solidariedade na vizinhança" (se for necessário, as pessoas na minha vizinhança podem juntas ajudar na luta contra problemas comuns), "familiaridade na vizinhança" (as pessoas da minha vizinhança se conhecem muito bem), e "dengue conscientização da comunidade" (comumente se discute sobre dengue na nossa vizinhança), de forma que a familiaridade, solidariedade e conscientização sobre dengue foram maiores nas áreas de intervenção. Não houve diferenças entre as outras variáveis (educação, equipamento das moradias, aplicação de medidas de controle), antes do começo da intervenção (Tabela II.2).

Tabela II.1. Questionário I. Experiência e conhecimento sobre a dengue nas seis áreas de estudo na Cidade Nova, Manaus, novembro e dezembro de 2008. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas que responderam em cada categoria de resposta.)

Questões	**n**	**%**
Você já ouviu falar sobre a febre de dengue? (N=515)		
sim	512	99,2
não	3	0
Você ouviu falar sobre a febre hemorrágica de dengue? (N=516)		
sim	509	98,6
não	7	1,4
Você ou algum membro da família já teve dengue? (N=516)		
sim	306	59,3
não	210	40,7
A doença foi diagnosticada pelo médico? (N=412)		
sim	246	59,7
não	166	40,3
Você ouviu falar sobre um caso fatal de dengue em Manaus? (N=513)		
sim	364	71,0
não	149	29,0
Você (ou algum membro da família) aplicou recentemente uma medida contra		
sim	443	85,9
não	73	14,1
Qual membro da família é responsável para a aplicação de medidas de controle		
Mãe	351	71,8
Pai	54	11,0
Crianças	1	0,2
Outros e combinações das respostas acima	83	17,0

Tabela II.2. Primeiro questionário. Comparações entre os dois grupos (coleta massal com MQTs e controle) antes do início da coleta massal, novembro e dezembro de 2008 em Manaus, AM. (N: número de pessoas que responderam à pergunta; n: número de pessoas, que concordaram em cada categória de resposta.)

	Coleta massal			**Controle**			
Variáveis	Média	DP	N	Média	DP	N	
Idade	41,9	13,7	253	39,5	15,1	264	
Número de moradores na casa	4,7	2,0	251	4,6	1,8	264	
Variáveis binomiais	n	%	N	n	%	N	p
Educação (acima do ensino primário)	160	63,7	251	176	66,7	264	0,85
Equipamento da casa (ar condicionado)	129	52,2	247	132	50,2	263	0,99
Aplicação de medidas de controle	228	90,1	253	215	81,7	263	0,21
Solidariedade na vizinhança[1]	197	99,5	198	179	86,9	206	<0,001
Familiaridade na vizinhança[2]	185	96,4	192	161	89,0	181	0,009
Dengue - conscientização da comunidade[3]	172	92,5	186	139	79,8	174	0,019

Os participantes foram questionados se concordam com as afirmações:

[1] "se for necessário, as pessoas em minha vizinhança podem juntas ajudar na luta contra problemas comuns".

[2] "as pessoas da minha vizinhança se conhecem muito bem".

[3] "comumente se discute sobre dengue na nossa vizinhança".

II.4.2 Participação no Estudo

Do total de 403 residências nas três áreas de intervenção, os moradores de 206 (51,1%) concordaram em participar no estudo. A cobertura de armadilhas nos três conglomerados tratados variou entre 47 e 54%.

Durante do estudo, o percentual de casas com armadilhas aumentou, de modo que no final, 212 casas (53%) estavam usando MQTs (3 por casa) para coleta massal. Apenas 5 casas pediram para sair do estudo, porém 11, que inicialmente não participaram, foram incluídas ao longo do experimento.

II.4.3 Total de mosquitos capturados em armadilhas de intervenção

Ao longo dos 17 meses do estudo, as MQTs capturaram 31.941 culicídeos, sendo 9.747 (30,5%) fêmeas e 886 (2,8%) machos de *Ae. aegypti*, e 233 (0,7%) fêmeas e 52 (0,007%) machos de *Ae. albopictus*. O gênero mais capturado foi o *Culex*, com uma coleta total de 15.162 (47,5%) fêmeas e 5.861 (18,3%) machos. As três MQTs, instaladas na mesma residência, capturaram em média (± DP); 1,4 (± 2,1) *Ae. aegypti* fêmeas a cada duas semanas, o que correspondeu à captura de 0,1 indivíduos ao dia. Desta forma, as capturas médias por armadilha foram de 0,46 e 0,033 *Ae. aegypti* fêmeas, a cada duas semanas e em 24h, respectivamente.

Tabela II.3. Resumo dos mosquitos capturados (soma, média, desvio padrão DP e máximo), em MosquiTRAPs (Número de observações = 7118), nos três conglomerados de intervenção em Manaus, AM, por período de coleta de duas semanas. Todos os valores são baseados nos dados totais de três armadilhas, instaladas em cada casa participante.

	Ae. aegypti **fêmeas**	***Ae. aegypti*** **machos**	***Ae. albopictus*** **fêmeas**	***Ae. albopictus*** **machos**	***Culex sp.*** **fêmeas**	***Culex sp.*** **machos**
Soma	9747	886	233	52	15162	5861
Média	1,4	0,12	0,03	0,007	2,13	0,82
DP	2,1	0,54	0,23	0,15	3,27	2,14
Máximo	30	8	5	9	111	26

II.4.4 Monitoramento entomológico

No período de monitoramento pré-intervenção (semanas -8 a 0), as armadilhas BGS de monitoramento capturaram, em média (±DP) 1,05 (± 0,93) e 1,63 (±1,62) *Ae. aegypti* fêmeas, nos conglomerados de intervenção e controle, respectivamente (Tabela II.4). Não houve diferença significativa entre as capturas nos dois tipos de áreas (Tabela II.5).

Os resultados demonstraram que as capturas nas áreas tratadas foram maiores em comparação com as controle, em todos os três períodos, após o início da intervenção de coleta massal (Figura II.2a).

As capturas de *Ae. aegypti* do conglomerado de coleta massal do par 3 aumentaram consideravelmente a partir do início da intervenção, enquanto as capturas no conglomerado controle do mesmo par diminuíram (Tabela II.4). A análise da série temporal evidenciou que as capturas desse conglomerado apresentaram valores atípicos na maioria dos pontos de dados. O conglomerado de intervenção do par 3 foi então considerado *outlier*.

Quando considerados apenas os pares 1 e 2, a abundância dos mosquitos permaneceu maior nos conglomerados de coleta massal, na maior parte do estudo (Figura II.2b).

As Figuras II.3a e II.3b mostram o efeito suavizado do tempo, na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas*,* nos dois tipos de áreas, durante todo o período de estudo, em todos os três pares (a) e nos pares 1 e 2 (b). As duas figuras indicam um declínio da abundância de mosquitos nas áreas controle, representando a flutuação natural da população de mosquitos. Nos conglomerados de coleta massal, a abundância oscilou de maneira que dois picos foram observados: um na primeira estação de chuva e outro no final da estação seca e início da segunda estação chuvosa.

Considerando todos os dados no período pós-intervenção (semanas 1 a 73), o modelo para todos os pares de conglomerados, controlado pelo *Clogpré* e a interação entre *Clogpré* e *tratamento* indicou que houve significativamente mais fêmeas de *Ae. aegypti* nas áreas de coleta massal (p = 0,008), com em média 1,15 (± 0,33) indivíduos a mais capturados (transformação reversa do efeito ± erro padrão; Tabela II.5). O mesmo modelo para os pares 1 e 2 também apontou que houve significativamente mais mosquitos nas áreas tratadas, porém com um efeito menor (em média 0,29 ± 0,07 fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas, a mais) (Tabela II.5).

Na primeira estação de chuva, sem considerar o par com o *outlier*, a média de fêmeas capturadas aumentou de 0,92 para 1,53 (aumento de 65%), nas áreas de coleta massal com MQTs, enquanto nas de controle, houve um discreto declínio da média, de 1,29 para 1,08

(redução de 16%) (Tabela II.1). O efeito da variável *tratamento* não foi significativo (p = 0,141), comprovado pelo modelo GAM ajustado para esse período, controlado pelo *Clogpré* e a interação entre *Clogpré* e *tratamento*. O modelo estimou uma diferença da abundância de *Ae. aegypti*, nos dois tipos de conglomerados de, em média, 0,20 ± 0,13 fêmeas (transformação reversa do efeito ± erro padrão). Na época de seca, houve uma diminuição das capturas médias de *Ae. aegypti*, nos dois tipos de áreas. Nos dois conglomerados de coleta massal, as capturas diminuíram de 1,53 para 0,79 (-48%) fêmeas, enquanto nas áreas controle houve uma redução de 1,08 para 0,35 (-68%) (Tabela II.4). Neste período, o *tratamento* foi uma variável significativa no modelo GAM (p = 0,01), indicando que houve significativamente mais fêmeas de *Ae. aegypti* (0,34 ± 0,11), nas áreas de coleta massal. Nas últimas 30 semanas chuvosas do experimento, as médias de captura diminuíram nas áreas de coleta massal para 0,65 fêmeas por armadilha (-18%), Nas áreas de controle, as capturas diminuíram em 49%, para um valor médio de 0,18 fêmeas. O modelo GAM apontou *tratamento* como variável explicadora significativa (p = 0,003) e estimou que houve, em média, 0,33 ± 0,096 fêmeas a mais, nas áreas de coleta massal.

Em suma, os resultados indicam que a coleta massal com três MQTs por casa não promoveu efeito positivo sobre a população de *Ae. aegypti* adultos, em Manaus.

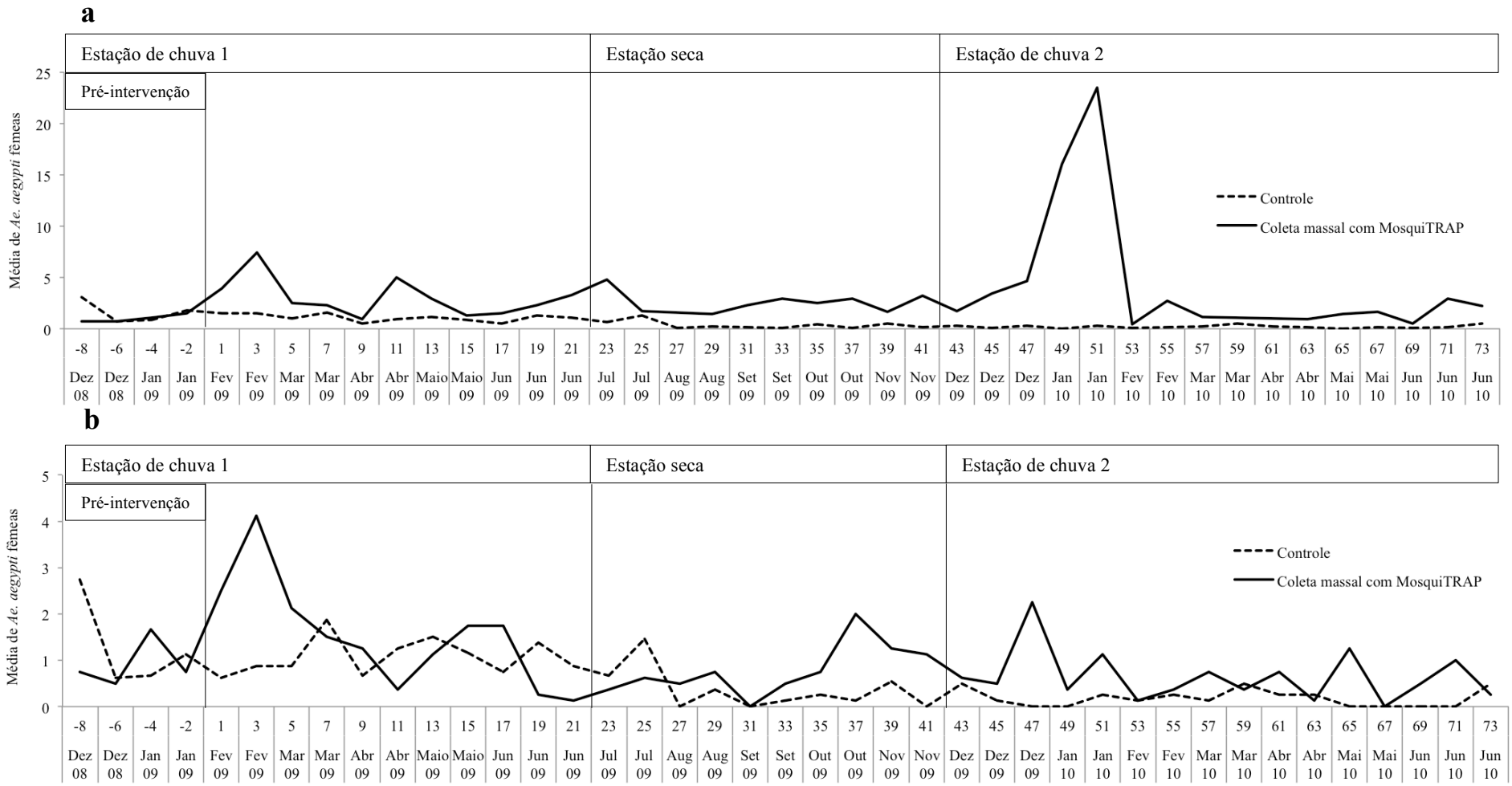


Figura II.2. Monitoramento com armadilhas BGS: média de captura de *Ae. aegypti* fêmeas nas áreas de controle (linha tracejada) e médias das áreas de intervenção (linha sólida) entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. a) Média de todos os três pares b) Média dos pares 1 e 2. Observe-se que no gráfico a, a média (eixo y) varia de 0 – 25, e no gráfico b de 0 – 5.

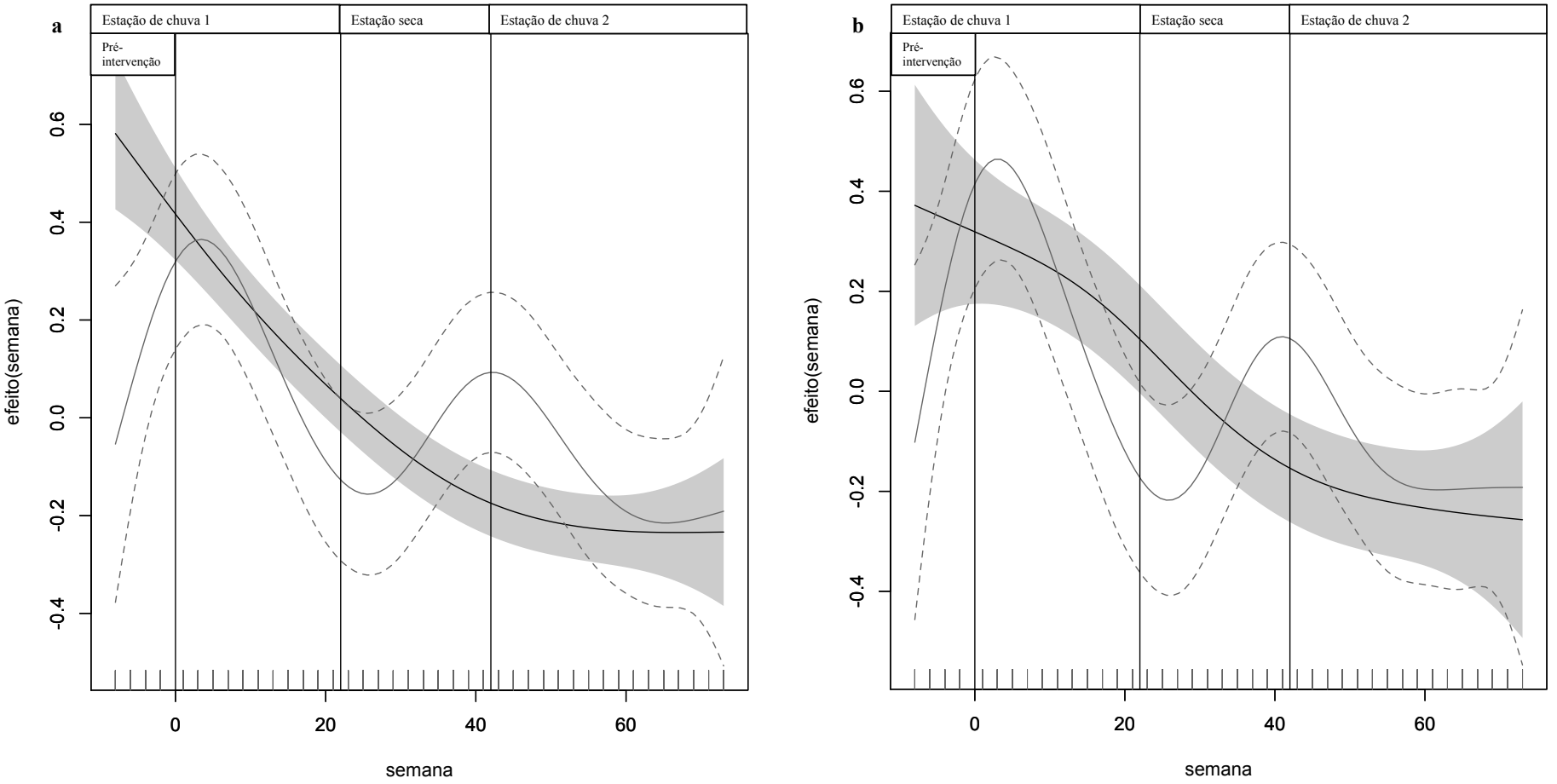


Figura II.3: Efeito estimado do tempo na abundância de *Ae. aegypti* fêmeas em áreas de coleta massal e de controle entre dezembro de 2008 e junho de 2010 em Manaus, AM. Linhas pretas: áreas de controle. Linhas cinzas: áreas de coleta massal. As áreas sombreadas e as linhas tracejadas indicam os intervalos de confiança de 95%, em áreas de controle e áreas tratadas, respectivamente. a) Modelo GAMM para todos os pares b) Modelo GAM para os pares 1 e 2.

Tabela II.4. Média (± desvio padrão, DP) de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em BGSs de monitoramento: comparação entre áreas de intervenção e controle, nos quatro períodos do estudo, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM. A média total é apresentada para todos os três pares e para os pares 1 e 2.

	Semanas -8-0		**Semanas 1-22**		**Semanas 23-42**		**Semanas 43-73**	
	Pré-intervenção		**Estação de chuva 1**		**Estação seca**		**Estação de chuva 2**	
Par	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**	**Intervenção**	**Controle**
1	0,58 (0,59)	0,69 (0,77)	1,57 (1,23)	1,66 (0,97)	0,78 (0,57)	0,50 (0,71)	0,70 (0,83)	0,34 (0,38)
2	1,25 (0,74)	1,90 (2,27)	1,50 (1,33)	0,49 (0,40)	0,80 (0,30)	0,21 (0,30)	0,59 (0,56)	0,02 (0,06)
3*	1,42 (1,51)	2,31 (1,39)	6,08 (4,96)	1,13 (1,06)	5,96 (3,32)	0,40 (0,35)	10,98 (18,91)	0,26 (0,29)
Total								
Pares 1, 2 e 3	**1,05 (0,93)**	**1,63 (1,62)**	**3,05 (0,74)**	**1,09 (0,96)**	**2,51 (3,13)**	**0,37 (0,49)**	**4,09 (11,78)**	**0,21 (0,30)**
Pares 1 e 2	**0,92 (0,71)**	**1,29 (1,70)**	**1,53 (1,25)**	**1,08 (0,94)**	**0,79 (0,59)**	**0,35 (0,55)**	**0,65 (0,70)**	**0,18 (0,31)**

*O conglomerado de intervenção do par 3 foi considerado *outlier*

Tabela II.5. Resultados dos modelos utilizados para os diferentes períodos para análise da variação do número médio de *Ae. aegypti* fêmeas (transformado em $\log_{10}(x+1)$), capturado com BGSs, em todos os pares e nos pares 1 e 2, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM, no experimento de coleta massal com MQTs.

Pares	Período	Modelo	Variável	Efeito	EP	P
1 - 3	Todos os dados	$Y_{hi} = \alpha + f_{Th}(i) + a_h + \varepsilon_{hi}$	*coleta massal|semana*	suavizado		<0,001
	(semanas -8-73)		*controle|semana*	suavizado		<0,001
1 - 3	Pré-intervenção (semanas -8-0)	$Y_{hi} = \alpha + \beta T_h + a_h + \varepsilon_{hi}$	*tratamento*	-0,189	0,235	0,466
1 - 3	Intervenção	$Y_{hi}=\alpha+\beta_1 \cdot T_h+\beta_2 \cdot P_h+\beta_3 \cdot T_h \cdot P_{h+}f_{Th}(i)+a_h+\varepsilon_{hi}$	*tratamento*	0,766	0,288	0,008
	(semanas 1-73)		*Clogpré*	-0,276	0,616	0,655
			tratamento:Clogpré	2,046	1,169	0,082
			coleta massal|semana	suavizado		<0,001
			controle|semana	suavizado		<0,001
1 - 2	Todos os dados	$Y_{hi} = \alpha + f_{Th}(i) + \varepsilon_{hi}$	*coleta massal|semana*	suavizado		<0,001
	(semanas -8-73)		*controle|semana*	suavizado		<0,001
1 - 2	Pré-intervenção (semanas -8-0)	$Y_{hi} = \alpha + \beta T_h + \varepsilon_{hi}$	*tratamento*	-0,076	0,246	0,763
1 - 2	Intervenção	$Y_{hi}=\alpha+\beta_1 \cdot T_h+\beta_2 \cdot P_h+\beta_3 \cdot T_h \cdot P_{h+}f_{Th}(i)+\varepsilon_{hi}$	*tratamento*	0,257	0,065	<0,001
	(semanas 1-73)		*Clogpré*	-0,58	0,136	<0,001
			tratamento:Clogpré	0,513	0,249	<0,001
			coleta massal|semana	suavizado		<0,001
			controle|semana	suavizado		<0,001

II.4.5 Estudo de paridade

A paridade foi determinada para 1630 mosquitos (91,1%) do total de 1789 *Ae. aegypti* fêmeas, capturadas por BGSs de monitoramento. Considerando somente o período pós-intervenção, foram capturadas predominantemente fêmeas em fases avançadas do ciclo de desenvolvimento ovariano, com 72,7% e 62,8%, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente. As fêmeas paridas foram observadas com menor frequência, em 21,9% e 33,9% das capturadas, nas áreas de coleta massal e controle, respectivamente. Somente 5,3% e 3,2% das fêmeas foram categorizadas como nulíparas, nas áreas tratadas e não-tratadas, respectivamente.

A taxa de paridade, que considera somente fêmeas nulíparas e paridas, não diferiu nos dois tipos de áreas no período pré-intervenção, e em todos os três períodos dos 17 meses de intervenção ($p > 0,05$) e também quando apenas os pares de conglomerados 1 e 2 foram considerados (Tabela II.6).

Tabela II.6. Estudo de paridade nos quatro períodos do experimento para todos os pares e para os pares 1 e 2 de conglomerados: comparação entre áreas de coleta massal com MQTs e de controle, entre dezembro de 2008 e junho de 2010, em Manaus, AM.

	Intervenção (MQT)				**Controle**				
	Estado fisiológico (%)*			Taxa de paridade	Estado fisiológico (%)*			Taxa de paridade	Teste de Fisher
Período	Nulíparas	Paridas	Estados avançados	%§	Nulíparas	Paridas	Estados avançados	%§	p
Todos os pares									
pré-intervenção	5 (12,2)	11 (26,8)	25 (61,0)	68,8	4 (5,7)	25 (35,7)	41 (58,6)	86,2	0,25
semanas 1-22	18 (4,8)	94 (24,9)	265 (70,3)	83,9	4 (3,1)	47 (36,4)	78 (60,5)	92,2	0,22
semanas 23-42	0 (0,0)	85 (40,3)	126 (59,7)	100	0 (0,0)	13 (40,6)	19 (59,4)	100	1
semanas 43-73	49 (5,9)	107 (12,8)	681 (81,4)	68,6	1 (2,2)	9 (19,6)	36 (78,3)	90	0,29
Pares 1 e 2									
pré-intervenção	5 (20,8)	6 (25)	13 (54,2)	54,5	1 (2,8)	13 (36,1)	22 (61,1)	92,9	0,056
semanas 1-22	3 (2,3)	34 (25,8)	95 (71,9)	91,9	2 (2,4)	32 (37,6)	51 (60)	94,1	1
semanas 23-42	0 (0)	16 (34,8)	30 (65,2)	100	0 (0)	10 (43,5)	13 (56,5)	100	1
semanas 43-73	2 (2)	10 (10)	88 (88)	83,3	1 (3,7)	4 (14,8)	22 (81,5)	80	1

II.4.6 Pesquisa de anticorpos IgM para DENV

A presença de IgM anti-DENV foi pesquisada em moradores dos seis conglomerados. No total, 340 amostras de sangue foram coletadas, sendo 191 nas áreas de intervenção e 149,

nas de controle. Entre as 191 amostras dos três conglomerados de intervenção, 176 se originaram de participantes que moravam em casas com MQTs para coleta massal, enquanto as amostras de 15 pessoas foram coletadas em casas sem armadilhas de intervenção.

Poucas pessoas soropositivas para dengue (IgM) foram identificadas (Tabela II.7). Nas áreas de intervenção, dois moradores (1,15%) de casas com MQTs foram positivos. Nenhum dos 15 participantes, que moravam na área de coleta mas em residências sem MQTs de intervenção, apresentou soropositividade.

A comparação da probabilidade das frequências de soropositividade de IgM para o DENV entre casas com e sem MQTs de intervenção, nos conglomerados de coleta massal, mostrou que o uso das armadilhas não afetou essa variável (teste exato de Fisher, p = 1; OR = 0).

Quando se comparou o número de soropositivos das casas tratadas dos conglomerados de coleta massal com os casos das áreas de controle, também foi observado que a coleta massal não afetou a probabilidade da frequência da soropositividade (teste exato de Fisher, p = 1; OR = 1,7).

Como os dados de monitoramento entomológico apontaram que a infestação de mosquitos no conglomerados de intervenção do par 3 foi muito superior, comparada com os outros, os resultados da pesquisa de anticorpos foram também avaliados separadamente para os pares 1 e 2. A porcentagem da pessoas positivas foi um pouco menor nas casas tratadas com coleta massal, em relação às das áreas controle (0,78 e 0,85%, respectivamente), porém sem significância estatística (teste exato de Fisher, p = 1; OR = 1,08). Desta forma, não há evidência de que a coleta massal afetou a frequência de casos de dengue, na população estudada.

Tabela II.7. Pesquisa de anticorpos: frequência de moradores soropositivos e soronegativos nas áreas de intervenção com MQTs e nas áreas controle, em maio e junho de 2013, em Manaus, AM, para todos os três pares de áreas e para os pares 1 e 2.

Pares	Área	Tipo de casa	N	N positivo	% positivo
Todos os pares	*Intervenção*				
		com MQTs	176	2	1,15
		sem MQTs	15	0	0
		total	191	2	1,05
	Controle		149	1	0,67
Pares 1 e 2	*Intervenção*				
		com MQTs	128	1	0,78
		sem MQTs	10	0	0
		total	138	1	0,72
	Controle		118	1	0,85

II.4.7 Segundo Questionário

A grande maioria dos participantes afirmou que as MQTs reduziram notavelmente a densidade populacional dos mosquitos nas casas (86,4%) e, consequentemente, o incômodo causado por estes (86,9%). Setenta por cento dos participantes ficaram menos preocupados com a dengue e 40,8% se sentiram mais protegidos contra a doença, quando usavam as armadilhas.

A maior parte dos usuários estavam satisfeitos com a utilização da armadilha (89,6%), 95,3% relataram que estavam confortáveis com seu uso. Dos cinco usuários que se manifestaram sobre inconveniências, um especificou que as vistorias causavam incômodo, enquanto os outros quatro participantes não esclareceram os desconfortos alegados. Quase todos entrevistados (93,3%) gostariam continuar a usar as MQTs, após a conclusão do projeto. Quando questionados sobre a aquisição da armadilha, 74,8% manifestaram que baseariam a sua decisão no preço, enquanto 17,9% declararam o desejo, independente do custo. O preço médio da armadilha foi estimado em R$ 69,90 (± DP = 54,2) e o valor médio avaliado como mais alto, aceitável para a compra, foi de R$ 53,00 (± DP = 19,9).

II.5 Discussão

A análise das respostas do primeiro questionário revelou que a grande maioria dos habitantes na área de estudo estavam informados sobre a dengue e a FHD e cerca de 60% das famílias já tiveram um caso da doença. As pessoas estavam cientes dos riscos da doença e conheciam as medidas de prevenção, as quais a maioria tinha aplicado, poucos dias antes da entrevista para o preenchimento do questionário. A variável "aplicação de medidas de controle" representa uma variável importante que pode influenciar os resultados do estudo. A porcentagem das residências, cujos moradores relataram ter efetuado algum tipo de controle da dengue em casa, foi um pouco maior nos conglomerados de intervenção do que nos de controle. A diferença, contudo, não foi significativa. Não houve diferenças entre os níveis de educação dos dois grupos e no item "equipamento da casa", uma variável que reflete o nível socioeconômico das famílias. Houve significativamente mais "solidariedade na vizinhança", "familiaridade na vizinhança" e "conscientização da comunidade sobre a dengue" nos conglomerados de intervenção. Não ficou muito claro, se essas diferenças afetaram de alguma forma o uso das armadilhas ou o ensejo dos moradores em participar no estudo. Como a intervenção não incluiu a participação ativa da comunidade com medidas de controle

adicionais, o risco deste viés ter ocorrido foi considerado baixo.

A grande maioria dos participantes do segundo questionário (> 86%) afirmaram que perceberam uma redução da abundância e do incômodo causado pelos mosquitos, mesmo que monitoramento nas áreas de intervenção não tenha comprovado um padrão de queda da abundância dos vetores da dengue. Um resultado semelhante foi observado na Colômbia, onde a intervenção com OLs associada com educação não levou a um efeito significativo sobre os vetores da dengue, em comparação com o tratamento de apenas educação. Nesse trabalho, 75% dos moradores das áreas com OLs afirmaram ter percebido uma diminuição da abundância de mosquitos (Ocampo 2009).

Uma porcentagem similar (89%) dos participantes do mesmo questionário, aplicado nas áreas de coleta massal com BGSs, afirmou que a intervenção diminuiu a abundância dos mosquitos (Degener et al. 2014). Neste caso, é bem provável que o efeito percebido seja devido às grandes capturas de mosquitos do gênero *Culex*, cujo incômodo ao morador é maior do que o causado pelo *Ae. aegypti*.

Mesmo que a grande maioria dos participantes tenha percebido um efeito positivo sobre a abundância dos mosquitos, apenas 41% afirmaram se sentir mais protegidos contra a dengue, refletindo talvez um certo ceticismo sobre a capacidade das armadilhas diminuírem reduzir o risco de infecção com o DENV. No experimento de coleta massal com BGSs, houve também uma discrepância entre a porcentagem de pessoas que perceberam um efeito sobre a abundância dos mosquitos e a das pessoas que se sentiram mais seguras. No entanto, na coleta massal com BGSs, 61% dos participantes se sentiram mais protegidos contra a doença (Degener et al. 2014). O custo do maior valor médio da armadilha, que os entrevistados consideraram aceitável, foi de R$ 53,00. As MQTs, entretanto, não estão no mercado para a compra, pois são disponibilizadas apenas para municípios que contratem, conjuntamente o serviço completo do sistema MI-Dengue, ou para pesquisadores profissionais. No caso, uma MQT, incluindo o AtrAedes e o cartão adesivo tem o valor atual de R$57 (Cecília Marques Toledo, Gerente de Consultoria Técnica da Ecovec, comunicação pessoal). Como não foi investigado especificamente, não ficou claro se os entrevistados estariam dispostos a adquirir mais do que uma MQT por este valor, os cartões adesivos (R$12 por unidade) e atraentes (R$10 por unidade), para substituição regular. De qualquer forma, 74,8% das pessoas entrevistadas declararam que a decisão da aquisição da armadilha seria baseada no preço.

No entanto, é importante na análise das respostas ao questionário, a consideração de possíveis vieses. Como o questionário foi aplicado na forma de entrevista, é plausível que os entrevistados tenham respondido de forma a atender às expectativas do entrevistador. Esse

risco pode ter sido favorecido pelos contatos prévios dos moradores com os entrevistadores, que também realizaram as vistorias quinzenais, como agentes de campo.

Alguns efeitos percebidos poderiam ser resultantes das expectativas geradas, em vez da eficiência da armadilha. Este importante viés de expectativa poderá ser avaliado, utilizando-se armadilhas falsas em futuros estudos como, por exemplo, MQTs sem cartão adesivo, atraente e água no seu interior.

No início do estudo, apenas 51,1% das residências aceitaram a participar no estudo, mas ao longo do período de 17 meses, o número aumentou para 53%. Isso reflita que os participantes não estavam incomodados pelo funcionamento das MQTs, durante o longo período experimental. A coleta massal com BGSs, que foi conduzida paralelamente no mesmo bairro, a taxa de participação diminuiu de 60,5% para 36%, durante os 17 meses (Degener et al. 2014). Estudos de coleta massal com OLs, no Brasil e Tailândia, descreveram a participação de 100% das residências (Perich et al. 2003; Sithiprasasna et al. 2003). Na Austrália, 71 a 75% das residências participaram em experimentos com OLs, com duração de um mês (Rapley et al. 2009). Um estudo desenvolvido no estado de São Paulo identificou aspectos que interferiam com a adesão da população nos programas de controle da dengue, rotineiramente praticados no município. Os autores identificaram a recusa como problema principal em bairros de todas as classes sociais (Chiaravalloti-Neto et al. 2007). No presente estudo, um panfleto informativo sobre o projeto foi distribuído, antes da primeira visita às casas, quando o questionário inicial foi aplicado. É possível aventar que essa forma de divulgação não tenha sido suficiente para informar os moradores adequadamente e para estimulá-los para participação no projeto.

O monitoramento entomológico indicou que a coleta massal com três MQTs por casa não reduziu a abundância de vetores da dengue. De fato, depois do início da intervenção, houve significativamente mais *Ae. aegypti* fêmeas nas áreas tratadas, em comparação com as controle, mesmo sem considerar o conglomerado *outlier*. É possível que as grávidas presas no cartão adesivo das MQTs depositem ovos, que caem diretamente na água da recipiente interno. Desta forma, o desenvolvimento de larvas no interior das MQTs é possível e, teoricamente, o desenvolvimento completo até a fase adulta pode ocorrer durante as duas semanas entre as vistorias. A presença de larvas nas MQTs, após exposição de 18 dias no campo, já foi descrita (Maciel-de-Freitas et al. 2008b). Entretanto, o uso padrão das MQTs compreende a realização de vistorias semanais, nas quais a água da parte inferior das armadilhas é substituída. Com este cuidado, não haverá tempo suficiente para o desenvolvimento de formas adultas. No presente trabalho, as vistorias foram bissemanais e

em cada uma, uma gota de cultura de *Bti* foi adicionada a água das MQTs, eliminando a possibilidade do desenvolvimento de formas adultas. A ação larvicida do *Bti* utilizado pelos agentes foi confirmada em um experimento, onde 100 larvas foram adicionadas às MQTs, 15, 30 e 45 dias, após a aplicação de uma gota deste produto nas armadilhas. Todas as larvas morreram em todos os tratamentos avaliados (Rosemary A. Roque, comunicação pessoal). Desta forma pode-se afirmar que as MQTs de intervenção não se converteram em criadouros, mesmo que os agentes de campo tenham, ocasionalmente, falhado na aplicação do larvicida biológico.

É mais provável, que o número de criadouros tenha aumentado nas áreas de coleta massal, um fator não foi avaliado no estudo. Também pode até ter ocorrido que os moradores das residências participantes tenham reduzido suas ações de controle vetorial em casa. O resultado do segundo questionário, onde 70% dos entrevistados relataram menor preocupação com a dengue desde a instalação das MQTs, reforça essa suspeita. Infelizmente, o questionário não investigou se esta reação levou à diminuição da aplicação das medidas de controle nas casas.

A captura média do total das três MQTs para coleta massal, instaladas em casas participantes, foi de 0,1 de *Ae. aegypti* fêmeas por dia. O número médio de fêmeas, retiradas por dia por casa, foi de, pelo menos, 0,26, no experimento de coleta massal com BGSs, onde houve perda de capturas por buracos nas bolsas coletoras de insetos, devido a formigas. Desta forma, uma BGS capturou, pelo menos, 2,6 vezes mais *Ae. aegypti* fêmeas do que três MQTs. Para obter taxas de capturas comparáveis às das BGSs, que reduziram significativamente a população adulta destes insetos em Manaus, na primeira estação chuvosa no decurso do experimento (Degener et al 2014), pelo menos, 8 MQTs seriam necessárias por residência.

Um trabalho conduzido no estado do Rio de Janeiro reportou um efeito significativo do uso de OLs sobre o número de criadouros positivos e o número de pupas por casa (Perich et al. 2000). Um trabalho semelhante, efetivado na Tailândia por dois anos, encontrou um efeito significativo da intervenção com OLs, no segundo ano do estudo (Sithiprasasna et al. 2003). Nesses dois trabalhos, 100% das casas nas áreas de intervenção receberam 10 OLs em todas as casas, em todos os quarteirões em direta vizinhança das áreas tratadas, também receberam 10 OLs cada. Desta maneira, neste experimento foram construídas zonas amortecedoras (barreiras - *buffer zones*) para diminuir a migração de mosquitos entre as áreas. Vale-se ressaltar que essa metodologia seria impraticável devido ao elevado número de OLs utilizados. No presente estudo, apenas a metade das casas participou, o número de armadilhas por casa foi menor e não houve barreiras de migração – fatores que podem ter contribuído

para os diferentes resultados obtidos. Ainda mais, o trabalho foi realizado em pequenas áreas, em meio a uma extensa área urbana, o que favoreceu em muito a possibilidade de migração de mosquitos de quarteirões adjacentes e não-tratados.

A ausência de um efeito do uso de OLs foi observado na Colômbia, onde três tipos de tratamento foram comparados com o controle, onde houve apenas uma campanha de educação: (1) uso de 10 OLs por casa em 100% das casas + educação; (2) uso de 10 OLs por casa em 100% das casas + *Bti* + educação; e (3) *Bti* + educação (Ocampo et al. 2009). Todas as áreas tiveram uma zona amortecedora, porém menor do que nos dois estudos antes mencionados, para reduzir a migração dos mosquitos. Não houve diferenças significativas na abundância de *Ae. aegypti* entre os quatro tratamentos e o uso das OLs em conjunto com uma campanha de educação não teve maior efeito sobre a abundância de vetores, do que a educação aplicada isoladamente (Ocampo et al. 2009).

Em relação ao estudo de paridade, como as proporções de nulíparas e paridas não diferiam entre os tratamentos, em nenhum período do experimento, concluiu-se que a intervenção não promoveu um efeito sobre a estrutura etária de *Ae. aegypti* fêmeas. Esse resultado está em concordância com os obtidos em um experimento que avaliou o efeito de OLs em associação com controle larvário, na Austrália (Rapley et al. 2009). No trabalho de coleta massal com BGSs, houve uma diminuição significativa de paridas capturadas, porém apenas na primeira estação chuvosa, período no qual um efeito significativo das armadilhas sobre a abundância de mosquitos foi observado (Degener et al. 2014).

A avaliação da variação dos títulos de IgM para o DENV na população humana foi prejudicada pela presença de apenas cinco amostras soropositivas. Ao contrário do experimento de coleta massal com BGS, onde um efeito marginal sobre o risco de infecção foi observado (Degener et al. 2014), não houve efeito da coleta massal com MQTs sobre o risco de infecção com DENV.

No presente trabalho, que avaliou pela primeira vez o uso em massa de armadilhas aderentes para controle de vetores da dengue, não foi detectado um efeito positivo. Ao contrário, estudos do mesmo tipo, com OLs no lugar das armadilhas aderentes, descreveram a diminuição significativa de indicadores entomológicos, pelo menos, em alguns períodos dos estudos (Perich et al. 2003; Sithiprasasna et al. 2003; Rapley et al. 2009). A não detecção de um efeito positivo sobre os vetores da dengue no presente trabalho pode estar associado com vários fatores como: (1) falta de barreiras amortecedoras ao redor dos conglomerados tratados e consequente migração de mosquitos de áreas adjacentes não tratadas, (2) pequeno tamanho das áreas tratadas, (3) número insuficiente de armadilhas por casa, (4) aumento da população

de mosquitos nos conglomerados de intervenção, após o monitoramento pré-intervenção, (5) baixa participação. Mais ainda, como o estudo foi realizado em um período de baixa transmissão de dengue, não foi possível analisar um efeito do método sobre a taxa de infecção com DENV, na população humana. O baixo número de conglomerados também foi considerado como outro fator limitante.

Apesar dos resultados não demonstrarem um efeito significativo na redução da população de mosquitos, foram identificados vários aspectos favoráveis para o uso de MQTs, no controle vetorial. O fato de que moradores de apenas cinco casas solicitaram a remoção das armadilhas, no decorrer de 17 meses de estudo, reflete a sua boa aceitação e também das vistorias quinzenais – aspectos fundamentais para a aplicação do método em grande escala. Como as armadilhas dispensam energia elétrica, a instalação em diversos lugares na mesma casa é relativamente fácil. Em experimentos com OLs, é impossível quantificar o número de mosquitos, capturados pelas armadilhas. As MQTs possibilitaram a quantificação e identificação rápida de todos os mosquitos capturados, uma informação muito útil para simulações do uso deste método de controle. O uso do cartão adesivo, como mecanismo para capturar os mosquitos, elimina o problema de efetividade diminuída das armadilhas, devido à contaminação fúngica. Este problema foi observado para as faixas de oviposição impregnadas com inseticida em OLs (Sithiprasasna et al. 2003). O desenvolvimento de resistência dos mosquitos para o inseticida usado também se traduz em uma desvantagem adicional do uso destes produtos (Ocampo et al. 2009). Como outro aspecto positivo, a ausência de inseticida, de energia elétrica e a não captura de insetos benéficos, fazem da MQT uma armadilha ambientalmente amigável. Porém seu uso deve ser limitado exclusivamente para o monitoramento de fêmeas de *Ae. aegypti*.

Capítulo III:

Avaliação da coleta massal com armadilhas BG-Mosquitito em uma área urbana com alta infestação de *Aedes aegypti* detectado pelo MI-Dengue, em Sete Lagoas, MG.

III.1 Resumo

O único método de monitoramento de *Aedes aegypti,* recomendado pelo PNCD e rotineiramente realizado no Brasil, é o Levantamento do Índice Rápido de *Ae. aegypti* (LIRAa), um procedimento pouco sensível, demorado e laborioso. O Monitoramento Inteligente da Dengue (MI-D) é uma tecnologia que, associando as armadilhas MosquiTRAP (MQT) para captura de fêmeas grávidas do vetor com um sistema de informações rápido, gera um banco de dados em tempo real. A armadilha BG-Mosquitito (BGM), possui um atraente com odor humano sintético e tem sido considerada uma ferramenta com potencial para o controle dos vetores da dengue. O objetivo deste trabalho foi avaliar uma nova estratégia para redução da população do vetor da dengue, por meio de coleta massal com BGMs, em uma área com alta infestação, identificada pelo MI-D. O experimento foi realizado em Sete Lagoas (MG) em duas áreas, com cerca 200 residências no mesmo bairro. Em uma das áreas, 87 BGMs foram instaladas para coleta massal, durante um período de nove semanas. A segunda área foi utilizada como controle (sem armadilhas). O monitoramento de adultos de *Ae. aegypti* foi realizado com MI-D e BGMs. Após a remoção das armadilhas, um questionário foi aplicado aos moradores da área de intervenção.

Os resultados do monitoramento com MI-D mostraram que, nos dois meses anteriores e após o período de intervenção, não houve diferença significativa entre os dados obtidos das áreas. Entretanto, durante o período de intervenção, houve um número significativamente menor de *Ae. aegypti* fêmeas na área de coleta massal, em relação à área controle e a probabilidade da positividade das armadilhas foi significativamente maior na área controle. Durante as nove semanas da coleta massal, não houve diferença entre as médias das capturas de *Ae. aegypti* fêmeas*,* com BGMs. Depois da intervenção, os dados obtidos com as BGMs apontaram um aumento significativo das capturas na área controle, enquanto não houve diferença entre o período de intervenção e pós-intervenção, na área de coleta massal. As respostas dos questionários indicaram que a maioria dos entrevistados manifestou boa aceitação em relação ao uso da armadilha, 69,5% se sentiram mais protegidos contra a dengue e 52,5% perceberam uma diminuição da quantidade de mosquitos em casa.

Os resultados sugerem que a utilização das BGMs foi aprovada pelo público e que poderiam ser utilizadas como parte de uma estratégia de controle da dengue. Apesar disso, estudos adicionais são necessários para comprovação de um efeito significativo das armadilhas e para identificação da forma mais eficiente de combinação do MI-D com a coleta massal.

Abstract

The only form of monitoring recommended by the Brazilian National Program of Dengue Control (PNCD) is the Rapid Index of *Ae. aegypti* infestation ("Levantamento do Índice Rápido de *Ae. aegypti*", LIRAa), which is based on the presence of immature forms of the vector. This method is insensitive, inexact, labor intensive and time-consuming. The Intelligent Dengue Monitoring ("Monitoramento Inteligente da Dengue", MI-D) is a monitoring system, which combines MosquiTRAPs (MQTs), which catch gravid females, with a real time databank. The adult BG-Mosquitito trap (BGM) uses a synthetic lure of human odor and is considered as a monitoring tool and as a potential tool for *Ae. aegypti* control.

The objective of this work is to evaluate a new strategy of *Ae. aegypti* control, which consists in the use of mass trapping with BGMs in an area of high vector infestation, detected by the MI-D. Two study areas with about 200 households were selected in the same neighborhood. In one of the two areas, BGMs were installed for mass trapping during 9 weeks. The second area did not receive mass trapping treatment and was considered the control area. Monitoring was conducted weekly using MQTs and BGMs. A household survey was performed in the intervention area after the end of the mass trapping intervention.

Results of MI-D monitoring suggest that during the two months before and after the intervention, there was no difference between catches of dengue vectors in the two types of areas. During the intervention however, significantly less mosquitoes were caught in the treated areas and the probability of MQTs being positive was significantly higher in the control area. BGM monitoring did not detect a difference of female *Ae. aegypti* catches between the two areas. After the intervention was discontinued, catches increased significantly in the untreated areas, whilst in the mass trapping area, catches increased only slightly. Results of the household survey suggest, that the majority of participants were satisfied with the trap. About the half of participants perceived a reduction of mosquitoes and 69,5% felt more protected against dengue, whilst they were using the trap.

The results suggest that BGMs were well accepted by the population and that they might be used as a component in dengue control programs. Nevertheless, further studies are necessary to prove a significant effect of the traps and to identify the best way of combining the MI-D with the mass trapping intervention.

III.2 Introdução

A técnica de coleta massal visa para a redução da população de um inseto por meio da sua captura com um elevado número de armadilhas, em uma determinada área (Kline 2007)**.** Esta técnica tem sido avaliada para o controle do vetor da dengue, o mosquito *Aedes aegypti* (L.), desde o início da década passada, com resultados parcialmente promissores (Ocampo et al. 2009; Perich et al. 2003; Rapley et al. 2009; Sithiprasasna et al. 2003; Degener et al. 2014). A maioria desses estudos utilizaram ovitrampas letais (OLs), armadilhas atrativas para fêmeas grávidas do *Ae. aegypti*. Na Austrália, a combinação de OLs com a aplicação de larvicidas e armadilhas BG-Sentinel (BGS), em algumas residências, resultou na redução significativa da população de mosquitos, na época de chuva (Rapley et al. 2009). Em Manaus, a BGS foi empregada para coleta massal de *Ae. aegypti,* em um experimento controlado de conglomerados randomizados, onde a redução da abundância de *Ae. aegypti* fêmeas foi observada nos períodos das chuvas. Observou-se também uma redução da taxa de soropositivos para DENV nas casas com BGSs, em relação à dos moradores sem as armadilhas (Degener et al. 2014).

Recentemente, a armadilha Biogents-Mosquitito (BGM), uma nova versão da BG-Sentinel (BGS), foi desenvolvida para o monitoramento do *Ae. aegypti*. A BGM opera com o mesmo princípio da BGS original e as principais diferenças são o exterior em formato cônico azul, embora o tecido branco e o funil permaneçam na mesma cor. A BGM foi desenvolvida visando aumentar a sua eficiência, reduzir os custos de produção e o tamanho do dispositivo desmontado, facilitando o transporte (Martin Geier, Biogents SA, comunicação pessoal). Em testes de campo para comparação entre estes modelos, em Port Louis (Maurício), Abano Terme (Itália), Riva del Garda (Itália) e Belo Horizonte (Brasil), a BGM capturou um número maior de *Ae. aegypti* ou *Aedes albopictus* (Skuse) e *Culex sp* que a BGS, porém, sem diferença significativa (Degener, dados não publicados; Englbrecht, comunicação pessoal, dados não publicados; Ázara et al. 2012).

O MI-Dengue (MI-D) é um sistema de monitoramento da abundância de *Ae. aegypti* grávidas, em áreas urbanas. Os mosquitos capturados são contabilizados, semanalmente, em armadilhas adesivas MosquiTRAP (MQT) geo-referenciadas. Os resultados, disponibilizados em tempo real na internet, sobre a abundância de *Ae. aegypti* dos locais pesquisados, indicam as áreas prioritárias para o controle do vetor (Eiras & Resende 2009).

O MI-D utiliza o indicador IMFA (Índice Médio de Fêmeas de *Ae. aegypti*), que representa a média de fêmeas capturadas por semana, em cada armadilha. O nível de

infestação é classificado para caracterização do risco de transmissão de dengue, dependendo do valor do IMFA semanal, tais como: IMFA < 0,15: verde, "*satisfatório, sem risco de dengue*"; de 0,15 a 0,29: amarelo, "*moderado*"; de 0,30 a 0,59: laranja, "*alerta*"; > 0,60: vermelho, "*crítico*" (Eiras & Resende 2009, adaptado pela Ecovec SA). O segundo indicador é o Índice de Positividade (IP = porcentagem de armadilhas positivas para fêmeas de *Ae. aegypti)*.

As medidas de controle dos vetores da dengue (aplicação de larvicidas e redução de criadouros) de áreas de elevada abundância de *Ae. aegypti* detectadas pelo MI-D são realizadas em um raio de 200 m das armadilhas (Eiras & Resende 2009) ou em bairros com alta abundância dos insetos, de acordo com as normas preconizadas pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) (MS/FUNASA 2002). Os resultados preliminares do MI-D sugerem que tal procedimento favorece a redução da abundância de *Ae. aegypti* fêmeas e do número de casos de dengue (Eiras & Resende 2009). Em um recente estudo em 21 cidade do estado de Minas Gerais, estimou-se que o MI-D evitou cerca de 27 mil casos de dengue e uma economia de cerca de R$ 18 milhões (Pepin et al. 2013). No entanto, o controle do vetor por métodos convencionais não tem sido eficiente em determinados bairros, que frequentemente apresentam altos níveis de infestação por vetores adultos (Ecovec SA, comunicação pessoal).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a técnica da coleta massal, com o uso de BGMs, em um bairro com histórico de elevada abundância de *Ae. aegypti,* detectado pelo sistema MI-D, onde o controle convencional não tem sido eficiente.

III.3.1 Área do estudo

A área experimental selecionada foi o bairro Jardim Arizona, na Região Oeste da cidade Sete Lagoas, MG (Figura III.1), baseado nos dados de monitoramento semanal de 2010 obtidos pelo MI-D (Ecovec SA). Os fatores importantes para a escolha deste bairro, além dos altos índices de abundância de *Ae. aegypti* detectados pelo MI-D, em concordância com dados do LIRAa (comunicação pessoal com Adriano M.P. Souza da Controle de Endemias da Prefeitura de Sete Lagoas), foram: (1) a localização na periferia da cidade, com áreas verdes ao redor (minimizando a dispersão de mosquitos entre as adjacências); (2) fácil acesso por meio de transporte público e segurança, considerando a participação de estudantes da Universidade da Fundação Educacional Monsenhor Messias (UNIFEMM), de Sete Lagoas.

O bairro Jardim Arizona é caracterizado por uma população de classe social média alta. Todas as ruas são asfaltadas, a maioria das casas são unifamiliares de alto padrão, com jardim, varanda e garagem. O bairro inteiro dispõe saneamento básico e coleta de lixo regular.

Duas áreas, com cerca 200 casas, distanciadas 150 m entre si, foram selecionadas para o experimento (Figura III.1d). Uma das áreas foi aleatoriamente designada (lançamento de moeda) para receber as armadilhas BGMs para a coleta massal. Desta forma, foram empregadas uma área de intervenção, com BGMs para a coleta massal e outra de controle, sem armadilhas. Em ambas as áreas, a rotina de controle da dengue, anterior ao experimento, foi preservada, mantendo-se os mesmos procedimentos que ocorrem em todo o município de Sete Lagoas, de acordo com o PNCD, baseados nos resultados do monitoramento de *Ae. aegypti*, com o MI-D.

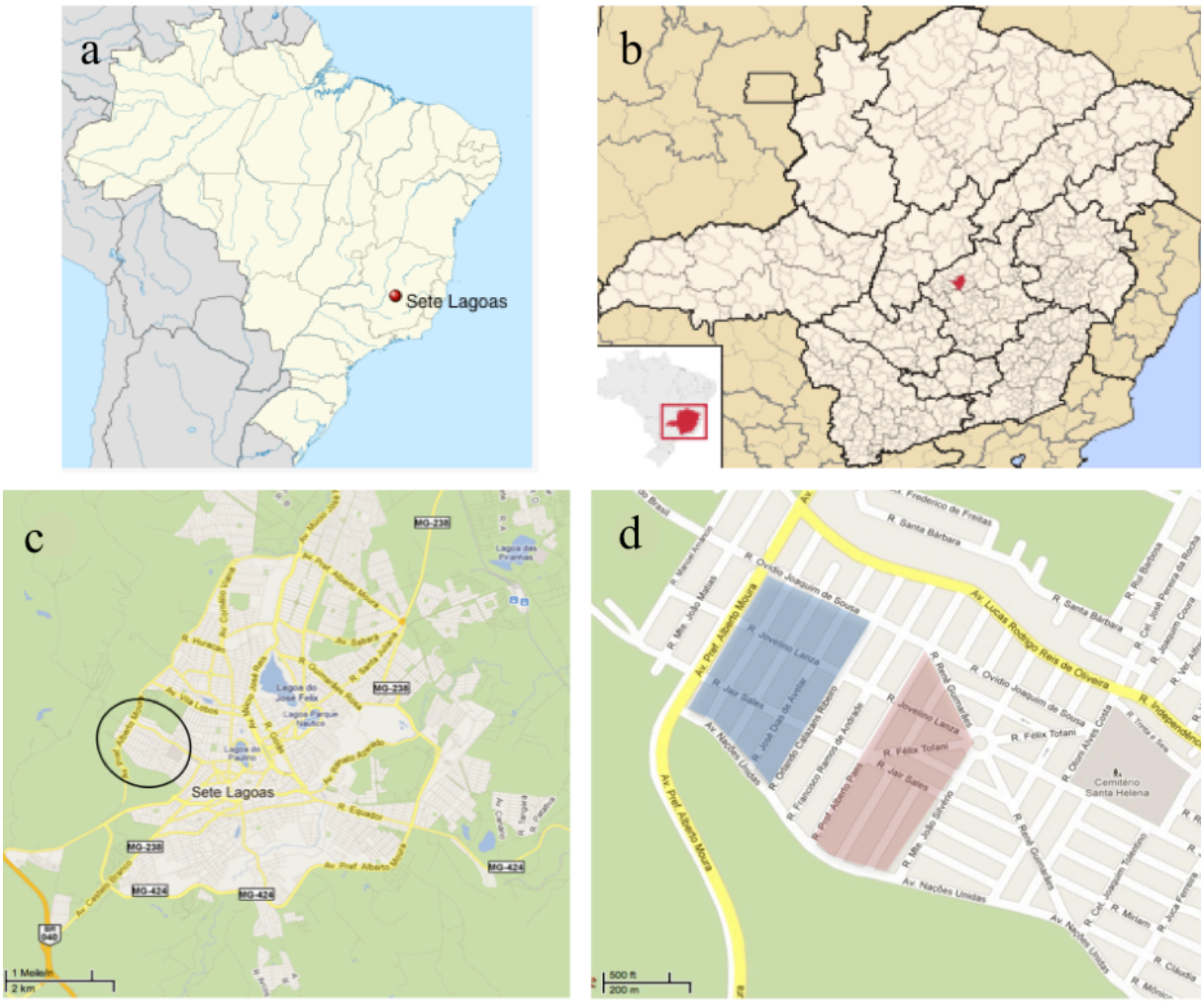


Figura III.1. Área do estudo a) Localização de Sete Lagoas no Brasil b) Mapa de Minas Gerais e a localização de Sete Lagoas (área vermelha). b) Mapa de Sete Lagoas, MG. O círculo indica a localização do bairro Jardim Arizona. c) Mapa do bairro Jardim Arizona. Área azul: intervenção (coleta massal com MQT), área vermelha: controle (área sem coleta massal). Fonte: a) e b): Wikipédia c) e d): Google maps.

III.3.2 Monitoramento

III.3.2.1 MI-Dengue

O MI-D utiliza as armadilhas adesivas MQT (Ecovec SA Belo Horizonte, MG, Brasil), desenvolvidas especificamente para captura de *Ae. aegypti* grávidas, atraídas por estímulos visuais e olfativos (Eiras et al. 2010). A MQT, com 33 cm de altura e 15 cm de largura, é composta por duas subunidades de polietileno reciclável pretas. A parte inferior é vedada e preenchida com cerca de 300 mL de água. A parte superior é aberta para permitir o acesso ao interior do dispositivo, onde os mosquitos são capturados em um cartão adesivo. Neste cartão, há um liberador do atraente de oviposição sintético (AtrAedes™, Ecovec Ltda). As armadilhas são instaladas na área peridomiciliar das residências, onde as capturas são maiores, em relação ao intradomicílio em locais protegidos da luz solar direta e chuva (Fávaro et al. 2006).

As vistorias das armadilhas foram realizadas semanalmente, por agentes de campo de Sete Lagoas e os resultados foram acessados na página digital da Ecovec Ltda, por meio de uma senha de acesso (www.midengue.com.br/clientes).

O MI-D foi implantado em Sete Lagoas, cerca 2 anos antes do início do estudo. Todos os dados das MQTs nas duas áreas de estudo foram obtidos e o IMFAt (IMFAt = soma de IMFA por quatro semanas consecutivas/4) foi calculados períodos de quatro semanas, de forma que houve dois meses, no período de intervenção. As classificações do IMFAt são: verde – "*sem risco de surto da dengue*" (IMFAt < 0,2); amarelo- "*alerta de dengue*" (0,2 < IMFAt < 0,4); vermelho- "*condição crítica, risco de surto da dengue*" (IMFAt > 0,4) (Eiras & Resende 2009). Os indicadores entomológicos IMFA e percentagem de armadilhas positivas durante dados das 9 semanas, antes, durante e depois da intervenção, foram analisados.

III.3.2.2 Monitoramento com armadilhas BG-Mosquitito

A armadilha BGM consiste em um cone de tecido azul, com uma base de gaze branca (35 cm Ø) atravessada no meio por um funil de sucção preto (Figura III.2a). Na extremidade do funil, voltada para o interior do cone azul, há um ventilador de corrente contínua (12V, 0,3A) e um saco coletor de insetos (Figura III.2b). A BGM deve ser instalada de forma suspensa, entre 0,5 e 1,5 m, aproximadamente, acima do nível solo (Biogents 2010).

O monitoramento com BGMs foi iniciado uma semana depois da instalação das

armadilhas de coleta massal e foi realizado semanalmente, até três semanas após a retirada das armadilhas de coleta massal.

Para o monitoramento da área controle, 20 armadilhas BGM foram instaladas e ativadas por um período de 24h e os sacos coletores de mosquitos foram encaminhados ao laboratório da UNIFEMM em Sete Lagoas, para a identificação das espécies capturadas.

Na área de intervenção, 20 armadilhas de coleta massal foram utilizadas para o monitoramento. No início de cada 24h do monitoramento, o saco coletor da captura anterior foi trocado, assegurando-se a coleta apenas do período de 24h anterior, no dia seguinte. Depois, um novo saco coletor foi colocado e a armadilha ficou mantida ligada durante todos os dias, até o próximo monitoramento.

Os mosquitos capturados das duas áreas foram identificados e os abdomens das *Ae. aegypti* fêmeas foram removidos e dissecados, para determinação da paridade. Este processo possibilitou a classificação dos espécimes como nulíparas (extremidades das traqueíolas ovarianas enroladas), paridas (extremidades das traqueíolas ovarianas estendidas) ou estágios avançados (estágio de desenvolvimento ovariano > II), utilizando a técnica de traqueação ovariana (Detinova 1960). Para calcular a taxa de paridade, somente nulíparas e paridas foram levadas em consideração (taxa de paridade em % = paridas x 100 / (paridas + nulíparas)).

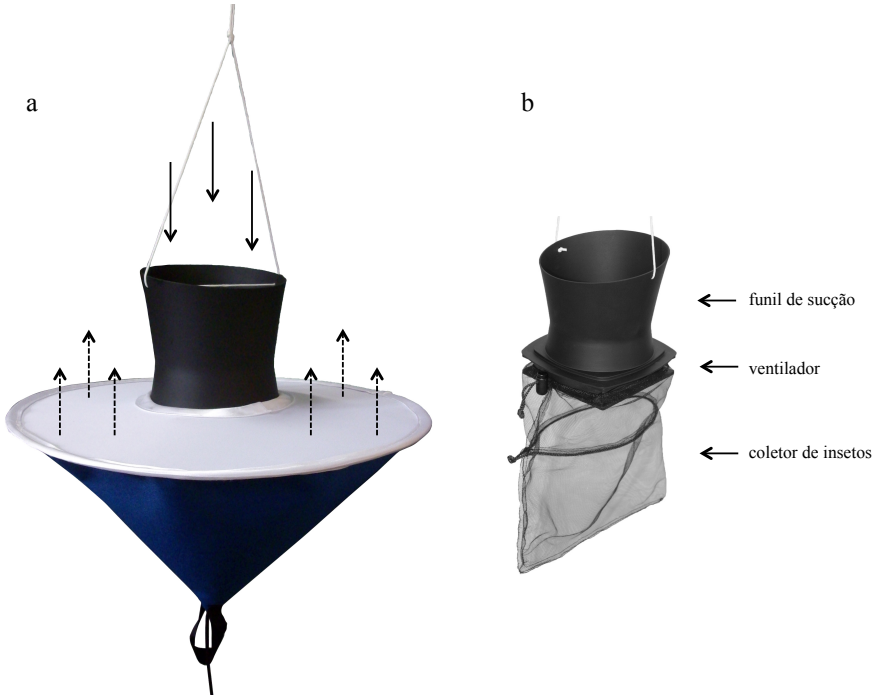


Figura III.2. A armadilha BGM a. armadilha montada (as setas tracejadas indicam a direção da corrente de ar emitida pela superfície da armadilha e as setas pretas indicam a direção da sucção de ar, que conduz os insetos para o interor da armadilha), b. funil e as partes interiores da armadilha.

III.3.3 Coleta massal

Um panfleto (Anexo V) foi distribuído na área de intervenção, uma semana antes da distribuição das BGMs para informar os moradores sobre o projeto de coleta massal e favorecer a aceitação das armadilhas.

A instalação das armadilhas ocorreu na semana epidemiológica 10 (março de 2011) e estas permaneceram em campo por nove semanas. Todas as casas, cujos moradores representantes concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (Anexo VI), receberam até duas armadilhas.

As BGMs foram instaladas no peridomicílio, em locais sombreados e protegidos de chuva direta (área de serviço, varanda, garagem), de preferência em alturas entre 0,5 e 1,0 m. Quando houve preocupações ligadas à instalação na altura recomendada em função da presença de crianças e/ou animais, as armadilhas foram colocadas entre 1,0 a 1,5 m de altura. Os moradores foram orientados a manter as armadilhas constantemente ligadas (24 h por dia, 7 dias por semana), até o momento da sua remoção pela equipe.

III.3.4 Questionário

Um questionário (Anexo VII) foi aplicado aos moradores, depois da remoção das BGMs da área de intervenção, entre os dias 16/05 e 14/06 de 2011. Neste foram abordadas questões sobre: (a) a experiência com dengue; (b) a percepção dos efeitos da BGM; (c) o valor (custo) da armadilha e; (d) a satisfação com a armadilha.

III.3.5 Análise dos dados

Os números de mosquitos de cada espécie, capturados em armadilhas de intervenção instaladas em alturas até 1 m e acima de 1 m, foram analisados com Modelos Generalizados Lineares (GLM), com distribuição de erro binomial negativa.

Como o pressuposto da distribuição normal dos resíduos foi violado (para os dados transformados e não-transformados), e como modelos GLM, com distribuições Poisson e Binomial negativa, não resultaram em ajustes razoáveis para os dados das BGMs e das MQTs, o teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado para comparação das medianas de mosquitos capturados nos dois tipos de áreas. Os números de fêmeas de *Ae. aegypti* capturados em diferentes períodos do estudo com BGMs (comparação entre os períodos intervenção e pós-intervenção), no mesmo tipo de área, também foram comparados utilizando-se o teste de Mann-Whitney. Os dados de monitoramento com MQT (comparação

entre os períodos pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção) foram comparados com o teste de Kruskal-Wallis.

A regressão logística foi utilizada para a comparação das frequências da positividade das armadilhas de monitoramento, nos dois tipos de áreas.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa R, versão 2.12.1 (R development core team 2010).

III.4 Resultados

III.4.1 Instalação das armadilhas para coleta massal

Do total de 188 residências (680 habitantes) na área de intervenção, 84 (44,7%) concordaram em participar no projeto. Setenta e oito residências receberam uma armadilha e os moradores de seis residências aceitaram duas. Desta forma, um total de 87 armadilhas foi instalado, o que correspondeu à densidade de uma armadilha para cada 7,8 habitantes.

III.4.2 Total de mosquitos capturados na coleta massal

As 87 armadilhas de intervenção capturaram um total de 1.200 mosquitos, sendo 582 fêmeas (48,5%) e 173 machos (14,4%) de *Ae. aegypti* (Tabela III.1). O mosquito *Ae. albopictus* foi menos abundante, com 17 fêmeas (1,4%) e 7 machos (0,5%) capturados. Os mosquitos do gênero *Culex* foram menos abundantes que o *Ae. aegypti*, com 312 fêmeas (26,0%) e 61 machos (5,1%) (Tabela III.1). Como as armadilhas permaneceram nove semanas nas residências, não foi possível identificar alguns exemplares do gênero *Aedes,* em nível de espécie.

A maior captura de *Ae. aegypti* fêmeas, durante as nove semanas da coleta massal, foi de 29 indivíduos em uma armadilha. Cada armadilha capturou em média (± desvio padrão, DP) 6,69 (± 6,1) indivíduos em nove semanas, o que correspondeu à captura média de 0,11 fêmeas por dia.

Do total de 87 armadilhas de intervenção, a altura de instalação foi documentada para apenas 60 armadilhas (68,9%), por falha no registro de dados. Entre essas, 24 armadilhas foram instaladas em até 1,0 m e 36 entre 1,0 a 1,5 m de altura. Os resultados das médias das capturas de cada espécie de mosquitos, nas armadilhas das duas categorias de altura, estão descritos na Tabela III.2. Aparentemente, a altura de instalação causou maior impacto sobre as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas. A média de fêmeas de *Ae. aegypti*, capturadas em

armadilhas BGMs instaladas em até 1 m de altura, foi maior do que a média das acima de 1 m. Apesar disto, não foi observada diferença significativa (p = 0,06) (Tabela III.2).

Tabela III.1. Culicídeos capturados em armadilhas BGM de intervenção (n = 87) na área de coleta massal, no bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas (2011), em nove semanas.

	Ae. aegypti		***Ae. albopictus***		***Aedes sp***		***Culex sp***	
	fêmeas	**machos**	**fêmeas**	**machos**	**fêmeas**	**machos**	**fêmeas**	**machos**
Soma	582	173	17	7	35	13	312	61
Média	6,69	1,99	0,19	0,08	0,40	0,15	3,59	0,70
DP	6,10	3,06	0,55	0,38	0,78	0,49	5,10	1,94
Máximo	29	14	3	3	3	3	31	16

Tabela III.2. Média (± desvio padrão) de mosquitos capturados em armadilhas BGM de intervenção, instaladas nas duas categorias de altura, em nove semanas de intervenção, em Sete Lagoas, MG. O valor p corresponde à comparação entre capturas nas duas categorias de altura, para cada espécie de mosquitos (GLM com distribuição de erro binomial negativa).

	Ae. aegypti		***Ae. albopictus***		***Culex sp.***	
Altura	**fêmeas**	**machos**	**fêmeas**	**machos**	**fêmeas**	**machos**
<1m (N = 24)	8,33 (6,13)	2,16 (2,85)	0,38 (0,78)	0,17 (0,64)	3,83 (4,37)	0,63 (1,28)
>1m (N = 36)	5,69 (4,78)	1,64 (2,59)	0,19 (0,52)	0,056 (0,23)	3,41 (5,67)	0,92 (2,70)
p	0,06	0,48	0,30	0,34	0,73	0,52

III.4.3 Monitoramento de *Aedes aegypti* fêmeas pelo MI-Dengue

O MI-Dengue foi implantado na semana epidemiológica 12 do ano 2009, quase 2 anos antes do início do experimento de coleta massal, na semana epidemiológica 10 do ano 2011. Nesse período, houve apenas um mês com um valor do IMFAt classificado como "sem risco de surto da dengue" (verde), na área de coleta massal. Cinco pontos de dados foram classificados como "alerta de dengue" (amarelo) e os outros 18 foram classificados como "risco elevado de surto da dengue" (vermelho), com valores do IMFAt acima de 0,4 (Figura III.3). Na área controle, ocorreram cinco meses em situação "sem risco de surto da dengue" e seis em "alerta de dengue". Apesar de tudo, na maior parte do tempo (13 meses), a área de controle esteve em situação de "risco elevado de surto da dengue". Logo, apesar da aplicação dos métodos de controle preconizados pelo PNCD, a alta infestação por fêmeas grávidas prevaleceu nas duas áreas do estudo.

Observou-se que mediatamente após do início da coleta massal (no primeiro mês

durante a intervenção), o IMFAt das áreas tratadas baixou de 1,25 (“vermelho”) para 0,25 (“amarelo”) e para 0,5 (“vermelho”) no segundo mês (Figura III.5). Já na área controle, o IMFAt aumentou, de 1,0 (“vermelho”) para 1,7 e 1,4 durante a intervenção (Figura III.3).

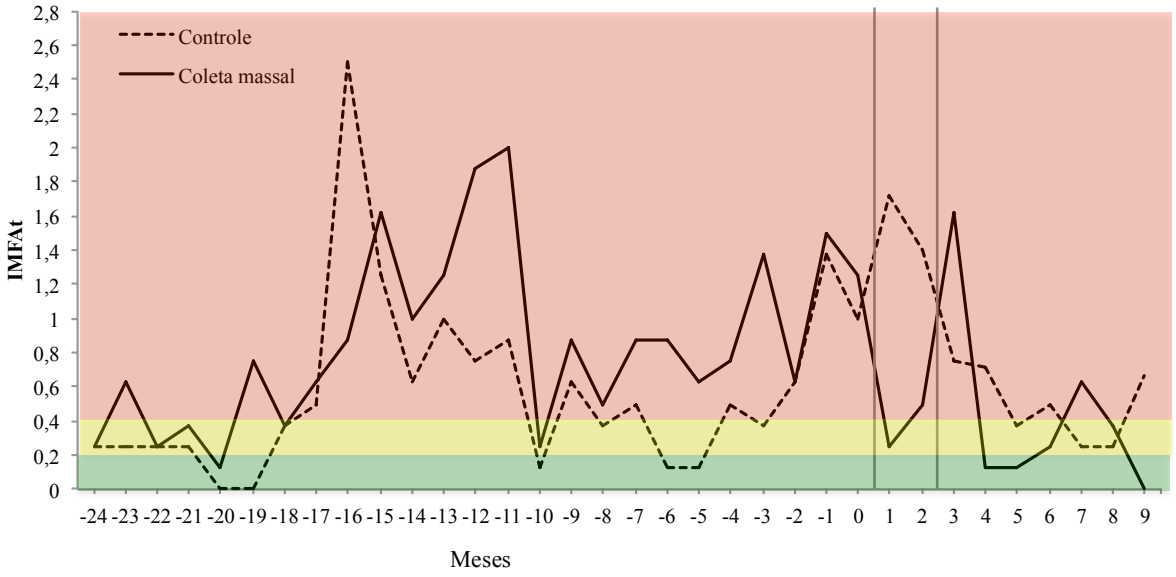


Figura III.3. Monitoramento de fêmeas *de Ae. aegypti* por MI-Dengue. Comparação entre os IMFAt (média de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas em quatro semanas consecutivas), na área de controle e de intervenção, entre as semanas epidemiológicas 12 (2009) e 45 (2011), em Sete Lagoas, MG. As cores verde, amarelo e vermelho indicam a classificação de risco de dengue, estabelecido pelo MI-D. As duas linhas verticais indicam o período de intervenção.

A Figura III.4 apresenta os índices entomológicos semanais do MI-D nos dois tipos de áreas, juntamente com as classificações do risco de transmissão de dengue em cada semana, no período de intervenção, antes e depois do experimento. No período pré-intervenção, o nível de infestação foi alto na maioria das semanas (IMFA > 0,6; vermelho), nos dois tipos de áreas, correspondendo ao risco crítico de transmissão de dengue. Durante a intervenção, a infestação por fêmeas grávidas reduziu na área de coleta massal aos níveis aceitáveis de infestação (IMFA < 0,15; verde), em cinco das nove semanas. No mesmo período, observou-se que a captura na área controle foi de nível de “alerta” ou “crítico” (laranja e vermelho), em todas as semanas.

A análise estatística dos resultados do MI-D, usando janelas de tempo com duração de 9 semanas cada (pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção), demonstrou que a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas nas duas áreas foi semelhante no período pré-intervenção. A captura média foi de 1,06 ± 1,66 fêmeas, na área de controle e 1,22 ± 2,21, na de intervenção (W = 170,5; p = 0,77) (Tabela III.3, Figura III.5). No decorrer das 9 semanas da coleta massal, foi detectada uma diferença significativa entre os indicadores IMFA, nas duas áreas de estudo

(Figura III.5). Na área de intervenção, o IMFA reduziu para 0,39 (± 0,78) e na área controle, aumentou para 1,53 (± 2,06) (W = 213,5; p = 0,025). No período pós-intervenção, o IMFA das duas áreas retornou aos níveis semelhantes de 0,67 (± 0,97) e 0,78 (± 1,52), nas áreas de controle e de intervenção, respectivamente (W= 173,5; p = 0,678). O teste Kruskal-Wallis não indicou diferenças entre os três períodos do estudo na área de coleta massal e de controle (Kruskal-Wallis chi-quadrado = 0,96; p = 0,62 e Kruskal-Wallis chi-quadrado = 1,96; p = 0,37) (Tabela III.3).

A regressão logística indicou que não houve diferença significativa entre a chance da presença de *Ae. aegypti* fêmeas nas MQTs, das duas áreas no período pré e pós-intervenção. Durante a intervenção, a chance de encontrar *Ae. aegypti* fêmeas nas MQTs foi significativamente maior (4,4 vezes) nas áreas controle (OR = 4,4; p = 0,046).

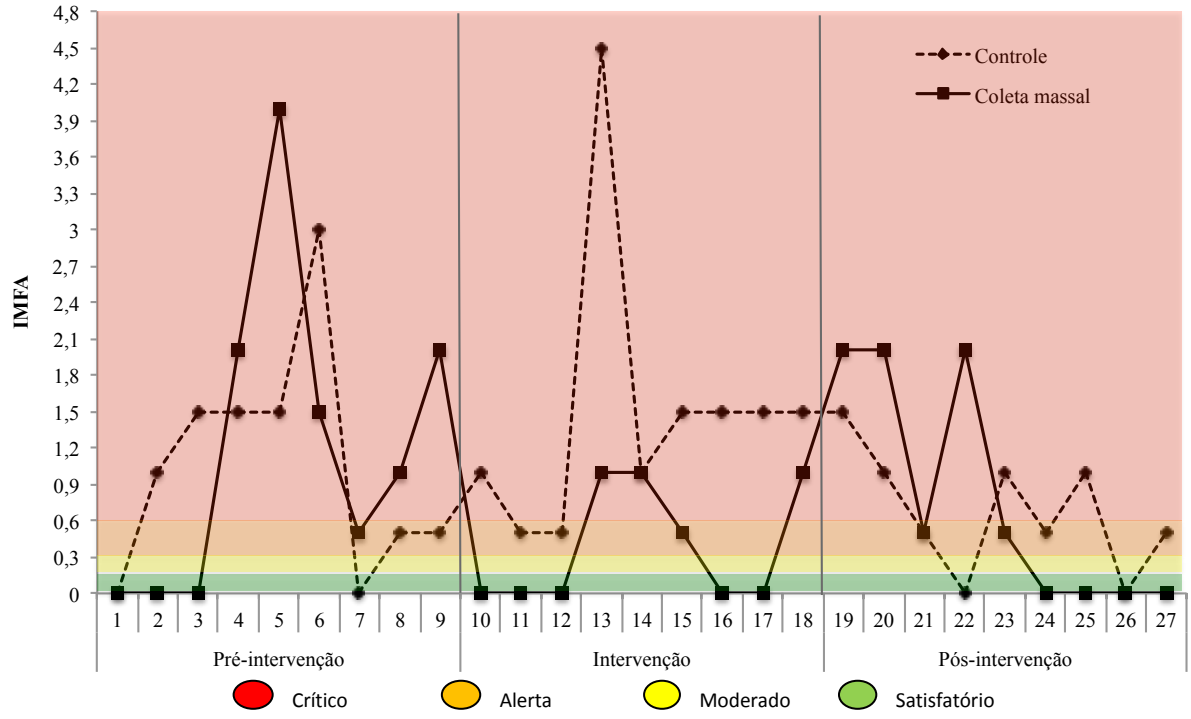


Figura III.5. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas MQT na área controle e de intervenção (coleta massal com armadilhas BGM) no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG (2011), nos períodos de pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção. As cores verde, amarelo, laranja e vermelho indicam a classificação de risco de dengue, estabelecido pelo MI-D.

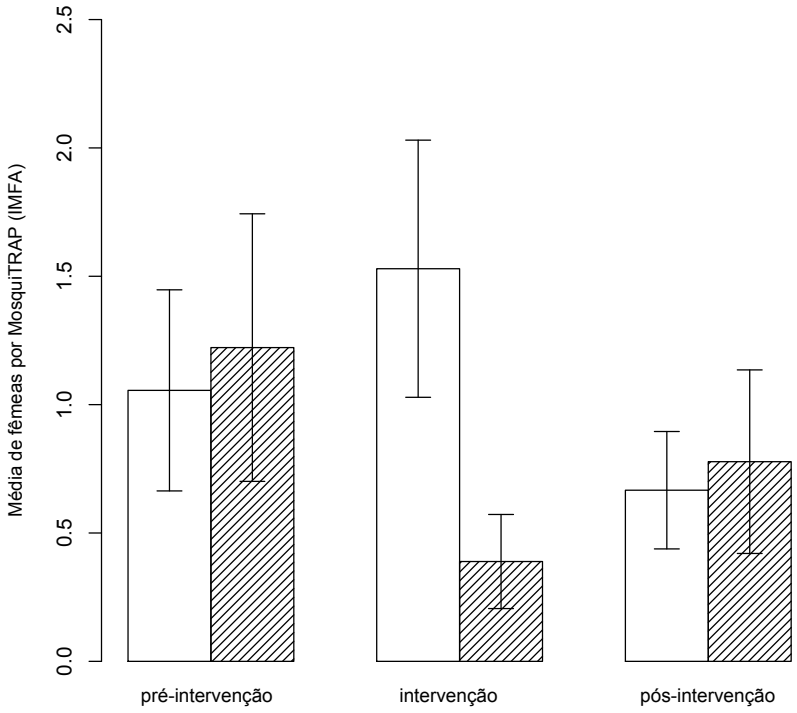


Figura III.5. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas MQT. Comparação entre área de controle (barras claras) e intervenção (barras riscadas), nos três períodos do estudo (média +/- erro padrão), no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG, 2011.

Tabela III.3. Monitoramento com armadilhas MQT. IMFA (média de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em 9 semanas), desvio padrão (DP), Índice de positividade (IP) e número de armadilhas (n) nos períodos pré-intervenção, intervenção e pós-intervenção, nas semanas epidemiológicas 1 - 27 de 2011, Sete Lagoas, MG.

Área		**Pré-intervenção**	**Intervenção**	**Pós-intervenção**
Controle	IMFA	1,06 aA	1,53 aA	0,67 aA
	DP	1,66	2,06	0,97
	IP	44,4	58,8	38,9
	n	18	18	18
Coleta massal	IMFA	1,22 aA	0,39 aB	0,78 aA
	DP	2,21	0,78	1,52
	IP	33,3	22,2	27,8
	n	18	18	18

[a] Valores na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes ($p > 0,05$)

[A] Valores na coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes ($p > 0,05$)

III.4.4 Monitoramento com armadilhas BG-Mosquitito (BGM)

Não foi observada uma diferença significativa entre o IMFA obtido pelas BGMs, no período de intervenção (W = 8039; p = 0,275) e de pós-intervenção (W = 109; p = 0,520) (Tabela III.4, Figura III.6a, Figura III.6b).

Na área controle, o IMFA do período pós-intervenção foi significativamente maior em comparação com o período de intervenção (W = 711; p = 0,013). Na área de intervenção, foi observado um pequeno aumento do IMFA, porém os índices dos períodos de intervenção e pós-intervenção não foram significativamente diferentes (W = 823; p = 0,481).

Nas áreas controle, o Índice de Positividade (IP) das armadilhas aumentou de 10,5% para 33,3%. Desta maneira, o IP triplicou, enquanto a positividade na área de intervenção aumentou somente em 50% (15,3% das armadilhas foram positivas no período da intervenção e 23%, posteriormente).

A regressão logística ajustada para comparação das frequências de armadilhas BGM positivas para *Ae. aegypti* não apontou diferenças significativas entre os dois tipos de áreas, nos períodos intervenção (p = 0,26) e pós-intervenção (p = 0,55).

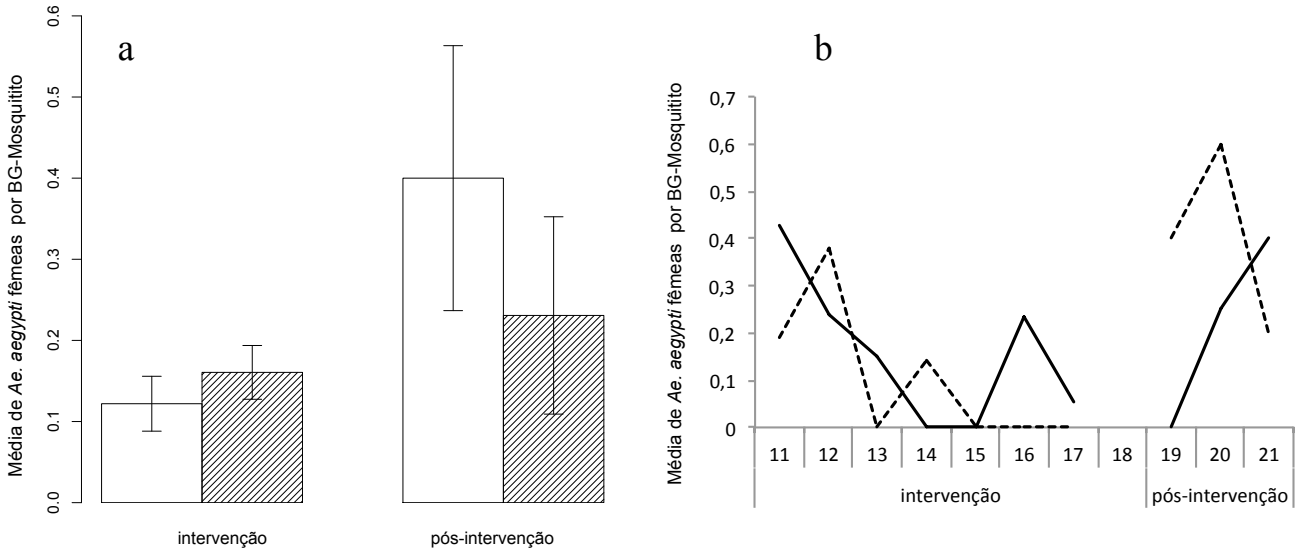


Figura III.6. Monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas com armadilhas BGM. a) comparação entre a área controle (barras claras) e a de intervenção (barras riscadas) dividido por período (+/- erro padrão), b) comparação entre área controle (linha tracejada) e a de intervenção (linha contínua) dividido por semana, no Bairro Jardim Arizona, Sete Lagoas, MG, 2011.

Tabela III.4. Monitoramento com armadilhas BGM. Média, desvio padrão (DP), soma, Índice de Positividade (IP) e número de armadilhas (n) nos períodos intervenção e pós-intervenção, nas semanas epidemiológicas 11-21 de 2011, em Sete Lagoas, MG.

Área		Intervenção	Pós-intervenção
Controle	IMFA	0,12 aA	0,40 bA
	DP	0,38	0,63
	IP	10,5	33,3
	n	123	15
Coleta massal	IMFA	0,16 aA	0,23 aA
	DP	0,39	0,44
	IP	15,3	23,7
	n	137	13

[a] Valores na mesma linha com letras minúsculas iguais são equivalentes (p > 0,05)

[A] Valores na coluna com letras maiúsculas iguais são equivalentes (p > 0,05)

III.4.5 Paridade

A determinação da fase fisiológica das *Ae. aegypti* fêmeas, capturadas nas BGMs de monitoramento, foi possível para 38 (83%) 46 indivíduos. A grande maioria das fêmeas (86%) encontrava-se em fases avançadas do desenvolvimento ovariano e foram classificadas como grávidas. Três das cinco fêmeas nas fases iniciais dos desenvolvimento ovariano estavam paridas, uma na área controle e duas na de coleta massal. As duas fêmeas nulíparas foram capturadas na área de coleta massal. A taxa de paridade levou em consideração apenas as fêmeas nas fases inicias do desenvolvimento ovariano. Como houve somente 1 e 4 indivíduos nas fases inicias, na área controle e de coleta massal, respectivamente, as frequências de fêmeas nulíparas e paridas não foram comparadas com testes estatísticos.

Tabela III.5. Estudo de paridade de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas com BGMs de monitoramento nas semanas epidemiologicas 11-21 de 2011, na área de coleta massal e controle, em Sete Lagoas, MG.

	Nulíparas	Paridas	Estados avançados	Indeterminadas
Controle	0	1	18	2
Coleta massal	2	2	15	6
Total	5	3	33	8

III.4.6 Questionário

Do total de 84 residências com armadilhas, 79 foram visitadas para aplicação do questionário. As entrevistas foram realizadas com um morador ou, em caso de ausência, com uma empregada doméstica da residência. Moradores de oito casas (10,1%) recusaram participar, e em outras oito casas ninguém foi encontrado. Desta forma, pessoas de 63 casas participaram na entrevista. Dos 63 entrevistados, 84,1% são do sexo feminino, a idade média (± DP) foi de 44 (± 13,73) anos e 54,8 % pertenciam à faixa etária de 40 a 60 anos. O número médio de habitantes por casa (± DP) foi de 3,6 (± 1,21).

Em relação à experiência com dengue, 75% relataram que, no mínimo, um morador da casa já teve a doença mas, somente 9 pessoas afirmaram que os casos foram diagnosticados por médicos. Dos entrevistados, 90,5% declararam preocupação com a dengue. Entre estes, 17,5% sentiam um risco maior de se infectar com o vírus da dengue em casa, enquanto a maioria (54,4%), em lugares públicos (trabalho e escola não incluídos).

Cerca de metade dos entrevistados (52,5%) perceberam uma redução da quantidade de mosquitos em casa, após da instalação da armadilha, 40,7% não acusaram mudança, e 6,8% declararam um aumento da quantidade dos mosquitos em casa, durante o uso da armadilha. As respostas a respeito da quantidade de picadas correspondem com as da quantidade de mosquitos: 53,8% relataram uma redução, para 44,2%, não houve mudanças e somente uma pessoa percebeu um aumento da quantidade de picadas.

Desde o momento da instalação das BGMs nas residências, 67,2% das pessoas relataram que se sentiram menos preocupados com a dengue e 69,5% mais protegidos. Somente quatro de 61 entrevistados (6,6%) declararam uma impressão de preocupação aumentada e seis de 59 (10,2%), menos protegidos contra a dengue.

Dos entrevistados, 81% estavam satisfeitos com a armadilha, 4,8% insatisfeitos e 14,3% indiferentes. Somente quatro pessoas (6,5%) relataram que a armadilha causou desconfortos ou problemas. Duas dessas quatro pessoas responderam à pergunta “qual tipo de problemas a armadilha causou?“. Foram citados o barulho do ventilador e o aumento do consumo elétrico. Vinte pessoas sugeriram aperfeiçoamentos: 11 pessoas preferiam que a armadilha fosse menor e três gostariam de melhor aparência. Uma pessoa sugeriu a alteração da armadilha de uma maneira a dispensar o uso de energia elétrica. Duas pessoas reclamaram do fio elétrico, sem maiores explicações.

Sobre a frequência das vistorias, efetuadas mensalmente, 91,7% dos entrevistados responderam que não gostariam que as vistorias fossem menos frequentes. A maioria dos

moradores (86,2%) aceitaria a instalação da armadilha na residência, por um período de um ano, e 76,7% responderam que gostariam de continuar a usar a armadilhas, terminado o projeto, se fosse possível.

III.5 Discussão

No presente trabalho, somente 44,7% dos representantes das casas concordaram em participar no estudo, por conseguinte, a aceitação do projeto foi relativamente baixa. Estudos para a avaliação do uso de OLs para redução da abundância de vetores da dengue reportaram a participação todas as casas da área experimental selecionada (Perich et al. 2003, Sithiprasasna et al. 2003). No projeto realizado em Manaus, onde a coleta massal foi realizada por um período muito mais longo (17 meses), obteve-se uma participação de cerca de 60% das casas (Degener et al. 2014). Possivelmente, a diferença entre o presente estudo e o de Manaus pode ser atribuída às diferentes classes socioeconômicas envolvidas. Enquanto a população da área de estudo em Manaus foi classificada como classe social média baixa, a população do presente estudo foi considerada média alta. Tendo isto conta, em projetos que envolvam a participação dos moradores é, aparentemente, mais fácil ter a participação de membros de classes sociais menos favorecidas. Tal observação foi confirmada pelos agentes de saúde locais (Adriano M.P. Souza, Leandro Pereira). Um aspecto significativo das áreas com moradores de nível socioeconômico maior foi a ausência frequente dos proprietários nas casas, provavelmente, por questões profissionais. Desta forma, em geral apenas empregadas domésticas foram encontradas, naturalmente sem poder de decisão ou permissão para dar acesso aos agentes de endemias (observação pessoal). No estado de São Paulo, a recusa na participação foi identificado como problema principal na relação entre os agentes de controle e moradores, em bairros de todas as classes socioeconômicas. A diferença de recusas em bairros de níveis socioeconômicos distintos não foi quantificada mas, nas áreas de nível A (alto) e B (médio), os seguintes fatores foram identificados: “desconfiança por roubo, problemas racismo e presença constante de serviço na casa” (Chiaravalloti-Neto et al. 2007).

As pessoas que concordaram em participar no projeto comentaram positivamente sobre o panfleto de informações, distribuído previamente. A partir do panfleto, foi possível levar a informação aos proprietários das casas, ausentes durante o dia. Quando estes moradores concordaram em receber a armadilha, transmitiram às suas empregadas a autorização da entrada da equipe para a instalação e as vistorias das armadilhas, nas suas residências. Em outras moradias, nenhum morador foi encontrado em todas as tentativas. Nessas casas,

provavelmente, não havia empregadas e os moradores permaneceram ausentes, durante os períodos diurnos e matutinos. A baixa aceitação dos moradores da área experimental sugere que, futuramente, a divulgação do projeto planejado deverá receber maior ênfase.

O resultado do monitoramento de *Ae. aegypti* fêmeas pelas MQTs indicou que a coleta massal diminuiu significativamente a densidade populacional de grávidas e a probabilidade de armadilhas positivas, no período da coleta massal. Ainda mais, a coleta massal com BGMs reduziu o IMFA a níveis satisfatórios (verde, "sem risco de dengue"), na maioria das semanas de coleta massal, enquanto o mesmo indicador em todas as nove semanas de coleta massal permaneceu vermelho ou laranja, na área controle. Todavia, o efeito positivo foi descontinuado, após a retirada das armadilhas de intervenção.

O monitoramento das duas áreas com BGMs foi realizado apenas durante e após a intervenção. Ao contrário do obtido com MQTs, o resultado do monitoramento com BGMs não sugeriu uma diferença significativa entre as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas nas duas áreas, no período de intervenção. No mês posterior à intervenção, o IMFA aumentou significativamente na área de controle, enquanto na de intervenção, o aumento do índice foi menor. Provavelmente, devido à captura de *Ae. aegypti* no período de intervenção, ocorreu uma redução da oviposição na área tratada. Neste sentido, provavelmente ocorreu um número reduzido de emergência de mosquitos adultos no período pós-intervenção, em comparação com a área não tratada, onde as capturas representaram a flutuação natural da população. Um bom indicador para isso poderia ser uma redução da taxa de paridade dos mosquitos da área de intervenção. Contudo, como poucos mosquitos foram capturados, esta avaliação ficou inconclusiva. Um aspecto limitante da interpretação do monitoramento com as BGMs pode ser relacionado à falta de dados de pré-intervenção, com esta armadilha. Ademais, apenas cinco armadilhas foram utilizadas em cada semana, por área, no período de monitoramento pós-intervenção. A queda do número de armadilhas, de 20 para cinco por área, não foi planejada e ocorreu devido à redução de equipe de campo (desistências por motivos pessoais), outro fator imprevisto a ser considerado, em novos projetos.

Adicionalmente, o número de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas pelas armadilhas de monitoramento por BGM foi muito reduzido. Por exemplo: em 24 horas foram capturados em média, apenas, 0,16 indivíduos. As armadilhas de intervenção capturaram, em média, 6,7 indivíduos em 9 semanas (0,11 em 24 h). No estudo em Manaus, obteve-se médias de capturas superiores com BGSs, com valores de, aproximadamente, 0,6 fêmeas por 24 h, em armadilhas de monitoramento. Em outro estudo conduzido no campus da UFMG, em Belo Horizonte, as BGSs capturaram em média 4,6 fêmeas de *Ae. aegypti,* em 21 horas. Essas

comparações podem ser um indicativo de uma baixa infestação de *Ae. aegypti* adultos no bairro selecionado, apesar da análise preliminar do MI-D, de uma alta infestação. Isso pode ocorrer, por exemplo, quando as armadilhas adesivas MQT, que ficam em posições fixas, são instaladas casualmente em casas com abundância de mosquitos, mais alta em relação a de outras residências do bairro.

De fato, existem grandes diferenças entre as capturas nas casas da mesma área, demonstrado pela captura total das armadilhas de intervenção. As 86 armadilhas capturaram entre 0 a 29 *Ae. aegypti* fêmeas em 9 semanas. A redução da eficiência das BGMs na captura de *Ae. aegypti* também pode ser atribuída à sua instalação em alturas superiores a 50 cm. O funil de sucção da BGS, que não precisa ser suspensa, permanece sempre cerca 50 cm acima do solo. Por outro lado, para a instalação da BGM, o fabricante sugere a instalação de 0,5 a 1,5 m acima do solo e, desta forma, considera alturas de até 1 m acima da indicada para a BGS (50 cm), como recomendável (Biogents 2010). Nos estudos comparativos entre as capturas das BGMs e BGSs, onde se constatou resultados semelhantes, as BGMs foram instaladas a cerca de 0,5 m acima do solo e, portanto, em uma altura equivalente à das BGSs (Ázara et al, 2012, Degener et al. dados não publicados; Englbrecht, comunicação pessoal). Para verificar uma possível relação entre a altura da BGM e as capturas, as médias das capturas de armadilhas de intervenção, instaladas em alturas diferentes (até 1m e acima de 1m), foram comparadas. Nas armadilhas, sabidamente mais baixas, a captura média atingiu 8,33 fêmeas de *Ae. aegypti* em 9 semanas, enquanto que as mais altas capturaram em média 5,69. Mesmo que a diferença entre as capturas nas duas alturas tenha sido apenas marginalmente significativa ($p = 0,06$), uma tendência de capturas maiores em armadilhas mais baixas foi observada. Este fator pode ter influenciado os resultados do estudo. É possível que as capturas nas BGMs de intervenção e de monitoramento tenham sido reduzidas por causa de uma eventual inadequação na sua instalação. Desta forma, sugere-se a realização de uma comparação sistemática entre BGSs e BGMs, instaladas em alturas diferentes (por exemplo: 0,5 m; 1 m; 1,5 m). Os resultados poderão contribuir para otimização e padronização da instalação e uso da BGM.

Comparando-se os resultados de monitoramento da abundância de *Ae. aegypti* nos períodos intervenção e pós-intervenção, com as MQTs e BGMs na área controle, as armadilhas apontaram perfis opostos de flutuação na população. As MQTs apontaram uma redução de grávidas, enquanto as BGMs detectaram um aumento significativo de capturas de fêmeas adultas. É provável que as capturas na MQT sejam mais dependentes da presença de criadouros, de tal forma que o número de grávidas de *Ae. aegypti* capturadas é reduzido,

quando um número elevado de criadouros estão presentes na área e vice-versa. Esse efeito foi observado no estudo em Manaus, no qual as capturas das MQTs aumentaram nos meses com baixa precipitação, época com número reduzido de criadouros (Capítulo IV). A diferença entre os resultados dos dois tipos de armadilhas pode também ser atribuído aos perfis diferentes das armadilhas: a MQT captura principalmente as grávidas (Favaro et al. 2006), enquanto a BGM captura fêmeas, em todos estados fisiológicos (Maciel-de-Freitas et al. 2006). No presente estudo, foram capturadas predominantemente fêmeas em estados avançados do ciclo de desenvolvimento ovariano e, possivelmente, muitas ainda a procura de repasto sanguíneo para completar o ciclo gonotrófico. Em outros estudos de paridade de mosquitos capturados com BGS, taxas de captura de fêmeas em fases fisiológicas avançadas, acima de 70%, já foram reportadas (Rapley et al. 2009), enquanto outros estudos relataram taxas inferiores a 50% e até apenas 31,6% de grávidas (Williams et al. 2006).

Os resultados do questionário apontaram que a grande maioria dos participantes estava satisfeita com a utilização da armadilha e em 93% das casas, o equipamento não causou qualquer desconforto ou problema aos moradores. Cerca de 70% dos entrevistados afirmaram que se sentiram mais protegidos e menos preocupados com a dengue, após a instalação da armadilha na sua residência. Esse resultado foi semelhante com o do questionário aplicado em Manaus, após um experimento de coleta massal com BGS, onde cerca de 60% dos entrevistados se sentiram mais protegidos e, aproximadamente, 70% ficaram menos preocupados com a doença (Degener et al. 2014).

É possível que a preocupação reduzida declarada esteja associada à presença de uma medida de controle vetorial evidente, a partir da qual os moradores tem a impressão de redução da quantidade de mosquitos na sua residência. Quando um criadouro é removido ou tratado com larvicidas, não há algum fator marcante, evidenciando aos moradores ações de combate aos mosquitos. Esta menor preocupação também poderia ter tido consequências negativas, promovendo uma mudança do comportamento dos moradores que, em função da aplicação de medidas de controle vetorial em sua casa, não mais tenham exercido a remoção sistemática de criadouros. Caso tenha realmente ocorrido, o fato poderia representar um grave dano colateral, como aumento do número de criadouros e, consequentemente, de mosquitos adultos. Pela forma que o questionário foi aplicado, não há como saber sobre essa possível associação causa e efeito e para trabalhos futuros, esta consideração seria importante. Mais ainda, como o questionário foi efetivado na forma de entrevista, as respostas podem ter sofrido um viés, no qual o entrevistado buscou atender às expectativas do entrevistador. Para 92% dos moradores, a frequência das vistorias foi adequada e não seria desejável sua redução.

Os entrevistados que gostariam que as vistorias fossem menos frequentes pertenciam às residências, onde o monitoramento semanal com as BGMs foi realizado. Essas informações apontam que os moradores necessitam um apoio no uso da armadilha e que também não se sentiram incomodados pelas visitas semanais da equipe. O conhecimento da opinião dos moradores, em relação às visitas, é importante para o planejamento de projetos adicionais e para o favorecimento da aceitação da armadilha nas residências.

O presente estudo de coleta massal com BGMs foi realizado na estação chuvosa, em um bairro de alta infestação por *Ae. aegypti*, detectado pelo MI-D, em Sete Lagoas. Neste, uma redução significativa do IMFA, medido pelas MQTs, foi observada na área tratada, em comparação com uma área controle, sem o tratamento, além das ações de controle preconizadas pelo PNCD. Por outro lado, os IMFAs obtidos pelas BGMs de monitoramento não diferiram entre os dois tipos de áreas, durante a execução da coleta massal.

Resultados inconsistentes já foram publicados em estudos que usaram armadilhas do tipo *lure & kill* para vetores de dengue, onde múltiplas formas de monitoramento foram utilizadas. Rapley e colaboradores (2009) obtiveram resultados similares, em um experimento com ovitrampas letais biodegradáveis (OLBs), associado com a aplicação de larvicidas, com um mês de duração, na estação chuvosa na Austrália. Neste trabalho, a população de mosquitos adultos foi monitorada com BGSs e com ovitrampas aderentes (*sticky ovitraps*). Os autores observaram uma redução significativa das capturas das BGSs nas áreas tratadas durante o estudo, em comparação com as áreas controle. Ainda assim, o mesmo resultado não foi observado entre as capturas das ovitrampas aderentes (Rapley et al. 2009). Outro estudo usando OLs para redução de vetores da dengue foi realizado anteriormente no Brasil, em dois municípios do estado do Rio de Janeiro (Perich et al. 2003). Durante os três meses de intervenção, os autores observaram uma redução significativa do número de criadouros positivos e de pupas por pessoa na área com armadilhas letais, em relação aos números da área controle, nos dois municípios. Entretanto, o monitoramento de mosquitos adultos, realizado com aspiradores, detectou uma diferença significativa apenas em um dos dois municípios (Perich et al. 2003).

O resultado do presente trabalho obtido a partir dos dados de monitoramento com MQT foi promissor, sugerindo que a coleta massal com BGMs pode representar uma ferramenta capaz de reduzir a infestação de fêmeas grávidas, onde o controle de rotina não repercute efeito algum sobre os índices do MI-D. Apesar da pequena escala do presente estudo, em parte de um bairro, por apenas dois meses, foi possível a observação do efeito de coleta massal com BGMs. Para validação dos resultados observados, é necessária a realização de

estudos adicionais, idealmente, em áreas maiores como, bairros inteiros com histórico de altos índices do MI-D (IMFA "vermelho"). Nestes estudos seria necessária a definição de uma maneira eficaz de associar o MI-D com a coleta massal. Por exemplo, é possível que em bairros classificados como "vermelhos" existam *hot-spots* com alta abundância de vetores da dengue e, simultaneamente, áreas com baixa infestação. Nestes casos, talvez seja suficiente de tratar apenas os quarteirões com índices altos de infestação. Também deveria ser adotada uma análise para detecção de *hot-spots*, que não considere os bairros isoladamente. Isso seria importante, pois é provável a existência de áreas de alta infestação, afetando áreas comuns a dois bairros vizinhos. Uma possibilidade seria a estimativa Kernel, uma interpolação não-paramétrica, que gera mapas de densidade populacional, para visualização de áreas de alta infestação (MS/Fiocruz 2007).

Para avaliação de um efeito do método em estações de chuva/seca, são necessários experimentos com duração de, pelo menos, um ano. Na eventualidade de resultados positivos nestes, experimentos em grande escala, idealmente na forma de estudos controlados com conglomerados randomizados, são recomendáveis.

Do ponto de vista criterioso, uma avaliação do impacto da coleta massal com BGMs sobre a transmissão do vírus e da relação custo-benefício do método devem ser feitos, antes de se poder preconizar o método para uso no controle vetorial.

Capítulo IV:

Abundância temporal de *Aedes aegypti* monitorada por dois tipos de armadilhas para mosquitos adultos, em Manaus.

IV.1 Resumo

Um estudo longitudinal foi realizado em seis conglomerados de um bairro urbano em Manaus, Brasil, para monitorar as mudanças na abundância de adultos de *Aedes aegypti* (L.). O objetivo do estudo foi comparar as capturas de mosquitos em dois tipos de armadilhas, para caracterizar as alterações temporais da sua população e investigar a influência de variáveis meteorológicas sobre esta. Adicionalmente, as correlações entre as capturas de mosquitos adultos e da incidência de dengue foram analisados.

O monitoramento bissemanal de mosquitos adultos foi realizado com armadilhas MosquiTRAP (MQT) e BG-Sentinel (BGS), entre dezembro de 2008 e junho de 2010, abrangendo duas estações chuvosas e uma seca. Os dois tipos de armadilhas detectaram níveis diferentes de infestação de mosquitos nas seis áreas e correlações entre as MQTs e BGSs foram baixas. A correlação entre a média mensal de capturas de *Ae. aegypti* e a incidência mensal de dengue foi moderadamente negativa para as MQTs e moderadamente positiva para as BGSs. Os dois tipos de armadilhas revelaram diferentes padrões temporais de infestação, com maiores capturas das MQTs, durante a estação seca, e maiores capturas das BGSs, na a primeira estação chuvosa. Ambas as armadilhas foram sensíveis para detectar vetores da dengue, em todas as semanas de monitoramento. Diversas variáveis meteorológicas foram preditores significativos de capturas de mosquitos nas BGSs. Para as MQTs porém, apenas o número de dias chuvosos na semana anterior foi significativo. Os resultados ajudaram na compreensão dos efeitos das variáveis meteorológicas sobre os índices de infestação de mosquitos, obtidos com duas armadilhas diferentes para vetores da dengue adultos nas condições climáticas de Manaus.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, MosquiTRAP, BG-Sentinel, variáveis meteorológicas, dengue.

Abstract

A longitudinal study was conducted in six areas of an urban neighborhood of Manaus, Brazil, to monitor changes in the abundance of adult *Aedes aegypti* (L.). The objectives of the study were to compare mosquito collections of two trap types, to characterize temporal changes of the mosquito population and to investigate the influence of meteorological variables on mosquito collections. Additionally, associations between adult mosquito collections and dengue incidence were analyzed.

Adult mosquito monitoring was performed bi-weekly using MosquiTRAPs (MQT) and BG-Sentinel traps (BGS) between December 2008 and June 2010, covering two rainy seasons and one dry season. Both traps detected a different ranking of mosquito infestation in the six areas and correlations between MQT and BGS traps were low. Correlation between mean monthly *Ae. aegypti* collections and monthly dengue incidence was moderate negative for MQT and moderate positive for BGS. The two trap types revealed differing temporal infestation patterns, with highest mosquito collections of MQTs during the dry season and highest collections of BGSs during the first rainy season. Both traps were sensitive to detect the presence of dengue vectors in all monitoring weeks. Several meteorological variables were significant predictors of mosquito collections in BGS, but for MQT, only the number of rainy days in the previous week was significant. The findings help to understand the effects of meteorological variables on mosquito infestation indices of two different traps for adult dengue vectors in the climatic conditions of Manaus, which might contribute to the development of pre-emptive dengue control strategies.

Key words: *Aedes aegypti*, MosquiTRAP, BG-Sentinel, meteorological variables, dengue.

IV.2 Introdução

A dengue é um problema de saúde mundial e no Brasil, onde as taxas de incidência e a severidade da doença tem aumentado nas últimas décadas (Teixeira 2012). O vetor *Aedes aegypti* (L.), é encontrado em todos os estados brasileiros e, desde a recente detecção do DENV-4, pode-se afirmar que os quatro sorotipos do vírus da dengue são circulantes no país (Bastos et al. 2012; Figueiredo et al. 2013a; Figueiredo et al. 2008; Nogueira & Eppinghaus 2011).

Manaus, a capital do estado do Amazonas foi novamente invadida pelo *Ae. aegypti* em 1996, e a primeira epidemia ocorreu entre 1998 e 1999 (Figueiredo et al. 2004). O clima equatorial local, com alta temperatura e umidade o ano todo, com apenas período de menor precipitação, oferece condições favoráveis para o desenvolvimento dos vetores da dengue. A circulação simultânea de quatro sorotipos do vírus (Bastos et al. 2012; Figueiredo et al. 2013b) eleva o risco de epidemias e favorece o aumento do número de casos da dengue hemorrágica. A infestação de *Ae. aegypti* e *Aedes albopictus* (Skuse) foi documentada durante o ano todo, em diferentes bairros, com moradores de diferentes condições socioeconômicas (Ríos-Velásquez et al. 2007). A dengue em Manaus geralmente segue um padrão sazonal, com menor número de casos relatados nos meses mais secos (de junho a outubro).

Vários estudos tem investigado a possível correlação entre variáveis meteorológicas e a abundância de vetores da dengue (Azil et al. 2010; Barrera et al. 2011; Honório et al. 2009b; Mogi et al. 1988; Ríos-Velásquez et al. 2007; Scott et al. 2000; Vezzani et al. 2004). As variáveis meteorológicas interagem diretamente com os diferentes fatores que afetam o desenvolvimento da população dos mosquitos. Por exemplo, a viabilidade dos ovos é dependente da umidade e temperatura (Christophers 1960; Farnesi et al. 2009). A presença de criadouros é associada às chuvas, e o tempo de desenvolvimento larval e sobrevivência das larvas estão diretamente ligadas à temperatura ambiental (Christophers 1960; Rueda et al. 1990). Mais ainda, a eficiência vetorial de *Ae. aegypti* apresenta também dependência da temperatura (Watts et al. 1987). Portanto, é previsível que a incidência da doença seja também influenciada por fatores meteorológicos. A sazonalidade da incidência de dengue tem sido observada em vários locais, incluindo o Brasil (San Martin et al. 2010; Chadee et al. 2007; Descloux et al. 2012).

Por muitos anos, o monitoramento do vetor da dengue foi baseado apenas nos tradicionais índices *Stegomyia* (Índice de Infestação Predial, Índice de Recipiente e Índice de

Breteau) e suas derivações, baseadas na presença de larvas de *Aedes* em criadouros (MS/FUNASA 2002). Estes índices são importantes para avaliar o efeito das intervenções de controle de larvas mas, seu valor para estimar populações de vetores adultos ou riscos de transmissão da dengue é limitado. Ademais, a pesquisa larvária é trabalhosa, demorada e o pessoal de campo envolvido deve ser experiente e altamente motivado, para localização eficaz dos criadouros. As pesquisas de pupas oferecem uma melhor estimativa das populações adultas mas, ainda representam um trabalho intensivo (Focks 2003).

Uma outra alternativa utilizada para o monitoramento do vetor da dengue é a ovitrampa, que é constituída por um recipiente escuro, preenchido com uma infusão de matéria orgânica, que atrai as fêmeas grávidas (Fay & Eliason 1966, Reiter et al. 1991). Depois de entrar na armadilha, as fêmeas pousam em um substrato de oviposição e depositam seus ovos. As ovitrampas evidenciam a presença do mosquito adulto mas, como o número de ovos por fêmea não é conhecido, não há indicação do número de adultos que adentraram a armadilha.

Nas ovitrampas adulticidas aderentes (*sticky ovitraps*), a faixa de oviposição foi substituída por uma placa pegajosa, que permite a quantificação e identificação rápida dos mosquitos (Ritchie et al. 2003, Fávaro et al. 2006). Estas armadilhas são passivas, portanto não requerem eletricidade e os insetos são capturados ao pousar no substrato aderente. A MosquiTRAP (MQT) é um tipo de ovitrampa aderente, que consiste em um cilindro de plástico preto preenchido parcialmente com água, uma placa adesiva e um atraente sintético de oviposição (Eiras & Resende 2009; Gama et al. 2007).

A BG-Sentinel (BGS) é uma armadilha que atrai fêmeas de *Ae. aegypti,* em diferentes fases do ciclo ovariano e machos em número considerável, sem o uso de CO_2, superando outras armadilhas para adultos, que necessitam desse atraente (Kröckel et al. 2006; Maciel-de-Freitas et al. 2006; Meeraus et al. 2008; Williams et al. 2006). A BGS é uma armadilha ativa que necessita de eletricidade para movimentar um ventilador, que aspira os mosquitos para o interior da armadilha.

Nos últimos anos, as armadilhas MQT e BGS tem sido cada vez mais utilizadas para monitorar a abundância dos vetores da dengue (Azil et al. 2010; Melo et al. 2012; Eiras & Resende 2009; Ritchie et al. 2004; Williams et al. 2007). Associações entre capturas de *Aedes* em armadilhas aderentes ou BGSs e a transmissão de dengue foram previamente descritas, em diferentes contextos (Melo et al. 2012; Ritchie et al. 2004; Barrera et al. 2011). O conhecimento das associações entre *Ae. aegypti* capturados por essas armadilhas e as variáveis meteorológicas é importante para o desenvolvimento de modelos, que antecipem probabilidades aumentadas de infestação de vetores da dengue, permitindo a aplicação

precoce de medidas de controle preventivas. Estudos longitudinais que descrevem a associação entre a abundância do *Ae. aegypti*, medido com MQTs ou BGSs e variáveis meteorológicas, já foram realizados (Azil et al. 2010; Barrera et al. 2011; Honório et al. 2009a), em outros locais e sem a comparação direta dos dois tipos de armadilhas.

O objetivo deste estudo foi caracterizar a abundância temporal do *Ae. aegypti* adulto, com BGSs e MQTs, para comparar os índices de captura obtidos pelas duas armadilhas e caracterizar a associação entre variáveis meteorológicas e as capturas bissemanais. Também foram investigadas as relações entre as capturas e a incidência de dengue.

IV.3 Material e métodos

IV.3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no bairro Cidade Nova, localizado na Zona Norte da cidade de Manaus, capital do estado do Amazonas, Brasil. As residências da Cidade Nova são, principalmente, de madeira e alvenaria com varandas e/ou quintais. Dentro do bairro, com uma população estimada de 121.135 (Censo 2010), seis áreas de 104-151 casas, foram delimitados. As áreas apresentavam uma distância mínima de 250 m entre si.

O clima em Manaus é tropical, com médias anuais de 27°C temperatura diária, 2.300 milímetros de precipitação, e 180 dias de chuva. O período dos meses de junho a outubro é normalmente o mais seco do ano, com um total de precipitação acumulada inferior a 130 mm, por mês. As variações da temperatura ao longo do ano são pequenas.

IV.3.2 Monitoramento entomológico

Os *Ae. aegypti* adultos foram monitorados quinzenalmente, em cada uma das seis áreas, com dois tipos de armadilhas diferentes, a MosquiTRAP (MQT, Ecovec Ltda, Belo Horizonte, Brasil) e a BG-Sentinel (BGS, Biogents AG, Regensburg, Alemanha), de dezembro de 2008 a junho de 2010, cobrindo portanto duas estações das chuvas e uma seca.

MosquiTRAP: A MQT atrai *Ae. aegypti* grávidas por estímulos visuais e olfativos (Favaro et al. 2006), utilizando um atrativo de oviposição sintético (AtrAedes) (Eiras & Resende 2009). Quatro MQTs foram instaladas em quatro quarteirões diferentes, de cada conglomerado (uma MQT por quarteirão), totalizando 24 armadilhas. As 24 MQTs permaneceram em posições fixas na área peri-doméstica das residências, ao abrigo da luz

solar direta e chuva forte. Durante as inspeções quinzenais das armadilhas, os mosquitos capturados foram identificados e sexados por agentes de campo treinados, com a ajuda de uma lupa. Uma gota da cultura de *Bacillus thuringiensis var. israelensis*, *Bti* (BT-horus SC®) foi adicionada à água da parte inferior de cada armadilha, para evitar o desenvolvimento de larvas. Os dados obtidos foram digitados em um telefone celular, usando um aplicativo especialmente desenvolvido, e enviados imediatamente, para um banco de dados *on-line* da Ecovec S.A. (Belo Horizonte, Brasil).

BG-Sentinel: A BGS atrai mosquitos de diferentes fases fisiológicas, por meio da simulação das correntes de convecção de ar provocadas por um corpo humano e estímulos visuais e olfativos (Ball & Ritchie 2010; Kröckel et al. 2006; Maciel-de-Freitas et al. 2006). As BGSs foram instaladas nas áreas peri-domésticas de quatro casas não-vizinhas de cada área (uma armadilha por casa). Todas as 24 armadilhas (quatro armadilhas em cada uma das seis áreas) foram instaladas nas manhãs dos mesmos dias e removidas, após um período de captura de 24 horas. As posições das armadilhas nas casas foram modificadas a cada período de 24 h de captura. Os indivíduos coletados foram identificados, sexados e contados. Os mosquitos do gênero *Aedes* foram identificados em nível de espécie, enquanto os outros apenas em gênero. As *Ae. aegypti* fêmeas foram dissecadas, para a determinação do seu estado de paridade, e classificadas como nulíparas ou paridas (Detinova 1962). Mosquitos com ovaríolos desenvolvidos, após a fase II de Christopher, foram classificados como "estágios avançados de desenvolvimento ovariano".

IV.3.3 Casos de dengue humanos

O número de casos de dengue confirmados por mês, para o bairro Cidade Nova, foram obtidos a partir do Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Estado do Amazonas (disponibilizado pela FVS-AM) e a incidência por 100.000 habitantes foi calculada com base no número de habitantes do bairro Cidade Nova, levantado no Censo de 2010.

IV.3.4 Dados meteorológicos

Os dados meteorológicos diários das diferentes categorias foram disponibilizados pelo Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil (INMET). Para as análises, os seguintes valores médios para os dados semanais foram calculados: temperatura máxima (*Tmax*), temperatura mínima (*Tmin*), número de dias de chuva (*NdiasChuva*), chuvas acumuladas (*Chuva*), umidade relativa do ar média (*UR*) e umidade relativa do ar mínima (*URmin*). Para cada uma dessas variáveis, também foram calculados os valores defasados (defasagens de 1, 2 e 3

semanas, a partir daí *Chuva1s*, *Tmin2s*, ...). Ainda mais, *NdiasChuva* e *Chuva* também foram calculados para somas de valores defasados: semana -1 + semana -2; semana -1 + semana -2 + semana -3; semana -2 + semana -3 (a partir daí *Chuva1.2s, Chuva1.3s, Chuva2.3s*). Como as BGS tiveram um período de amostragem de 24 horas, foram também incluídas variáveis referentes a cada dia da amostragem: temperatura mínima diária (*Tmind*), a temperatura máxima diária (*Tmaxd*) e a média de umidade (*URd*) do dia da captura. Estas variáveis foram utilizadas apenas para a análise dos dados das BGSs.

IV.3.5 Análise de dados

Para comparar a média geral de capturas de *Ae aegypti* fêmeas por tipo de armadilha por área, os valores foram transformados [$\log_{10}$ (x+1)] e comparados, utilizando-se ANOVA e teste post-hoc de Tukey.

A correlação de Pearson foi utilizada para determinar correlação entre os números médios [transformados em $\log_{10}$(x+1)] de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas por semana por área, obtidos pelos dois tipos de armadilha. A correlação geral entre as capturas de MQTs e BGSs foi investigada, com base nas médias de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas por armadilha, por semana [transformados para $\log_{10}$(x+1)], não levando em conta as áreas.

Como os dados da incidência da dengue foram disponibilizados apenas mensalmente e como esses não consideram os limites geográficos das áreas, a correlação de Pearson foi realizada, baseada em dados de capturas médias mensais de *Ae. aegypti,* nas MQTs ou BGSs e incidência de dengue mensal, na Cidade Nova, sem considerar as áreas. Todas as variáveis mensais foram transformadas [$\log_{10}$ (x +1)], antes da análise de correlação.

Regressão logística foi utilizada para a comparação das frequências da positividade das armadilhas MQT e BGS.

Para a análise das seis séries temporais, as médias de fêmeas de *Ae. aegypti* por armadilha por conglomerado por semana (*MédiaAaefem*) foram calculadas. Para tal, dividiu-se a soma de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em cada um dos seis conglomerados pelo número de armadilhas (MQT ou BGS), utilizado em cada semana e área de amostragem. Estes valores foram transformados ($\log_{10}$ (x+1)) (daqui em diante *lMédiaAaefem*), de modo que os dados apresentaram uma distribuição Gaussiana (Zar 2010). Primeiro, Modelos Generalizados Aditivos Mistos (GAMM, *Generalized Additive Mixed Models*) foram usados para investigar possíveis efeitos não-lineares das variáveis meteorológicas e do tempo (variável *semana*). Nestes modelos, a variável *área* foi utilizada como fator aleatório. Para os dados das BGSs e

MQTs, os efeitos das variáveis meteorológicas foram lineares, justificando o uso de modelos lineares de efeitos mistos (LME, *Linear Mixed Effects models*), novamente com *área* como fator aleatório. Como as variáveis das mesmas categorias mas, com diferentes defasagens, foram altamente correlacionadas, apenas o melhor preditor para cada categoria foi incluído em um modelo completo inicial. Os modelos mínimos foram selecionados usando o procedimento *forward/backward stepwise*. A análise de autocorrelação dos modelos LME, obtidos com MQTs e BGSs, revelou uma autocorrelação significativa dos resíduos no desfasamento 1. Por este motivo, uma função de autocorrelação de primeira ordem (AR-1) foi adicionada aos modelos. Para a série temporal de BGS, a propagação residual variou por área, e, por conseguinte, a função de estrutura de variância "varIdent", que permite diferentes formas de variâncias para cada área, foi incluída (Pinheiro and Bates 2000, Zuur et al. 2009). Para o modelo de MQT, nenhuma estrutura de variância foi incluída. Somente os resultados dos melhores modelos (significância das variáveis explicativas, menores valores do AIC (*Aikaike Information Criterion),* distribuições residuais adequadas, gráficos de autocorrelação e de autocorrelação parcial foram apresentados.

O *software* estatístico R 2.12.1 (R development Core Team 2010) foi usado para as análises. Os modelos GAMM e LME foram implementados, usando as bibliotecas mgcv (Wood 2006) e nlme (Pinheiro et al. 2010), respectivamente.

IV.4 Resultados

IV.4.1 Dados meteorológicos

Durante o experimento, as temperaturas mínimas e máximas mensais variaram entre 23,3 e 25,9°C e 30,3 e 35,6°C, respectivamente. Grandes oscilações foram observadas para a precipitação mensal, entre 4,2 e 458,1 mm por mês. Nos meses de julho a novembro de 2009, uma média de 3,2 dias (intervalo: 1 a 5 dias) do mês foram positivos para a precipitação, enquanto durante nos meses restantes, uma média de 18,6 dias por mês foram chuvosos (mínimo: 12 dias, máximo: 26 dias). A umidade relativa mensal média variou entre 69,3 e 88,5% (Figura IV.1).

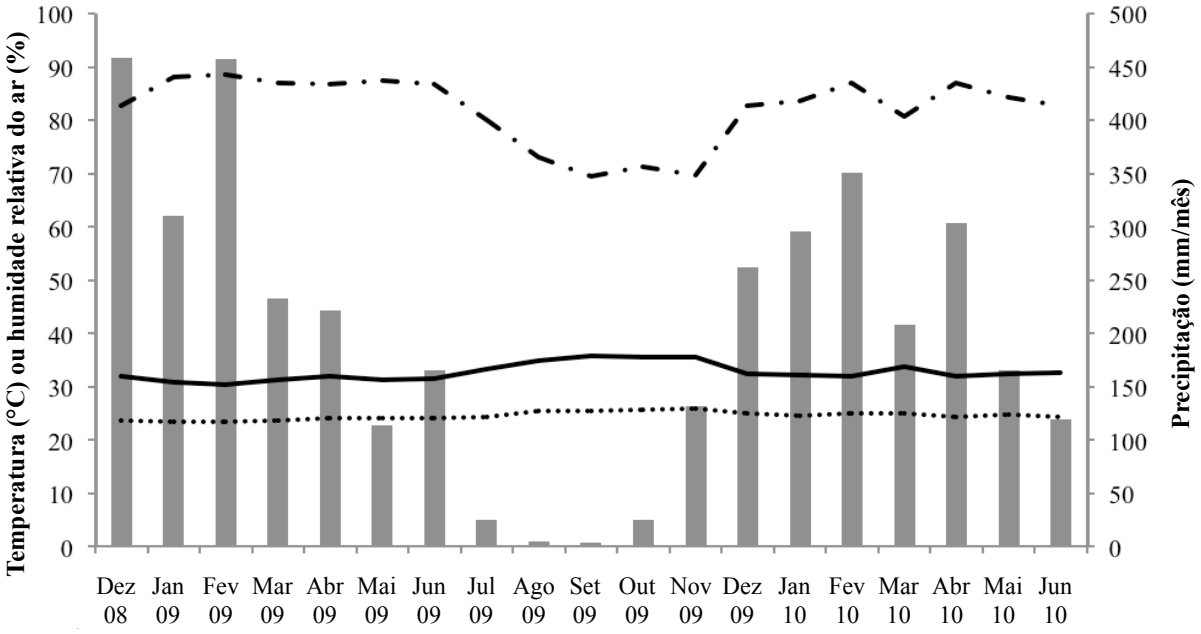


Figura IV.1. Variáveis metereológicas mensais de Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010. Precipitação (barras cinzas), a média da temperatura máxima (linha contínua), a temperatura média mínima (linha pontilhada) e a umidade relativa média (linha pontilhada e tracejada.

IV.4.2 Capturas totais de mosquitos

As MQTs coletaram um total de 3.444 mosquitos (média 3,95) (*Culex sp, Ae. aegypti e Ae. albopictus*) durante todo o estudo, e as BGSs coletaram 22.000 (média 24,23). Ambas as armadilhas capturaram, predominantemente, *Culex sp.* (principalmente, *Cx. quinque-fasciatus*), em todas as seis áreas (Tabela VI.1). A média (± desvio padrão, DP) de captura pela armadilha MQTs foi de 2,6 ± 2,9 mosquitos *Culex* em duas semanas, enquanto as BGS foi de 22,6 ± 45,8 (aproximadamente 10 vezes superior a MQT) em seu período de coleta de 24 horas. Das capturas totais, MQTs e BGSs coletaram 66,3% e 93,4% *Culex sp.*, respectivamente. A segunda espécie de mosquito mais abundante para os dois tipos de armadilha foi o *Ae. aegypti,* que representou 30,3% e 5,9% de todas as capturas com MQT e BGS, respectivamente. Portanto, a armadilha MQT foi mais específica para o *Ae. aegypti*.

As capturas de *Ae. albopictus* foram raras, em ambos os tipos de armadilhas. Considerando apenas *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, 89,9% e 90,2% foram *Ae. aegypti* em MQTs e BGSs, respectivamente.

As capturas de *Ae. aegypti* fêmeas com MQTs diferiram significativamente entre as seis áreas ($F = 30,6$; $df = 5$; $p < 0,001$), com médias por área variando entre 0,13 e 1,72 indivíduos/armadilha, em duas semanas de amostragem (Tabela VI.1). O número máximo de

fêmeas coletadas por armadilha por quinzena, em cada área, variou entre 2 e 13. No total, cerca de 83% dos *Ae. aegypti* capturados foram do sexo feminino, com valores nas áreas variando entre 40,9 e 97,9% (Tabela VI.2). Em quatro das seis áreas, a percentagem foi superior a 80%.

As capturas das BGSs também diferiram significativamente entre as áreas, com médias variando entre 0,37 e 1,99 *Ae. aegypti* fêmeas/armadilha, em 24 h ($F = 17,9$; $df = 5$; $p < 0,001$). O número máximo de fêmeas capturadas por armadilha por área por 24 horas variou entre 6 e 17. De todos *Ae. aegypti* coletados, 62,7% foram do sexo feminino, com valores nas áreas de 53,3 a 75,1% (Tabela VI.1).

Do total de 819 *Ae. aegypti* fêmeas capturadas em BGSs, 798 foram dissecadas para a determinação da paridade. A grande maioria das fêmeas, de todas as seis áreas, (60,0 - 85,4%) foram encontradas nos estágios finais de desenvolvimento ovariano, 6,7 - 36% estavam paridas e 0,9 - 4,7% nulíparas (Tabela VI.1).

Ambas as armadilhas permitiram a identificação da área 1 como o local de maior infestação de *Ae. aegypti*. As capturas das MQTs apontaram a menor infestação na área 2, enquanto as BGSs assinalaram essa área como a terceira mais infestada. A correlação geral entre MQTs e BGS, com base no conjunto de dados *lMédiaAaefem,* com um ponto de dados por área, em cada semana de captura, foi muito baixa (r de Pearson = 0,09; $p = 0,17$). Em nível de conglomerados isolados, as correlações também foram baixas e não significativas, com coeficientes de correlação de Pearson das seis áreas variando entre -0,14 e +0,14 ($p > 0,1$). A análise da correlação de apenas *Ae. aegypti* em estágios finais de desenvolvimento ovariano capturadas em BGSs com as capturas de MQTs, resultou em um coeficiente um pouco maior em 3 áreas, porém a correlação total foi menor (r de Pearson = 0,06; $p = 0,35$).

A correlação entre as capturas de MQTs e BGSs foi significativamente negativa, quando a variável *área* não foi considerada (r de Pearson = -0,38; $p = 0,01$).

Tabela IV.1. Estatística descritiva de mosquitos capturados em 24 MosquiTraps e 24 BG-Sentinels em seis áreas do bairro Cidade Nova, Manaus, AM, entre dezembro de 2008 e julho de 2010. Os períodos de coleta de MosquiTraps e BG-Sentinels foram de duas semanas e de 24h, respectivamente.

	Área 1	**Área 2**	**Área 3**	**Área 4**	**Área 5**	**Área 6**	**Total**
MosquiTRAP							
N	140	134	139	161	162	135	871
Mosquitos	832	486	655	783	382	306	3444
Ae. aegypti (%)	290 (34,9)	44 (9,1)	189 (28,9)	186 (23,8)	191 (50,0)	142 (46,4)	1042 (30,3)
Ae. albopictus (%)	1 (0,1)	39 (8,0)	38 (5,8)	15 (1,9)	12 (3,1)	13 (4,2)	118 (3,4)
Culex sp. (%)	541 (65,0)	403 (82,9)	428 (65,3)	582 (74,3)	179 (46,9)	151 (49,3)	2284 (66,3)
*Ae. aegypt*i fêmeas	241	18	101	185	187	135	867
Média ± DP	1,72 ± 1,93a	0,13 ± 0,44b	0,73 ± 0,69c	1,15 ± 1,07a	1,15 ± 1,31a	1,00 ± 1,61c	0,99 ± 1,36
Max	13	3	2	6	9	9	13
% *Ae. aegypt*i fêmeas	83,1	40,9	53,4	99,5	97,9	95,1	83,2
BG-Sentinel							
N	143	150	148	160	154	153	908
Mosquitos	1902	2981	5067	10075	745	1230	22000
Ae. aegypti (%)	378 (19,9)	209 (7,0)	210 (4,1)	209 (2,1)	216 (29,0)	85 (6,9)	1307 (5,9)
Ae. albopictus (%)	3 (0,2)	1 (0,0)	121 (2,4)	5 (0,0)	8 (1,1)	3 (0,2)	141 (0,6)
Culex sp. (%)	1521 (80,0)	2771 (93,0)	4736 (93,5)	9861 (97,9)	518 (69,5)	1142 (92,8)	20549 (93,4)
Ae. aegypti fêmeas	284	126	112	122	119	56	819
Média ± DP	1,99 ± 2,88a	0,84 ± 1,37b	0,76 ± 1,66bc	0,76 ± 1,52b	0,77 ± 1,18bc	0,37 ± 1,36c	0,92 ± 1,80
Max	17	7	13	10	6	15	17
% *Ae. aegypt*i fêmeas	75,1	60,3	53,3	58,4	55,1	65,9	62,7
Estágio fisiológico do *Ae. aegypti*							
Nulíparas (%)	3 (1,1)	3 (2,4)	5 (4,7)	2 (1,7)	1 (0,9)	2 (4,0)	16 (2,0)
Paridas (%)	38 (13,5)	21 (6,7)	35 (33,0)	41 (33,9)	25 (21,9)	18 (36,0)	178 (22,3)
Grávidas (fases avançadas) (%)	240 (85,4)	102 (81,0)	66 (62,3)	78 (64,5)	88 (77,2)	30 (60,0)	604 (75,7)

IV.4.3 Padrão temporal mensal de *Ae. aegypti* e incidência de dengue

Observe-se que, na análise a seguir, as médias de todas as *Ae. aegypti* fêmeas, capturadas com o mesmo tipo de armadilha nas seis áreas, foram reunidas para originar um único ponto de dado por mês. A abundância mensal do *Ae. aegypti* adulto, medida por ambas as armadilhas, variou ao longo do período de estudo. As tendências foram associadas com a precipitação mensal média acumulada. As capturas em BGSs foram relacionadas positivamente com a precipitação, revelando índices mais elevados, durante as duas estações chuvosas. De forma oposta, a captura de fêmeas com a MQT foi maior na estação seca (Figura IV.2).

A incidência de dengue foi superior na estação das chuvas, em relação a seca (Figura IV.2b). A correlação entre a abundância mensal do *Ae. aegypti* em BGSs e a incidência de dengue foi moderada positiva (r de Pearson = 0,38; p = 0,11), enquanto a correlação entre a abundância de fêmeas capturadas em MQTs e a incidência de dengue foi moderada negativa (r de Pearson = 0,31; p = 0,20). A correlação entre as capturas mensais de MQTs e BGSs foi significativamente negativa (r de Pearson = -0,47; p = 0,04).

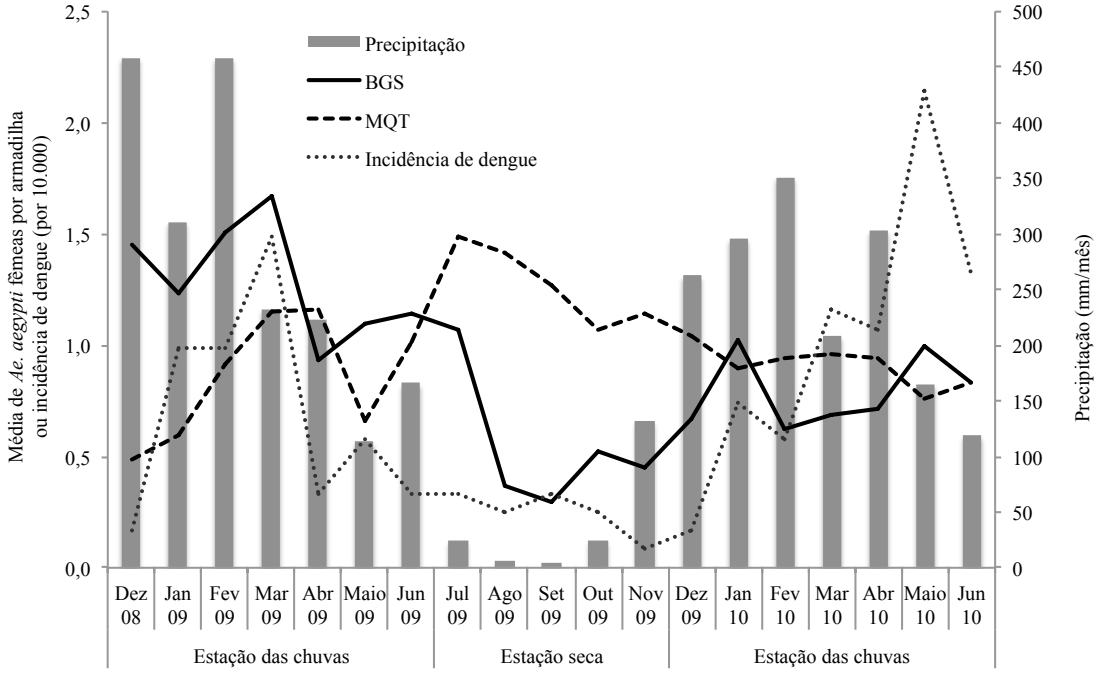


Figura IV.2 Variação mensal da precipitação (barras cinzas), capturas de fêmeas de *Ae. aegypti* em MQTs (linha tracejada) e BGSs (linha contínua), e incidência da dengue (linha pontilhada), em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010.

IV.4.4 Padrão temporal semanal da infestação de mosquitos e positividade das armadilhas

A Figura IV.3a apresenta a média de *Ae. aegypti* fêmeas capturadas, a cada quinzena, em ambos os tipos de armadilhas. Como demonstrado anteriormente para os dados mensais médios, a captura de mosquitos na duas armadilhas variou ao longo do período de estudo, no entanto, com tendências diferentes. A abundância de mosquitos medida pelas BGSs variou de acordo com o padrão de chuva semanal, com baixo número de fêmeas na estação seca. As capturas foram maiores no início e no final da primeira estação chuvosa. Após o período de seca (julho a novembro), as capturas aumentaram novamente mas, níveis tão altos, como da primeira estação chuvosa, não foram mais alcançados.

As capturas médias das MQTs foram menores no início da primeira temporada chuvosa e atingiram seu pico máximo no início da estação seca. As capturas permaneceram elevadas no período seco mas, diminuíram gradualmente até o final do estudo.

Ambas as armadilhas foram sensíveis à presença de *Ae. aegypti* fêmeas a cada semana de monitoramento, no período de estudo. Porém, a positividade das armadilhas não revelou diferenças entre a estação seca e a segunda estação chuvosa (Fig. IV.3b), como visto antes na plotagem dos números médios de mosquitos, em cada tipo de armadilha (Fig. IV.3a). Durante a primeira estação chuvosa, a estação seca e a segunda estação chuvosa do período experimental, respectivamente, 44,4%, 56,5% e 57,8% das MQTs detectaram a presença de fêmeas. As BGSs capturaram *Ae. aegypti* fêmeas em 50,8%, 32,1% e 32,1% das armadilhas nas três temporadas, respectivamente. Na primeira estação chuvosa não houve diferença significativa na positividade dos dois tipos de armadilhas para *Ae. aegypti* fêmeas (OR = 1,3; $p = 0,13$). Na estação seca e na segunda estação chuvosa, a positividade da MQT para detecção de *Ae. aegypti* fêmeas foi significativamente maior, do que a BGS (OR = 2,7; $p < 0,001$ e OR = 2,9; $p < 0,001$, respectivamente). A proporção global de armadilhas positivas foram 53,6% e 38,7% para as MQTs e BGSs, respectivamente.

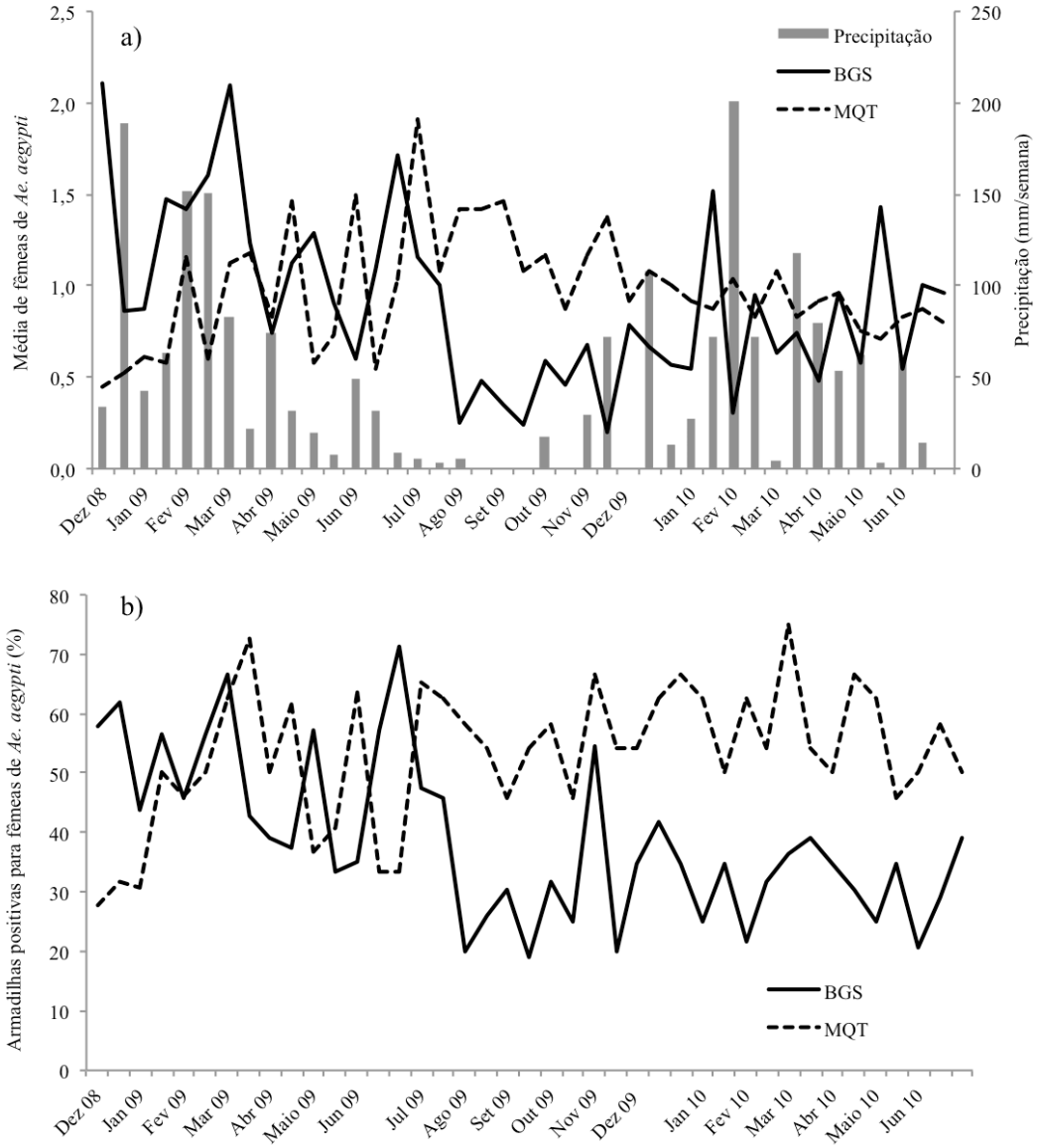


Figura IV.3. Variação semanal das precipitação, capturas de *Ae. aegypti* fêmeas em MQTs e BGSs, e positividade das MQTs e BGSs, em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010 a) Precipitação semanal (barras cinzas) e média de capturas bissemanais de fêmeas de *Ae. aegypti* em MQTs (linha pontilhada) e BGS (linha contínua) b) Positividade de *Ae. aegypti* em MQTs (linha pontilhada) e BGS (linha contínua), em Manaus, entre dezembro de 2008 e junho de 2010.

IV.4.5 Efeito de variáveis meteorológicas sobre a abundância *Ae. aegypti* fêmeas

De acordo com as capturas obtidas pelas MQTs, somente a variável de resposta meteorológica *NdiasChuva1s* foi um preditor significativo da abundância de *Ae. aegypti* fêmeas ($p < 0,001$). O modelo final que incluiu apenas *NdiasChuva1s,* como variável explicativa e uma estrutura de autocorrelação AR-1 (phi = 0,52), indica que a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas diminuiu com o aumento de dias chuvosos na semana anterior (Tabela IV.2).

De acordo com as capturas das BGSs, as variáveis meteorológicas *Tmind, Tmin3s, Tmaxs, Tmax1s, Tmax2s, Tmax3s, URmin2s, URmin3s, UR2s, UR3s, Chuva1s, Chuva2s, Chuva1.2s, Chuva1.3s, NdiasChuva2s, NdiasChuva3s, NdiasChuva1.2s, NdiasChuva1.3s, NdiasChuva2.3s* foram preditores significativos da abundância de *Ae. aegypti* fêmeas ($p < 0,05$), em modelos LME separados. As variáveis de chuva e umidade foram preditores positivos e as variáveis de temperatura foram preditores negativos. A melhor variável explicativa foi a *UR2s* e o modelo final incluiu apenas as variáveis *UR2s* e *semana*. As outras variáveis meteorológicas perderam significância, quando utilizadas adicionalmente com *UR2s*.

O modelo final indicou que a abundância do mosquito aumentou com a elevação da umidade (tamanho do efeito = 0,011). A variável *semana* se manteve significativa, marcando que fatores não meteorológicos afetaram significativamente a abundância bissemanal do mosquito. A Tabela IV.2 apresenta um resumo do modelo final que inclui uma estrutura de autocorrelação AR-1 (phi = 0,47) e uma de variância varIdent.

Tabela IV.2. Resultados dos Modelos Lineares de Efeitos Mistos (LME) da abundância de fêmeas de *Ae. aegypti,* medido com MQT e BGS, em Manaus, AM.

Trap	Variável Resposta	Variável Explicativa	Efeito (± SE)	Valor-t	df	Valor-p
MQT	*lMédiaAaefem*	*NdiasChuva1s*	-0,025 ± 0,012	-2,14	239	< 0,001
BGS	*lMédiaAaefem*	*UR2s*	0,011 ± 0,003	3,38	232	< 0,001
		semana	-0,005 ± 0,001	-4,77	232	< 0,001

IV.5 Discussão

Ambas as armadilhas foram projetados para capturar *Ae. aegypti* mas, a maior parte dos mosquitos capturados foram *Culex sp*., predominantemente, *Cx. quinquefasciatus*. Em outros estudos realizados na cidades de Belo Horizonte e Pedro Leopoldo, ambas em Minas Gerais, números menores de *Culex*, em relação aos de *Ae. aegypti e Ae. albopictus*, foram capturados em MQTs (Gama et al. 2007, Gama, comunicação pessoal; Resende et al. 2013), sugerindo que esta armadilha foi altamente específica para vetores da dengue. Honório (2009a) utilizou MQTs e 85% dos mosquitos coletados foram não- *Aedes*, também principalmente, *Cx. quinquefasciatus,* em uma comunidade carente de um subúrbio no Rio de Janeiro. Na mesma cidade, em um bairro urbano e outro suburbano, a mesma autora descreveu a coleta de apenas 12% e 24% de mosquitos não- *Aedes*, respectivamente. Um elevado número de *Cx. quinquefasciatus* foi coletado com BGSs, no Rio de Janeiro (Maciel-de-Freitas et al. 2006) e em San Juan, Porto Rico (Barrera et al. 2011). No Campus da UFMG em Belo Horizonte, por outro lado, capturas de *Cx. quinquefasciatus* foram raras nas BGSs, bem como em outras armadilhas para adultos, que foram avaliadas simultaneamente (Kröckel et al. 2006). Na Austrália, a BGS capturou predominantemente *Ae. aegypti* (Williams et al. 2006). Espera-se, portanto, que as capturas elevadas de *Culex* não tenham refletido a maior atração deste gênero para ambas armadilhas mas sim, a sua abundância significativa, no local do presente estudo (bairro Cidade Nova em Manaus).

Uma vez que o *Cx. quinquefasciatus* é o principal vetor da filariose brancroftiana no Brasil (Rachou 1956; Rocha & Fontes 1998), a sua abundância aumenta a preocupação com esta doença. A filariose bancroftiana esteve presente em Manaus, em 1950 (Rocha & Fontes 1998) e, mais recentemente, a transmissão da doença tem ocorrido em Recife (MS/SVS 2009b). Possivelmente, mediante os resultados observados, ambas as armadilhas avaliadas poderiam ser utilizadas como ferramentas para o monitoramento de *Cx. quinquefasciatus,* em áreas urbanas brasileiras. Nos trabalhos realizados no Brasil, para detecção da infecção de *Cx. quinquefasciatus* pela *Wuchereria bancrofti*, aspiradores foram frequentemente utilizados (Medeiros et al. 1992; Fontes et al. 2005; Korte et al. 2013). Para a captura com aspiradores é necessário ter acesso às residências durante o período noturno, em função do período de atividade do vetor. Por esta razão, o uso de armadilhas seria mais conveniente, gerando menos incomodo aos moradores. Feita a consideração, recomenda-se a realização de estudos comparativos do uso de aspiradores e de armadilhas MQT e BGS, para o monitoramento de *Cx. quinquefasciatus* em áreas endêmicas de filariose bancroftiana no Brasil.

No presente trabalho, as capturas das duas armadilhas apontaram o *Ae. aegypti* como a segunda espécie mais abundante e o *Ae. albopictus* como terceira. Considerando estas duas espécies, as MQTs e BGSs capturaram, aproximadamente, o mesmo percentual de *Ae. aegypti* (89,9% em MQTs e 90,2% em BGSs). Este resultado é semelhante às observações de uma pesquisa com ovitrampas em Manaus, realizada em 2004, onde 85,5% e 14,5% das larvas de ovos coletados foram *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, respectivamente (Ríos-Velásquez et al. 2007). A população do *Ae. aegypti* diminuiu na América do Norte, com o estabelecimento de *Ae. albopictus* no continente (O'Meara et al. 1995). Apesar do fato de que o *Ae. albopictus* é um competidor larval superior, ambas as espécies coexistem e, em alguns locais da América do Norte, o *Ae. aegypti* continua a prevalecer (Juliano & Lounibos 2005). Foi também demonstrado, em condições de campo, que *Ae. albopictus* é um competidor superior, em relação ao *Ae. aegypti*, no Brasil (Braks 2004). A comparação dos resultados apresentados no presente trabalho, sobre percentuais de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus,* com os de Ríos-Velásquez et al. (2007), coletados cerca de quatro anos antes, sugere que a abundância relativa de *Ae. albopictus* não aumentou. Entretanto, deve-se considerar que os estudos foram realizados com diferentes dispositivos de captura, em diferentes bairros e condições gerais.

O resultado do monitoramento do *Ae. aegypti,* nas seis áreas de Cidade Nova, mostrou que as duas armadilhas não acusaram os mesmos níveis de infestação e que as correlações entre as coletas das duas foram baixas, em todas as áreas. Esta diferença pode estar associada com as características das MQTs para atração de, principalmente, *Ae. aegypti* grávidas (Fávaro et al. 2008), enquanto as BGSs atraem as fêmeas em diferentes estados fisiológicos (Ball & Ritchie 2010; Maciel-de-Freitas et al. 2006; Williams et al. 2006; Rapley et al. 2009). Neste trabalho, também foram coletadas fêmeas em fases diferentes do ciclo gonotrófico. Como observado antes com o uso de BGSs na Austrália (Rapley et al. 2009), foram coletadas predominantemente fêmeas em estágios de desenvolvimento ovariano avançado (> fase II de Christopher) porém, não foi determinado quantas destas estavam prontas para oviposição. Outro fator para a falta de correlação em nível de área pode estar no protocolo do estudo. Por exemplo as BGSs mudaram de posição a cada semana, enquanto as MQTs foram instaladas em posições fixas. Ademais, as MQTs atuaram continuamente por duas semanas, enquanto que os coletores de insetos das BGSs foram removidos, após um período de amostragem de apenas 24 horas. No caso das BGSs, as capturas podem ter sido fortemente afetadas pelas chuvas que poderiam ter diminuído a atividade de voo dos mosquitos, no período de amostragem bastante curto. Esta hipótese contudo não foi corroborada, já que a precipitação do dia de amostragem não foi um preditor significativo da abundância *Ae. aegypti* fêmeas.

É interessante observar que as médias totais de *Ae. aegypti* capturados, pelas duas armadilhas nas seis áreas, foram semelhantes. Deve-se considerar, todavia, que as BGSs capturaram 0,92 ± 1,80 fêmeas em 24 horas, enquanto as MQTs obtiveram 0,99 ± 1,36 fêmeas em duas semanas, o que equivale 0,07 indivíduos em 24 h. Portanto, as coletas diárias das BGSs foram 13 vezes maiores. Provavelmente, as diferenças nas capturas pelos dois tipos de armadilhas estão relacionadas com (a) operacionalidade: a BGS é ativa e requer ventilação forçada para as capturas, enquanto que a MQT é passiva, dispensando qualquer dispositivo elétrico, utilizando apenas cartão adesivo no interior da armadilha; (b) área de superfície atrativa: a superfície da BGS é aproximadamente, cinco vezes maior.

Ainda mais deve se considerar, que as duas armadilhas geraram diferentes quantidades de mão de obra no presente estudo: para o uso de armadilhas BGS foi necessário que a armadilha seja colocada em um dia e retirada após 24h. Ou seja, duas visitas na mesma residência foram realizadas por semana, enquanto que a MQT foi vistoriada uma única vez, reduzindo o tempo e mão de obra.

As médias das coletas semanais de *Ae. aegypti* nos dois tipos de armadilhas refletiram melhor as flutuações sazonais, do que o seu percentual de positividade. Em outro estudo realizado em Manaus, ora com ovitrampas, houve apenas mudanças sutis na positividade das armadilhas (Ríos-Velásquez et al. 2007).

Na estação seca e na segunda estação chuvosa, a chance de capturar, pelo menos, uma fêmea de *Ae. aegypti* foi significativamente maior nas MQTs. Essa diferença foi provavelmente devida às diferenças no tempo de exposição das duas armadilhas. As BGSs foram ativadas por apenas 24h, uma vez em duas semanas, enquanto as MQTs atuaram sem interrupção e foram vistoriadas, uma vez em duas semanas.

As capturas das MQTs foram maiores durante a estação seca e as das BGSs se elevaram com o aumento das chuvas. Supondo-se que os dois tipos de armadilhas capturam frações muito diferentes da população de mosquitos (grávidas versus fêmeas predominantemente em busca de hospedeiros, respectivamente), os resultados encontrados podem traduzir sazonalidades diferentes destas frações da população, nas condições climáticas de Manaus. O padrão longitudinal das MQTs encontrado em Manaus foi o oposto dos encontrado em estudos longitudinais realizados durante períodos de pelo menos um ano, em diferentes cidades de Minas Gerais (Eiras e Resende 2009), em Belo Horizonte (Melo et al. 2012) e no Rio de Janeiro (Honório et al. 2009a). Nestes, as capturas das MQTs foram maiores na estação de chuva. No estado de Sergipe no entanto, as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas nas MQTs foram maiores na estação seca e os autores explicaram esse resultado com a aplicação

extensiva de controle vetorial (Steffler et al. 2011). O aumento das capturas das MQTs na estação seca no presente estudo é provavelmente associado com a redução do número de criadouros, confirmado pelos IIP e IB, menores na estação de seca (FVS-AM). Este fato, presumivelmente, levou a uma maior captura de mosquitos nas MQTs, uma vez que menos criadouros competiram pela atração de fêmeas grávidas com as armadilhas. O *Ae. aegypti* é conhecido por depositar seus ovos em diferentes recipientes, comportamento referido como "oviposição em saltos" (*skip oviposition*) (revisado por Reiter 2007). Tal comportamento aumenta ainda mais as chances das fêmeas de adentrar uma MQT e ser capturada, em épocas com número diminuído de criadouros. A redução geral do número de criadouros também pode pressionar as fêmeas a reter ovos e se distanciar a procura de locais apropriados para oviposição. Segundo Edman e colaboradores (1998), grávidas de *Ae. aegypti* podem se dispersar mais, quando não houver locais de reprodução disponíveis. Desta forma, o aumento do número de fêmeas em MQTs, na estação seca, pode refletir uma maior dispersão de grávidas. A utilização da MQT produziu resultados que indicaram uma sensibilidade superior para a detecção de *Ae. aegypti,* nos meses secos. Outras investigações são necessárias para caracterizar a relação longitudinal entre dados obtidos com a utilização de MQTs e BGSs, em regiões geográficas e climáticas diferentes.

Como foi observada uma alta porcentagem de fêmeas em estágios finais de desenvolvimento ovariano nas BGSs, uma tendência semelhante à observada para as MQTs, com maiores capturas na época de seca, poderia ter sido possível. Como isso não aconteceu, pode-se supor que a maioria das fêmeas classificados em "estágio de desenvolvimento ovariano avançado", não estavam prontas ainda para oviposição mas, estavam em busca de um hospedeiro para completar a maturação dos ovos. É bem documentado que o *Ae. aegypti* realiza múltiplos repastos sanguíneos no mesmo ciclo ovariano (Scott et al. 1993a; Scott et al. 1993b; Scott et al. 2000). Outra observação do estudo que reforça esse argumento, foi a ausência de aumento dos coeficientes de correlação entre as capturas em MQTs e BGSs, quando apenas os mosquitos de estágios desenvolvimento avançados, capturados nas BGSs, foram considerados para a análise de correlação.

A abundância mensal de *Ae. aegypti* fêmeas em BGSs foi positivamente associada com a incidência de dengue. A associação positiva do padrão de capturas das BGSs e incidência de dengue foi observada antes em Porto Rico (Barrera et al. 2011). Já a abundância de fêmeas do vetor da dengue nas MQTs foi negativamente associada com a incidência.

De todas as 28 variáveis meteorológicas testadas, apenas uma variável, *NdiasChuva1s,* foi um preditor significativo da abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, medida por MQTs. Todas

as variáveis de chuva foram negativamente associadas com a abundância do mosquito, em todas defasagens avaliadas. Com o aumento do número de dias chuvosos, durante o tempo de exposição das armadilhas no campo, a disponibilidade de criadouros aumenta. Portanto, as MQTs competiram com mais recipientes de oviposição para fêmeas grávidas, o que presumivelmente levou a uma redução do número de mosquitos capturados. Outro fator que pode ter influenciado as capturas é a possível inibição do comportamento de oviposição em dias chuvosos, um fenômeno que foi frequentemente observado por P. Reiter e M.A. Amador (citado como "observações não publicadas" em Reiter 2007). Honório (2009a) encontrou um efeito negativo de chuvas na defasagem de uma semana, em capturas com MQTs, em um dos três bairros estudados do Rio de Janeiro. Aparentemente, o bairro tinha características semelhantes, contendo casas com quintais, recipientes de água permanentes e criadouros dependentes de chuva. Em contraste com o presente estudo, as chuvas em outras defasagens foram positivamente associadas com abundância de fêmeas, no Rio de Janeiro (Honório 2009a). Resende et al. (2013) estudou a relação entre capturas de armadilhas (MQTs e Ovitrampas) e chuva (sem defasagens de tempo), em um estudo de duração de 12 semanas, em uma estação chuvosa em Pedro Leopoldo, Minas Gerais. Os autores observaram uma relação negativa entre os índices das duas armadilhas e a chuva, o que concorda com os resultados obtidos com MQTs do presente estudo em Manaus.

A maioria das variáveis meteorológicas foram preditores significativos de abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, em BGSs. As variáveis da chuva e umidade foram positivamente associadas à abundância de mosquitos. Nenhuma associação negativa foi encontrada depois que os níveis de chuva (chuva acumulada em mm ou o número de dias de chuva) atingiram a um certo limite máximo. Este resultado está em concordância com os de uma simulação experimental, que revelou que larvas e pupas de *Ae. aegypti* quase não são afetados pelos fluxos de água causados por chuvas fortes (Koenraadt & Harrington 2008). O melhor preditor de abundância de mosquito no modelo LME foi a média da umidade relativa do ar, com defasagem de 2 semanas (*UR2s*). A umidade, na mesma defasagem de tempo, também foi significativamente associada com abundância de fêmeas em BGSs, em Cairns, Austrália (Azil et al. 2010).

A temperatura mínima foi um preditor negativo significativo, no dia de captura, (intervalo da temperatura diária mínima: 22,0 - 27,5 °C) e no período defasado de 3 semanas. Todas as variáveis de temperatura máxima (faixa de *Tmaxd*: 27,3 - 37,6 °C) também foram negativamente associadas às capturas de mosquitos. Segundo Beserra e colaboradores (2006), a faixa de temperatura ideal para o *Ae. aegypti,* em termos de desenvolvimento, longevidade e

fecundidade é de 22 a 29 °C. Rueda e colaboradores (1990) determinou a faixa de temperatura ideal, em termos de sobrevivência na fase adulta, entre 20 e 27 °C. O limite de temperatura mais baixo não foi alcançado em Manaus, no período do estudo. A temperatura ideal superior, porém, foi frequentemente excedida. Nesses períodos de temperaturas elevadas, os mosquitos provavelmente reduziram suas atividades de voo, buscando lugares sombreados, ao abrigo do calor excessivo, o que provavelmente contribuiu para redução de capturas em BGSs. Além disso, as temperaturas mais elevadas ocorreram na estação seca (Figura 1), momento em que o número total de criadouros ficou reduzido. Nesta circunstância, a oviposição provavelmente aumentou nos poucos recipientes disponíveis. Mendki et al. (2000) relataram o efeito estimulante da oviposição de um semioquímico coespecífico de larvas de *Ae. aegypti*. Em um recente estudo de campo, o número de ovos depositados por criadouro aumentou com a elevação da densidade larval da mesma espécie. No mesmo estudo, o tamanho das asas dos mosquitos diminuiu com o aumento da densidade populacional de larvas (Wong et al. 2011). Caso o mesmo fenômeno tenha acontecido neste estudo, é possível que na estação seca e quente, o tamanho dos mosquitos tenha reduzido, o que poderia ter levado à redução da persistência nos ataques das fêmeas, durante o repasto sanguíneo (Nasci 1991), da fecundidade (Farjana & Tuno 2012) e da capacidade de acasalamento dos machos (Ponlawat & Harrington 2009). Tais fatores podem ter contribuído para a redução da captura da BGS. Seria portanto interessante, avaliar o tamanho das asas dos mosquitos, em futuros estudos longitudinais.

Em resumo, foi demostrado que ambas as armadilhas MQTs e BGSs detectaram a mesma abundância relativa de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Culex sp*., em Manaus, no período do experimento. Em nível de áreas, as correlações entre as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas foram baixas. Ambas as armadilhas detectaram a presença de *Ae. aegypti,* no bairro Cidade Nova, em todas as semanas de monitoramento. Este resultado comprovou que estas as armadilhas são ferramentas sensíveis para o monitoramento dos vetores da dengue, nas condições de Manaus. Os dados longitudinais quantitativos das armadilhas foram mais adequados do que os qualitativos, na detecção de diferenças sazonais na abundância de *Ae. aegypti*. As séries temporais das médias semanais de capturas de fêmeas em MQTs e BGSs seguiram tendências opostas. A MQT coletou maior número de fêmeas de *Ae. aegypti* na estação seca, período em que as capturas em BGSs atingiram o seu nível mais baixo. Aparentemente, a MQT foi especialmente sensível na captura de *Ae. aegypti* grávidas, na estação seca da Região Amazônica. As capturas da BGS, no entanto, reproduziram melhor a dinâmica da incidência de dengue.

4 Conclusões

Este trabalho foi elaborado na forma de quatro capítulos, tendo como eixo central a utilização de armadilhas para vetores da dengue, na fase adulta. Nos primeiros três capítulos, a técnica de coleta massal para captura de *Ae. aegypti* foi avaliada, usando as armadilhas dos tipos BGS, MQT e BGM, respectivamente. No quarto capítulo, as armadilhas BGS e MQT foram comparadas, em relação ao seu uso, para o monitoramento dos vetores da dengue. As seguintes conclusões foram obtidas:

- A coleta massal com armadilhas BGS reduziu significativamente a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, em uma de duas estações chuvosas, em Manaus. Na estação seca, não houve efeito e na segunda estação de chuva, a população de *Ae. aegypti* fêmeas foi reduzida porém, de forma não significativa.

- A coleta massal com BGS promoveu um efeito sobre a taxa de paridade das *Ae. aegypti* na primeira estação de chuva, quando ocorreu também uma redução significativa da população do inseto.

- O risco de infecções com DENV foi reduzido nas casas com uma BGS instalada para coleta massal. Porém, estudos adicionais, idealmente durante epidemias, são necessários para confirmação de um efeito significativo das BGS, sobre a taxa de infecções do DENV.

- A coleta massal com MQTs, usando três armadilhas por casa, não promoveu efeitos sobre a população e a taxa de paridade de *Ae. aegypti* fêmeas, bem como sobre a taxa de infecções do DENV, na população humana. Seu uso é recomendável apenas para o monitoramento de *Ae. aegypti*.

- A coleta massal com BGMs, em uma área de alta infestação de vetores detectada pelo MI-D, reduziu significativamente o índice IMFA apontado por MQTs, durante o período do estudo. O monitoramento com armadilhas BGM não resultou em uma redução da infestação.

- A maioria dos participantes manifestou boa aceitação em relação ao uso das armadilhas BGS, MQT e BGM e muitos relataram um efeito favorável da sua utilização sobre a redução de mosquitos, nas suas moradias.

- As armadilhas BGS e MQT apresentaram diferentes padrões de capturas no estudo longitudinal em Manaus, com coletas maiores da MQT, na estação seca, e maiores da BGS, na primeira estação chuvosa do experimento.

- Os dados longitudinais quantitativos das armadilhas foram mais adequados do que os dados qualitativos na detecção de diferenças sazonais na abundância de *Ae. aegypti*.

- Diversas variáveis meteorológicas foram identificadas como preditores significativos de capturas de mosquitos nas BGSs. O melhor preditor foi a média da umidade relativa do ar, com defasagem de -2 semanas. As capturas cresceram com o aumento da umidade relativa do ar.

- Em relação ao padrão de captura das MQTs, somente o número de dias de chuva (defasagem: -1 semana) foi considerado um preditor significativo e negativo para a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas.

5 Considerações finais

O presente trabalho indica que as armadilhas BGS e BGM são ferramentas com potencial para o controle de vetores da dengue, enquanto que a MQT é uma ferramenta para ser usada no monitoramento de fêmeas de *Ae. aegypti*, especialmente grávidas. No experimento de coleta massal com BGSs em Manaus, um efeito sobre a ocorrência de infecções com DENV na população humana foi observado, porém sem significância estatística. O método utilizado, consistindo na avaliação de anticorpos IgM para DENV no final do experimento, não foi ideal. Em estudos futuros, uma melhor investigação da presença de anticorpos para DENV na população estudada será necessária. Para isto, recomenda-se a obtenção de amostras de sangue antes do início do experimento, para avaliar a soroprevalência de anticorpos IgG. Com a obtenção de amostras de sangue subsequentes, durante a intervenção de coleta massal, apenas dos indivíduos previamente soronegativos, será possível obter as taxas de soroconversão em áreas tratadas e não-tratadas.

Outro fator limitante nos experimentos de coleta massal, realizados em Manaus e Sete Lagoas, foi que não foi investigada a presença do DENV nos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* capturados. Esta investigação é recomendável para futuros trabalhos porque permitiria uma estimativa de diferenças entre o risco de infecção com DENV, em áreas tratadas e não-tratadas.

Na utilização da BGM, aparentemente, a instalação a mais de um metro do nível do solo, causou um efeito negativo sobre as capturas de *Ae. aegypti* fêmeas. Antes da realização de experimentos adicionais de coleta massal com BGMs, é necessário a investigação sistemática do efeito da altura da instalação das armadilhas sobre as capturas, idealmente em experimentos de semi-campo (gaiolas experimentais) e campo. Caso o efeito da altura de instalação seja comprovado, padronização deste parâmetro será necessária, para maximizar a captura de *Ae. aegypti.*

A associação do MI-D com a coleta massal foi avaliada apenas durante um curto período e apenas um dos dois tipos de monitoramento apontou um efeito da intervenção sobre a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas, na área tratada. Para uma melhor associação do MI-D com a intervenção de coleta massal, a detecção de *hot-spots* deve ser otimizada.

Antes da recomendação da coleta massal com armadilhas BGS e BGM para o uso rotineiro no controle da dengue, uma avaliação da relação custo-benefício deve se procedida. Ainda mais, a coleta massal deve ser utilizada em associação com outras estratégias de controle. Neste caso, o efeito de cada uma dessas estratégias adicionais deve ser investigado.

A coleta massal com MQTs, com três armadilhas por casa, aparentemente, não afetou a abundância de *Ae. aegypti* fêmeas. É possível, que o método seja mais eficaz com um maior número de armadilhas por casa. Um aumento do número de armadilhas porém, traz vários problemas, incluindo o aumento dos custos e a dificuldade de identificar um número suficiente de sítios para instalação das armadilhas, sem gerar incômodos aos moradores.

Em todos os três experimentos de coleta massal, a grande maioria das armadilhas foi instalada na área peri-doméstica das casas. Contudo, não se sabe se as armadilhas reduzem os contatos entre humanos e vetores da dengue mais eficientemente, quando instaladas dentro ou fora das casas. Provavelmente, as armadilhas na área peri-domestica reduzem (a) o número de *Ae. aegypti* que entram nas casas e (b) a dispersão dos mosquitos para oviposição, após a realização da hematofagia na residência. É provável que esses efeitos possam ser incrementados em experimentos *push-pull,* nos quais a armadilha na área peri-domestica representaria o componente *pull,* e repelentes espaciais aplicados nas residências o componente *push*.

É provável, que o resultado obtido no quarto capítulo, de maior captura de *Ae. aegypti* fêmeas em MQTs na estação seca, poderia ser melhor compreendido, caso o número total de criadouros existentes nas seis áreas de estudo fosse investigado. Para futuros trabalhos comparativos do monitoramento com BGSs e MQTs recomenda-se, portanto, a obtenção deste dado.

Anexos

ANEXO I Estudo Manaus: Folder de informações

Este importante estudo é financiado pelo Banco Mundial e será realizado por diversos parceiros nacionais e internacionais (UEA, FMT-AM, FVS/AM e UFMG) que se uniram para estudar a Dengue e contribuir para uma vida mais saudável!!!

VOCÊS, agentes de campo e moradores de Manaus, são muito importantes para esse projeto, sem vocês ele não é possível.

Vamos construir um mundo melhor juntos!!!

Para dúvidas e sugestões, liguem para:

FVS (Fundação de Vigilância Sanitária) - (92) 36545786
Fundação de Medicina Tropical do Amazonas/UEA - (92) 2127-3555

Parceiros

Patrocinadores:

Banco Mundial

Objetivo:
Avaliar novas tecnologias no combate à a Dengue visando reduzir a transmissão pelo mosquito *Aedes aegypti.*





Durante o estudo, pesquisadores da Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMT/AM) coletará sangue de aproximadamente 7.000 pessoas para conhecer a saúde da população.

A coleta de sangue é fácil, não dói e fornece informação sobre a sua saúde e a dengue.

Você não pagará nada por isto!!!

Este importante estudo precisa do apoio dos moradores de Manaus para seu sucesso, porque, durante o estudo, agentes de saúde da Fundação de Vigilância em Saúde (FVS/AM) uniformizados e com crachás poderão visitar suas residências com frequência para coletar informações para o estudo.



Com a sua participação VOCÊ ajudará a melhorar os métodos de controle da dengue em Manaus e no Brasil.

Assim você irá ajudar a melhorar a saúde de seus filhos!!

Como funciona e como podemos prevenir a Dengue?



O que é a Dengue?
É uma doença febril causado por virus, transmitida pela picada do pernilongo *Aedes aegypti* (pernilongo preto com manchas brancas – foto acima) que pica de manhã e de tarde.

Quais os sintomas?
O doente pode apresentar sintomas como febre, dor de cabeça, dores nos olhos e pelo corpo, náuseas, manchas vermelhas na pele, sangramentos (nariz, gengivas), dor abdominal intensa e contínua e vômitos persistentes.

Dengue em Manaus?
Em Manaus, há ocorrência de Dengue durante todo o ano. Além disso, há circulação de diferentes tipos de vírus da Dengue, o que aumenta o risco de casos mais severos da doença nos moradores da cidade de Manaus.

Ministério da Saúde - www.saude.gov.br

Por esses motivos, várias instituições uniram seus esforços para conhecer e prevenir a dengue, melhorando assim a nossa saúde e a qualidade de vida.

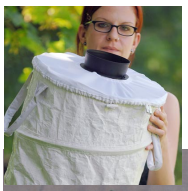
Em algumas residências selecionadas serão instaladas, por cerca de um ano, armadilhas para capturar o mosquito da Dengue, chamadas MosquiTRAP e BG-Sentinela.

MosquiTRAP

Utiliza água e atraente que simulam os criadouros naturais do mosquito da Dengue e possui cartão adesivo para capturar as fêmeas grávidas do *Aedes aegypti*.



BG-Sentinel



Necessita de energia elétrica, possui alta eficiência para capturar mosquitos da Dengue, utiliza atraentes que simulam um hospedeiro humano.



Importante:
Para manter uma BG-Sentinela ligada durante 24 horas em sua casa o custo é de apenas R$ 0,60 por mês. Além disso, para instalação da armadilha, você ganha um benjamim!!

ANEXO II Estudo Manaus: Primeiro questionário

Primeira Visita:

Questionário sobre a dengue

Data: _____/____/ 2008

Aglomerado (Cluster) _____

Quarteirão _____

1. Questionário Pessoal
Sexo: 1- masculino **2**- feminino _____
Escolaridade: **1**- nenhuma **2**- Fundamental incompleto **3**- Fundamental completo **4**- Médio incompleto **5**- Médio completo **6**- Superior incompleto **7**- Superior completo _____
Grau sócio-econômico: (Favor marcar 1 se possuir ou 2 se não possuir em casa os itens abaixo citados) **-** Televisão _____ - DVD _____ - Rádio/CD player _____ - Ar condicionado _____ - Ventilador _____ - Geladeira _____ - Freezer _____
Idade (anos): _____
Quantas pessoas moram na casa, incluindo você? _____
Quantas pessoas na casa têm menos de 16 anos? _____
Nome do bairro/subdistrito: _____
Status do morador: **1**- membro da família **2**- outro _____

2 . Questionário sobre rotina diária
Durante a semana (Segunda a Sexta) Quantas horas durante o dia (do amanhecer ao anoitecer) você geralmente passa em casa? Aproximadamente _____ horas
Finais de semana (Sábado e Domingo) Quantas horas durante o dia (do amanhecer ao anoiteces) você geralmente passa em casa? **Sábado** aproximadamente _____ horas **Domingo** aproximadamente _____ horas
Você passa a maior parte do seu tempo em seu bairro? **1**- sim **2**- não _____
Você está trabalhando? **1- sim 2- não** _____ **Se sim, diga com o quê e o local** _____
Seu(sua) parceiro(a) fica a maior parte do tempo em casa? 1- sim 2- não 3- não tenho parceiro(a) _____
Seus filhos frequentam a escola? **1- sim 2- não 3- não tenho filhos** _____

3. Questionário sobre a Dengue (Para todas as questões abaixo favor marcar 1 para sim e 2 para não)

Você já ouviu falar sobre dengue? _____

Você já ouviu falar sobre a febre hemorrágica da dengue? _____

Em sua opinião, quais das seguintes medidas são recomendadas para o controle da dengue?

- Tomar vacina contra a dengue _____
- Evitar contato com pessoas infectadas com o vírus da dengue _____
- Remover potes, vasilhas e outros utensílios que não estão sendo usados _____
- Evitar picada de mosquitos (através do uso de telas nas portas, janelas; roupas compridas; repelentes) _____
- Evitar contato com água potencialmente infestada com as larvas dos mosquitos _____
- Esvaziar e limpar potes usados _____
- Cobrir grandes reservatórios de água como tanques, caixas d água etc. _____

4. Experiências pessoais com a Dengue

Você ou algum membro de sua família já tiveram dengue? **1- sim 2- não**
_____

Se sim, a dengue foi diagnosticada ou tratada por um médico? **1- sim 2- não**
_____

Você conhece amigos, vizinhos, colegas que já tiveram dengue? **1- sim 2- não**
_____

Você já soube de alguém que morreu devido à dengue em sua cidade? **1- sim 2- não**
_____

Você fala sobre dengue com sua família, amigos, vizinhos ou colegas?

1- nunca 2- raramente 3- às vezes 4- geralmente 5- sempre
_____

5. Medidas contra a dengue

Você ou algum membro de sua família tomou alguma medida contra a dengue durante as últimas semanas?

1- sim **2-** não _____

Se não, por favor, diga por que _____
_____
_____

Se sim, por favor, dê uma breve descrição das medidas utilizadas _____
_____
_____

Quem na sua família é o principal responsável por aplicar as medidas contra dengue?
1- Mãe **2**- Pai **3**- Crianças **4**- Outros: _____ _____

6. Atitudes com relação à dengue e outras doenças (Marque de acordo com as opções fornecidas)

Para você, qual é o risco de uma pessoa em sua vizinhança pegar dengue comparado com o risco de pegar malária?
1- Maior **2 -** O mesmo **3**- Menor _____

Em sua opinião, qual a porcentagem de pessoas em sua vizinhança que pode pegar dengue durante o próximo ano?

Cerca de _____ por cento

Se você ou um membro de sua família for picado por mosquitos, você ficará preocupada em pegar dengue?
1- Sim **2-** Um pouco **3-** Não
_____

Doenças infecciosas como a dengue não podem ser controladas pela população.
1- Concordo **2**- Não sei **3**- Discordo _____

Tenho outros problemas em minha vida do que combater a dengue.
1- Concordo **2**- Não sei **3**- Discordo _____

7. Questionário sobre seu bairro *(Marque de acordo com as opções fornecidas : 1- Concordo 2- Não sei 3- Discordo)*
As pessoas da minha vizinhança se conhecem muito bem. _____
Se necessário for, as pessoas em minha vizinhança podem ajudar juntas a lutar contra problemas comuns. _____
Comumente se discute sobre dengue em nossa vizinhança. _____
Nós somente poderemos controlar a dengue se todos nós ajudarmos juntos. _____

8. Permissão para instalar armadilhas em sua área residencial por 18 meses
Para entender a relação entre densidade de mosquitos e transmissão de dengue, temos que instalar um sistema de armadilhas em algumas casas. Essas armadilhas capturam mosquitos que têm potencial para transmitir a dengue. As armadilhas serão vistoriadas a cada uma ou das semanas para se contar o número de mosquitos capturados. Desse modo poderemos medir a quantidade de mosquitos presentes nesta área. Por isso é extremamente importante tomar bastante cuidado com as armadilhas e sempre verificar se elas estão funcionando constantemente bem.
Você permite implantar essas armadilhas em sua residência? **1**- Sim **2-** Não _____

9. Permissão para se coletar amostras de sangue
Para saber se você e sua família já tiveram algum contato com o vírus da dengue, nós precisaremos coletar duas amostras de sangue de um dos dedos da mão usando uma agulha estéril e descartável, bastante similar ao utilizado para o teste de malária. Você irá sentir uma pequena dor durante a punção, sem, contudo, haver nenhum risco de hemorragia ou infecção. Se encontrarmos algum traço de contato prévio com o vírus da dengue, nós precisaremos provavelmente de uma segunda amostra de sangue, depois de um ano.
Você permite a coleta de sangue para se realizar o experimento sorológico? **1**- Sim **2-** Não _____

Declaro para os devidos fins que recebi informações a respeito do projeto, sendo estas explicitadas em documento por mim assinado no ato do preenchimento deste questionário. ***Declaro ainda que, para participar deste projeto, nenhum tipo de gratificação ou pagamento em dinheiro me foi oferecido, sendo de livre e espontânea vontade a minha participação e de minha família.***	
Local:	**Data:**
Nome do morador (legível) :	
Endereço completo:	
Assinatura do MORADOR:	**Assinatura do ENTREVISTADOR:**

ANEXO III Estudo Manaus: Segundo questionário











Segunda Visita:

Questionário sobre a armadilha

Aglomerado (Cluster) _____

Nome_____

Endereço _____ **Data:** _____/____/_2010

Tipo de armadilha de intervenção (MQT ou BGS) _____

1. Questionário Pessoal
Sexo: 1- masculino **2**- feminino _____
Idade: _____

2 . Questionário sobre rotina diária
Durante a semana (Segunda a Sexta) Quantas horas durante o dia (do amanhecer ao anoitecer = máximo 12 horas!) você geralmente passa em casa? Aproximadamente _____ horas
Finais de semana (Sábado e Domingo) Quantas horas durante o dia (do amanhecer ao anoiteces = máximo 12 horas!) você geralmente passa em casa? **Sábado** aproximadamente _____ horas **Domingo** aproximadamente _____ horas
Durante a semana (Segunda a Sexta) em que Bairro você gasta regularmente mais que 5 horas ? (escreve os nomes dos bairros, mais do que um possivel!)

3. Questionário sobre a armadilha
você percebe alguma alteração desde que você está usando a armadilha? Por favor, anote tudo o que vem em sua mente! Também pensar em mudanças em sua vida diária, na sua família, no seu bairro, no conforto da sua casa, etc ...
Você diria que você está satsifeito com a armadilha, ou não? (**1-** insatisfeito **2-** indiferente **3**- satisfeito _____

Se você estava contenete: O qué você gostou da armadilha?

Se você estava in contenete: O qué você não gostou da armadilha?

---

4. Since you are using the trap ...

Qual a impressão que você tem sobre a abundância de mosquitos?
1 - há menos mosquitos em minha casa **2** - há aproximadamente a mesma quantidade de mosquitos em minha casa **3** - há mais mosquitos em minha casa _____

Qual a impressão que você tem sobre a obtenção de mordidas de mosquitos?
1 - Recebo mordidos com menos freqüência do que antes **2** - Recebo mordidos tão frequentemente como antes **3** - Recebo mais mordidas de mosquitos que antes
_____

Qual é a sua atitude sobre a dengue?
1 - Estou menos preocupado com a dengue do que antes **2** - Eu estou tão preocupado como antes
3 - Estou mais preocupado do que antes _____

Como você se sente protegido contra dengue?
1 - Estou menos protegidos contra a dengue do que antes **2** - Eu estou tão protegido contra a dengue, como antes **3** - Estou mais protegido contra a dengue do que antes que antes _____

Quantas vezes você dê uma olhada para ver quantos mosquitos foram capturados pela armadilha? **1**- nunca **2** - raramente **3** - cerca de uma vez por semana **4** - freqüentemente **5** – diariamente **6** - somente quando o agente me mostrou o saco de captura
_____

Por favor, faça um palpite! Como muitos mosquitos foram capturados pela armadilha de uma semana, em média?
Eu acho que a armadilha captura uma média de _____ mosquitos por semana.

Será que a armadilha causou desconfortos ou problemas? **1**- sim **2**- não
_____

Se sim: Por favor, dê uma breve descrição!

Se você pudesse modificar a armadilha: O que você mudaria?

Se um bom amigo de vocês seria considerar a compra da armadilha e lhe pedir conselhos, o que você diga a ele / ela?

Se possível, gostaria de continuar usando a armadilha depois do projeto?
1 - sim **2** - não _____

Se você pudesse manter a armadilha depois que o projeto e alguém iria pedir-lhe para vender para ele, quanto dinheiro você gostaria de cobrar pelo menos?
Gostaria de cobrar-lo pelo menos _____ R$

O que você espera que a armadilha custa em uma loja?
Eu acho que a armadilha custaria cerca de _____ R$

Quer comprar na armadilha por um preço de **....** (**1-** sim **2-** talvez **3-** não)

- 300 $R _____
- 200 $R _____
- 100 $R _____
- 50 $R _____

5. Sua opinião pessoal da armadilha
(Por favor coloque : **1-** sim **2-** não **3-** não sei)

Fiquei surpreso como a armadilha funcionava _____
Foi fácil e confortável para mim usar a armadilha _____
A armadilha capturou muitos mosquitos _____
A armadilha diminuiu o incómodo causado pelos mosquitos _____
A armadilha pegou o tipo de mosquitos que transmitem dengue _____
A armadilha pode ser um importante instrumento na luta contra a dengue _____

Se você pudesse comprar a armadilha do mosquito em uma loja, você iria comprá-lo?
1 - sim, em qualquer caso **2** - somente se ele não é muito caro **3** - Eu só iria comprá-lo, se outras pessoas comprá-lo, também **4** - provavelmente não **5** - Não, eu nunca iria comprá-lo _____

Obrigado pela sua participação!

ANEXO IV Estudo Manaus: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Avaliação da transmissão da dengue com armadilhas BG-Sentinel® e MosquiTRAP® para captura de mosquitos

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro morador,

A dengue é uma das doenças mais importantes transmitidas por insetos, nesse caso os mosquitos. Ainda não existe uma vacina disponível, sendo os métodos de controle utilizados voltados para o combate ao vetor.

Um estudo será desenvolvido com o objetivo de entender a relação entre a quantidade de mosquitos e a transmissão do vírus causador da dengue tentando, assim, melhorar as ações de controle contra a doença em Manaus/AM.

Dessa forma, pedimos que leia com bastante atenção os itens abaixo com relação às etapas do projeto:

01 – Do Estudo

Esse estudo será realizado no bairro Cidade Nova e proximidades, onde agentes de endemias da Fundação de Vigilância em Saúde (FVS) visitarão 1500 casas da região, entrevistando os moradores e fazendo o preenchimento de um pequeno questionário com informações a respeito da dengue. Entre as casas visitadas, algumas receberão armadilhas para captura de mosquitos e outras não. A duração do estudo será de 18 meses e, durante esse período, os agentes da FVS farão a vistoria, ou seja, a verificação se na armadilha foram ou não encontrados mosquitos. Essa vistoria será realizada toda semana.

Além disso, serão coletadas amostras de sangue de todos os moradores das residências, sendo uma coleta no início e outra no final do projeto. Essa coleta será feita de maneira semelhante àquela utilizada para o exame de malária, através de um pequeno furo com uma agulha na ponta de um dos dedos da mão. O sangue coletado será analisado com o objetivo de se saber quantas pessoas já tiveram contato com o vírus da dengue. Você irá sentir uma pequena dor durante a punção, sem, contudo, haver nenhum risco de hemorragia ou infecção. Se não encontrarmos algum traço de contato prévio com o vírus da dengue, nós precisaremos provavelmente de uma segunda amostra de sangue, depois de um ano.

O estudo é uma parceria entre a Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas (FVS-AM); a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM); a Universidade Estadual do Amazonas (UEA), a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), a Universidade Alemã de Regensburg e o Banco Mundial.

02 – Das Armadilhas

As armadilhas instaladas nas residências serão de dois tipos: BG-Sentinel® e MosquiTRAP® especialmente desenvolvidas para a captura de mosquitos transmissores da dengue.

A armadilha BG-Sentinel® (figura 01) é composta por uma espécie de balde branco, com cerca de 60 cm de altura e contém, em seu interior, um ventilador que funciona a base de energia elétrica. **ESSA ARMADILHA DEVERÁ PERMANECER LIGADA DURANTE 24 HORAS, SEM PODER SER DESLIGADA EM HIPÓTESE ALGUMA!** Vale aqui ressaltar que o consumo de energia da armadilha é mínino, ficando aproximadamente R$ 0,60 ou menos por mês!

DEVE-SE EVITAR MEXER NA ARMADILHA, ou mesmo permitir que crianças e animais se aproximem. Apesar de não conter nenhum material tóxico ou com risco de acidente, para o perfeito andamento do projeto somente os agentes de campo treinados farão as vistorias semanais nas armadilhas.



Figura 01: Armadilha BG-Sentinel®



Figura 02: Armadilha MosquiTRAP®

A outra armadilha, MosquiTRAP® (figura 02) é composta por um pequeno pote preto fosco, um cartão adesivo, um atraente sintético e água em seu interior. Não necessita de luz elétrica para seu funcionamento. Da mesma forma que a anterior, pedimos para evitar que crianças ou animais domésticos tenham acesso à armadilha, permitindo, dessa forma, o bom andamento do estudo.

03 – Dos Responsáveis

Qualquer dúvida com relação ao projeto ou mesmo qualquer problema relacionado às armadilhas, por favor, entrem em contato com **Prof. Jörg Ohly** através do telefone **3236 85 69** ou do endereço: **Reitoria da Universidade do Estado do Amazonas - UEA, Av. Djalma Batista, 3578 – Flores, Sala 111.**

04 – Da Declaração

a) Declaro para os devidos fins que recebi informações a respeito do projeto, sendo estas explicitadas neste documento por mim assinado.

b) Declaro que, para participar deste projeto, nenhum tipo de gratificação ou pagamento em dinheiro me foi oferecido, sendo de livre e espontânea vontade a minha participação e de minha família.

c) Declaro que tenho o direito de me retirar desse estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de retaliação ou danos.

d) Declaro que, uma vez lido e assinado o presente termo, cumprirei todas as recomendações com relação ao cuidado com as armadilhas. Comprometo-se a avisar aos responsáveis pelo estudo, qualquer problema com relação ao funcionamento ou vistoria das armadilhas.

Local:	**Data:**
Nome do morador (legível):	
Assinatura do MORADOR:	**Assinatura do ENTREVISTADOR:**

Obrigado por sua participação!!!!

ANEXO V Estudo Sete Lagoas: Folder de informações



Caros moradores;

Este estudo é importante e necessita do seu apoio e participação. Sua ajuda têm papel fundamental para o sucesso dessa pesquisa.

DISQUE-DENGUE - 160

Um projeto de pesquisa da UFMG em cooperação com a UNIFEMM e a Secretaria de Saúde de Sete Lagoas

ecovec
biotecnologia para a vida

UNIFEMM

SETE LAGOAS
UM NOVO TEMPO

Vigilância Epidemiológica
ZOONOSES

Em caso de dúvidas, entre em contato com a pesquisadora responsável:

Carolin Degener

Laboratório de ecologia química de vetores UFMG

(31) 3409.2976 carolindegener@hotmail.de

ARMADILHAS CONTRA A DENGUE



INFORMAÇÕES PARA OS MORADORES

Aviso importante:

Morador, caso você esteja fora de casa no dia da inspeção da armadilha, pedimos a gentileza de avisar outro morador (filhos ou empregada doméstica) a respeito da visita.

Vamos tentar uma nova estratégia na luta contra a dengue!



Conheça o projeto:

O objetivo do estudo é avaliar se é possível diminuir o número de mosquitos vetores da dengue *(Aedes aegypti)* utilizando armadilhas para mosquitos.

Para isto, colocaremos o maior número possível de armadilhas em uma parte do seu bairro e em outra parte, um número menor de armadilhas, para estudar a dinâmica da população do vetor ao longo do tempo, através da captura dos mosquitos.

Este estudo é importante e necessita do seu apoio e participação. Sua ajuda têm papel fundamental para o sucesso dessa pesquisa.

Muito obrigado pela sua participação!

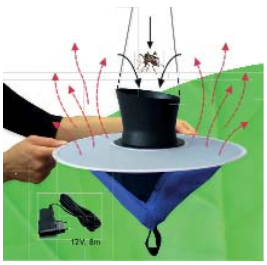
Conheça a armadilha BG-Mosquitito:

Essa armadilha utiliza atraentes que imitam o odor da nossa pele, simulando um hospedeiro humano. Os mosquitos serão capturados por um saco coletor presente no interior da armadilha.

A BG-Mosquitito não contém inseticidas, nem substancias tóxicas. Mesmo assim, ela deve ser utilizada fora da alcance de crianças.

A armadilha deve ficar pendurada e precisa de uma tomada elétrica. O local ideal para instalação deve ser sombreado e protegido de chuva como uma varanda, quintal ou dentro de casa.

Cada residência poderá receber até duas armadilhas, caso seja desejo do morador.



PERGUNTAS E RESPOSTAS

Qual é o tempo de duração do estudo?

8 semanas, a partir da 1ª semana de março.

É preciso comprar a armadilha?

Não. As armadilhas serão emprestadas pela UFMG durante o período do estudo e serão recolhidas depois de 8 semanas.

A armadilha consome muita energia?

Não. A armadilha possuí um ventilador que deve ficar ligado 24h todos os dias. Esse motor é de baixo consumo e o gasto com energia será de aproximadamente R$1,00 por mês.

Quem vai fazer a vistoria das armadilhas?

As armadilhas serão vistoriadas por estudantes da UNIFEMM **devidamente identificados** e treinados para trabalhar neste projeto.

De quanto em quanto tempo as armadilhas serão vistoriadas?

Duas vezes durante o período do estudo. Os estudantes lhe darão o suporte necessário em caso de dúvidas. Algumas casas serão vistoriadas semanalmente e em outras, as armadilhas permanecerão somente por 24h.

ANEXO VI Estudo Sete Lagoas: Termo de consentimento livre e esclarecido

Avaliação da armadilha BG-Mosquitito® no combate da dengue

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro morador,

A dengue é uma das doenças mais importantes transmitidas por insetos, no caso, o mosquito *Aedes aegypti*. Como ainda não existem vacinas disponíveis, os métodos de controle se concentram no combate ao vetor. As medidas atuais de controle são: redução de criadouros nos ambientes domésticos, uso de inseticidas e repelentes. Todas essas medidas têm uma eficácia limitada, o que pode ser comprovado pela alta incidência da doença.

O projeto de pesquisa proposto tem o objetivo de diminuir a quantidade de mosquitos e a transmissão do vírus causador da dengue com a ajuda de armadilhas e portanto melhorar as ações de controle da doença próximo a sua residência.

Neste sentido, pedimos que leia com bastante atenção os itens abaixo, com relação às etapas do projeto:

1 – Do Estudo

O projeto será realizado no seu bairro e proximidades. Essa região foi escolhida, porque o sistema de monitoramento previamente realizado (MI-Dengue) demonstrou que a taxa de infestação com mosquitos da dengue é constantemente alta, logo com alto risco de surtos da dengue.

A duração prevista do estudo é de 2 meses.

2 – Das Armadilhas

As armadilhas instaladas nas residências serão as BG-Mosquitito®, que foram especialmente desenvolvidas para a captura de mosquitos transmissores da dengue (*Aedes aegypti)*.

A armadilha BG-Mosquitito® (Figura 1) foi projetada para ser fixada pendente no teto ou outras superfícies. Ela contém em seu interior um ventilador que **DEVERÁ PERMANECER LIGADO PERMANENTEMENTE, 24 HORAS POR DIA, SEM PODER SER DESLIGADO! O consumo elétrico é mínimo, aproximadamente, R$1,00 por mês** (base de custo utilizado para cálculo de R$ 0,40/kWh)**.** Os custos de energia serão pagos pelos participantes voluntários.

A ARMADILHA NÃO DEVE SER MANIPULADA E DEVE SER MANTIDA FORA DO ALCANCE DE CRIANÇAS OU ANIMAIS. Apesar de **não conter nenhum material tóxico** ou risco de acidente, para o perfeito andamento do projeto somente os agentes de campo farão vistorias mensais nas armadilhas.



Figura 1: Armadilha BG-Mosquitito®
Diâmetro: 30cm

3 – Dos Responsáveis

Quaisquer dúvidas em relação ao projeto ou problemas relacionados às armadilhas, favor entrar em contato com a pesquisadora responsável:

Carolin Degener, LabEQ, ICB-UFMG, Departamento de Parasitologia. Av. Presidente Antônio Carlos, 6627. Belo Horizonte MG 31270-901. Telefone: (31) 3409-2976. E-mail: carolindegener@hotmail.de

4 - Contato da Comissão de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG
Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005, Belo Horizonte, MG 31270-901. Telefone: (31) 3409-4592.

5 – Da Declaração

a) Declaro para os devidos fins que recebi informações a respeito do projeto, explicitadas neste documento por mim assinado.

b) Declaro que, para participar deste projeto, nenhum tipo de gratificação ou pagamento em dinheiro foi oferecido, e a minha participação e de minha família é de livre e espontânea vontade.

c) Declaro que tenho o direito de me retirar desse estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de justificativa e sem nenhuma penalidade ou dano.

d) Declaro que, uma vez lido e assinado o presente termo, cumprirei todas as recomendações no cuidado com as armadilhas. Comprometo-me a avisar aos responsáveis pelo estudo, qualquer problema com relação ao funcionamento ou vistoria das armadilhas.

Local:	**Data:**
Nome do morador (legível):	
Assinatura do MORADOR:	**Assinatura do ENTREVISTADOR:**

----------(cortar)

Cópia da Declaração (pelo arquivo da pesquisa)

a) Declaro para os devidos fins que recebi informações a respeito do projeto, explicitadas neste documento por mim assinado.

b) Declaro que, para participar deste projeto, nenhum tipo de gratificação ou pagamento em dinheiro foi oferecido, e a minha participação e de minha família é de livre e espontânea vontade.

c) Declaro que tenho o direito de me retirar desse estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de justificativa e sem nenhuma penalidade ou dano.

d) Declaro que, uma vez lido e assinado o presente termo, cumprirei todas as recomendações no cuidado com as armadilhas. Comprometo-me a avisar aos responsáveis pelo estudo, qualquer problema com relação ao funcionamento ou vistoria das armadilhas.

Local:	**Data:**
Nome do morador (legível):	
Assinatura do MORADOR:	**Assinatura do ENTREVISTADOR:**

ANEXO VII Estudo Sete Lagoas: Questionário

Questionário sobre a armadilha BG-Mosquitito

Nome_____

Logradouro _____ **N**_____**Q**_____ **Data:** _____/____/_2011

Casa onde foi realizado monitoramento? **1** - sim **2** - não _____

1	Sexo: 1- masculino 2- feminino	
2	Idade:	
3	Quantas pessoas moram na sua casa?	
4	Quantos moradores já tiveram dengue?	
5	Se teve moradores com dengue: A doença foi confirmada pelo um médico? 1 - sim 2 – não	
6	Você conhece alguém que já teve dengue grave (hospital) 1 - sim 2 - não	
7	Você está preocupado com dengue? 1 - sim 2 – não	
8	Onde você se sente mais em perigo de ser infetado com dengue? 1- em casa 2- trabalho/escola 3- outros lugares públicos 4- outros (especificar) _____	

9	Você diria que está satisfeito com a armadilha? *1- satisfeito 2- insatisfeito 3- Indiferente*	
10	Se você está satisfeito: O que você gostou na armadilha? Se você não está satisfeito: O que você não gostou da armadilha?	
11	**O que você observou com relação à quantidade mosquitos depois da instalação da armadilha?** **1** - há menos mosquitos em minha casa **2** - há aproximadamente a mesma quantidade de mosquitos em minha casa **3** - há mais mosquitos em minha casa	
12	**O que você observou com relação às picadas de mosquitos?** **1** - Recebo picadas com menos frequência do que antes **2** - Recebo picadas tão frequentemente quanto antes **3** - Recebo mais picadas de mosquitos do que antes	
13	**Qual é a sua percepção sobre a dengue depois do uso da armadilha?** **1** - Estou menos preocupado que antes **2** - Estou tão preocupado como antes **3** - Estou mais preocupado que antes	
14	**Como você se sente em relação a dengue após o uso da armadilha?** **1** - Estou menos protegido que antes **2** - Estou tão protegido quanto antes **3** - Estou mais protegido do que antes que antes	

15a	**A armadilha causou desconfortos ou problemas?** **1**- sim **2**- não	
15b	**Se sim:** Quais?	

16	**Se você pudesse modificar a armadilha: O que você mudaria?**	
17	Se possível, você gostaria de continuar usar a armadilha depois do projeto? **1** - sim **2** - não	
18	Você deixou a armadilha sempre ligada? **1** - sim **2** - não	
19	**Se não:** Quando você desligou a armadilha?	_____
20	Você preferiria que as vistorias da armadilha fossem menos frequêntes? **1** - sim **2** - não	
21	Se a prefeitura da sua cidade ou um projeto de pesquisa desejasse colocar uma armadilha do mesmo tipo na sua casa por um período de 1 ano, você aceitaria? **1** - sim **2** - não	
22	**Se não:** Porque você na aceitaria?	
23	**Quanto você acha que custaria a armadilha em uma loja?** Eu acho que a armadilha custaria cerca de R$	
24a 24b 24c	Você compraria a armadilha por um preço de **...** (**1-** sim **2-** não **3-** talvez) - R$ 200 - R$100 - R$ 50	_____ _____ _____

	Sua opinião pessoal da armadilha **(Por favor coloque : 1-** sim **2-** não **3-** não sei)	**1-** sim **2-** não **3-** não sei
25	Você ficou surpreso com o funcionamento da armadilha?	
26	Foi fácil e confortável para você usar a armadilha?	
27	A armadilha capturou muitos mosquitos?	
28	A armadilha diminuiu o incômodo causado pelos mosquitos ?	
29	A armadilha pegou o tipo de mosquito que transmite a dengue?	
30	Você acha que a armadilha é um importante instrumento na luta contra a dengue?	
31	**Se você pudesse comprar a armadilha do mosquito em uma loja, você iria comprá-la?** **1** – sim **2** - somente se ela não fosse muito cara **3** – Somente se outras pessoas comprassem também **4** - provavelmente não **5** – Não	

Obrigado pela sua participação!

Referências bibliográficas

Allan SA, Kline DL 1998. Larval rearing water and preexisting eggs influence oviposition by Aedes aegypti and Ae. albopictus (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 35: 943–947.

Almeida SJ, Martins Ferreira RP, Eiras ÁE, Obermayr RP, Geier M 2010. Multi-agent modeling and simulation of an Aedes aegypti mosquito population: Environmental Modelling & Software 25: 1490–1507.

Ázara TMF, Vieira AF, Caldas PA, Martins DHM, Rodrigues MS, Eiras AE 2012. Comparison between BG-Sentinel and BG Mosquitito Traps for Capturing of *Aedes aegypti*. Pôster apresentado no Third Pan American Dengue Research Network Meeting, Cartagena, Colômbia, September 2012.

Ázara TMF, Degener CM, Roque RA, Ohly JJ, Geier M, Eiras AE 2013. The impact of CO2 on collection of Aedes aegypti (Linnaeus) and Culex quinquefasciatus Say by BG-Sentinel traps in Manaus, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 108: 229–232.

Azil AH, Long SA, Ritchie SA, Williams CR 2010. The development of predictive tools for pre-emptive dengue vector control: a study of Aedes aegypti abundance and meteorological variables in North Queensland, Australia.Trop Med Int Health 15: 1190–1197.

Ball TS, Ritchie SR 2010. Sampling biases of the BG-sentinel trap with respect to physiology, age, and body size of adult Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 47: 649–656.

Bärnighausen T, Bloom DE, Cafiero ET, O'Brien JC 2013. Valuing the broader benefits of dengue vaccination, with a preliminary application to Brazil. Semin Immunol 25: 104-113.

Barrera R, Amador M, MacKay AJ 2011. Population dynamics of Aedes aegypti and dengue as influenced by weather and human behavior in San Juan, Puerto Rico. PLoS Negl Trop Dis 5(12): e1378. doi:10.1371/journal.pntd.0001378.

Bastos MS, Figueiredo RM, Ramasawmy R, Itapirema E, Gimaque JB, Santos LO, Figueiredo LT, Mourão MP 2012. Simultaneous circulation of all four dengue serotypes in Manaus, State of Amazonas, Brazil in 2011. Rev Soc Bras Med Trop 45: 393–394.

Bates D, Maechler M, Bolker B 2011. lme4: Linear mixed effects models using S4 classes. R package version 0.999375-39.

Becker N 2010. Mosquitoes and their control: Heidelberg, Springer, 577 pp.

Beserra EB, Castro FPJ, dos Santos JW, Santos TS, Fernandes CR 2006. Biologia e exigências térmicas de Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) provebientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. Neotrop Entomol 35(6): 853–860.

Biogents 2010. Instruction Manual Biogents Mosquitito. http://www.biogents.com/html/img/pool/BG_Mosquitito_manual_EN_110308_web.pdf (acessado 06/11/2013).

Bosch OJ, Geier M, Boeckh J 2000. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female Aedes aegypti. Chem Senses 25: 323–330.

Braga IA, Valle D 2007. Aedes aegypti: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde 16: 295–302.

Braga IA, Lima JB, Soares SS, Valle D 2004. Aedes aegypti resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 99: 199–203.

Braks MAH, Honório NA, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R, Juliano SA 2004. Interspecific Competition Between Two Invasive Species of Container Mosquitoes, Aedes aegypti and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae), in Brazil. Ann. Entomol. Soc. Am. 97(1)130-139.

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

Carvalho D, Garziera L, McKemey A, Capurro ML 2012. *Aedes Transgênico (PAT)* - Evaluation of transgenic *Aedes aegypti* (OX513A) as a Sterile Insect Technique based control method in Brazil. Apresentação oral no Third Pan American Dengue Research Network Meeting, Cartagena, Colômbia, September 2012.

Castle T, Amador M, Rawlins S, Figueroa JP, Reiter P 1999. Absence of impact of aerial malathion treatment on Aedes aegypti during a dengue outbreak in Kingston, Jamaica. Rev Panam Salud Publica 5:100–105.

Castro MG, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Lourenço-de-Oliveira R 2004. Dengue virus detection by using reverse transcription-polymerase chain reaction in saliva and progeny of experimentally infected Aedes albopictus from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 99: 809–814.

CDC 2014. Dengue map. http://www.healthmap.org/dengue/pt/ (acessado 23/02/2014).

Cecilio AB, Campanelli ES, Souza KP, Figueiredo LB, Resende MC 2009. Natural vertical transmission by Stegomyia albopicta as dengue vector in Brazil. Braz J Biol 69: 123–127.

Chadee DD, Shivnauth B, Rawlins SC, Chen AA 2007. Climate, mosquito indices and the epidemiology of dengue fever in Trinidad (2002-2004). Ann Trop Med Parasitol 101: 69–77.

Chan KL 1972. The eradication of Aedes aegypti at the Singapore Paya Lebar International Airport: Proceedings of the First SEAMEO-TROPMED Workshop, Singapore.

Chan M, Johansson MA 2012. The incubation periods of Dengue viruses. PLoS One 7: e50972.

Charlwood JD 1979. Estudos sobre a biologia e hábitos alimentares de Culex quinquefasciatus Say de Manaus, Amazonas, Brasil: Acta Amazonica 9(2): 271–278.

Chiaravalloti-Neto F, Baglini V, Cesarino MB, Favaro EA, Mondini A, Ferreira AC, Dibo MR, Barbosa AA, Ferraz AA 2007. Programa de Controle da Dengue em SNao José do Rio Preto, São Paulo, Brasil: dificuldades para a atuação dos agentes e adesão da população. Cad Saude Publica 23(7): 1656–1664.

Christopers SR 1960. Aedes aegypti (L.). The yellow fever mosquito -its life history, bionomics and structure. Cambridge University Press, Cambridge, 739 pp.

Connor ME, Monroe WM 1923. Stegomyia indices and their value in yellow fever control. Am. J. Trop. Med. Hyg. 3:9-19.

Consoli RAG, Lourenço-de-Oliveira R 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz. 225p.

Cunha MP, Lima JB, Brogdon WG, Moya GE, Valle D 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. Mem Inst Oswaldo Cruz 100: 441–444.

Degener CM, Eiras ÁE, Ázara TMF, Roque RA, Rösner S, Codeço C T, Nobre AA, Rocha ESO, Kroon EG, Ohly JJ, Geier M 2014. Evaluation of the Effectiveness of Mass Trapping with BG-Sentinel Traps for Dengue Vector Control: A Cluster Randomized Controlled Trial in Manaus, Brazil. J Med Entomol 51(2): 408-420.

Descloux E, Mangea M, Menkes CE, Lengaigne M, Leroy A, Tehei T, Guillaumot L, Teurlai M, Gourinat AC, Benzler J, Pfannstiel A, Grangeon JP, Degallier N, De Lamballerie X 2012. Climate-based models for understanding and forecasting dengue epidemics. PLoS Negl Trop Dis 6: e1470.

Detinova TS 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. Monogr Ser World Health Organ 47: 13–191.

Devine GJ, Perea EZ, Killeen GF, Stancil JD, Clark SJ, Morrison AC 2009. Using adult mosquitoes to transfer insecticides to Aedes aegypti larval habitats. Proc Natl Acad Sci USA 106: 11530–11534.

Edman JD, Scott TW, Costero A, Morrison AC, Harrington LC, Clark GG 1998. Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) movement influenced by availability of oviposition sites. J Med Entomol 35: 578–583.

Eiras AE, and Resende MC 2009. Preliminary evaluation of the 'Dengue-MI' technology for Aedes aegypti monitoring and control. Cad Saude Publica 25 Suppl 1: S45–58.

El-Sayed AM, Suckling DM, Wearing CH Byers, JA 2006. Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. J Econ Entomol 99: 1550–1564.

Englbrecht C, Geier M, Venturelli C 2009. Continuous trapping of adult Asian tiger mosquitoes (*Aedes albopictus*) with BG-Sentinel traps reduced the human landing rate and density indices in an urban environment in Cesena, Italy. 5th European Mosquito Control Association Workshop, Turin, Italy, 2009.

Faraway JJ 2005. Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models. Boca Raton, Chapman & Hall/CRC, 301 pp.

Farjana T, Tuno, N 2012. Effect of body size on multiple blood feeding and egg retention of Aedes aegypti (L.) and Aedes albopictus (Skuse) (Diptera: Culicidae). Med. Entomol. Zool. 63: 123–131.

Farnesi LC, Martins AJ, Valle D, Rezende GL 2009. Embryonic development of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. Mem Inst Oswaldo Cruz 104: 124–126.

Fávaro EA, Dibo MR, Mondini A, Ferreira AC, Barbosa AA, Eiras AE, Barata EA, Chiaravalloti-Neto F 2006. Physiological state of Aedes (Stegomyia) aegypti mosquitoes captured with MosquiTRAPs in Mirassol, Sao Paulo, Brazil. J Vector Ecol 31: 285–291.

Fávaro EA, Mondini A, Dibo MR, Barbosa AA, Eiras AE, Chiaravalloti-Neto FC 2008. Assessment of entomological indicators of Aedes aegypti (L.) from adult and egg collections in Sao Paulo, Brazil. J Vector Ecol 33: 8–16.

Favier C, Degallier N, Vilarinhos PT, Carvalho MS, Yoshizawa MA, Knox MB 2006. Effects of climate and different management strategies on Aedes aegypti breeding sites: a longitudinal survey in Brasilia (DF, Brazil). Trop Med Int Health 11: 1104–1118.

Fay RW, Eliason DA 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for Aedes aegypti: Mosquito News 26: 531–535.

Fé NF, Graças Vale Barbosa M, Alecrim WD, Guerra MV 2003. Registration of the occurrence of Aedes albopictus in an urban zone in Manaus, Amazonas, Brazil. Rev Saúde Publica 37: 674–675.

Figueiredo RM, Thatcher BD, Lima ML, Almeida TC, Alecrim WD, Guerra MV 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.

Figueiredo ML, Alfonso HL, Amarilla AA, Figueiredo LT, Aquino VH, Costa CA, Luz SL 2013a. Detection of DENV-4 genotype I from mosquitoes collected in the city of Manaus, Brazil. Virol J 10: 60.

Figueiredo MLG, Gomes AC, Amarilla AA, Leandro AS, Orrico AS, Araujo RF, Castro JSM, Durigon EL, Aquino VH, Figueiredo LTM 2010. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. Virol J 7: 152.

Figueiredo RM, Mourao, MP, Abi-Abib YE, Oliveira CM, Roque R, Azara T, Ohly J, Degener C, Geier M, Eiras AE 2013b. Identification of dengue viruses in naturally infected Aedes aegypti females captured with BioGents (BG)-Sentinel traps in Manaus, Amazonas, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 46: 60.

Figueiredo RM, Naveca FG, Bastos MS, Melo MN, Viana SS, Mourão, MP, Costa CA, Farias IP 2008. Dengue virus type 4, Manaus, Brazil. Emerg Infect Dis 14: 667–669.

Florida Medical Entomology Laboratory 1999. http://fmel.ifas.ufl.edu/research/exotic.shtml. Acessado em 24/02/2014.

Fontes G, Leite AB, Lima AR, Freitas H, Ehrenberg JP, Rocha EM 2012. Lymphatic filariasis in Brazil: epidemiological situation and outlook for elimination. Parasit Vectors 5: 272.

Focks DA 2003. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors: UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), 38 pp.

Forattini OP 2002. Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 860 pp.

Gama RA, Silva EM, Silva IM, Resende MC, Eiras AE 2007. Evaluation of the sticky MosquiTRAP for detecting Aedes (Stegomyia) aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) during the dry season in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Neotrop Entomol 36: 294–302.

Garrett-Jones C 1964. Prognosis for interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito's vectorial capacity. Nature 204: 1173–1175.

Geier M, Bosch OJ, Boeckh J 1999. Ammonia as an attractive component of host odour for the yellow fever mosquito, Aedes aegypti. Chem Senses 24: 647–653.

Gokhale MD, Barde PV, Sapkal GN, Gore MM, Mourya DT 2001. Vertical transmission of dengue-2 virus through Aedes albopictus mosquitoes. J Commun Dis 33: 212–215.

Gubler DJ 2005. The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. Rev Panam Salud Publica 17: 221–224.

Gubler DJ 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Clin Microbiol Rev 11: 480–496.

Gubler DJ 2011a. Dengue, Urbanization and Globalization: The Unholy Trinity of the 21(st) Century. Trop Med Health 39: 3–11.

Gubler DJ 2011b. Emerging vector-borne flavivirus diseases: are vaccines the solution? Expert Rev Vaccines 10: 563–565.

Halstead SB 2013. Dengue: the syndromic basis to pathogenesis research. Inutility of the 2009 WHO case definition. Am J Trop Med Hyg 88: 212–215.

Hapairai, LK, Joseph H, Sang MA, Melrose W, Ritchie SA, Burkot TR, Sinkins SP, Bossin HC 2013. Field evaluation of selected traps and lures for monitoring the filarial and arbovirus vector, Aedes polynesiensis (Diptera: Culicidae), in French Polynesia. J Med Entomol 50: 731–739.

Harris AF, Nimmo D, McKemey AR, Kelly N, Scaife S, Donnelly CA, Beech C, Petrie WD, Alphey L 2011. Field performance of engineered male mosquitoes. Nat Biotechnol 29: 1034–1037.

Hien DS 1976. Biology of Aedes aegypti (L., 1762) and Aedes albopictus (Skuse, 1895) Diptera, Culicidae. V. The gonotrophic cycle and oviposition. Acta Parasit Pol 24: 37–55.

Hoffmann AA, Montgomery BL, Popovici J, Iturbe-Ormaetxe I, Johnson PH, Muzzi F, Greenfield M, Durkan M, Leong YS, Dong Y., Cook H., Axford J., Callahan AG, Kenny N, Omodei C, McGraw EA, Ryan PA, Ritchie SA, Turelli M, O'Neill SL 2011. Successful establishment of Wolbachia in Aedes populations to suppress dengue transmission. Nature 476: 454–457.

Hombach J 2007. Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. Rev Panam Salud Publica 21: 254–260.

Honório NA, Codeço CT, Alves FC, Magalhães MA, Lourenco-de-Oliveira R 2009a. Temporal distribution of Aedes aegypti in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. J Med Entomol 46: 1001–1014.

Honório NA, Nogueira RM, Codeco CT, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhaes MA, Araujo JM, Araujo ES, Gomes MQ, Pinheiro LS, Silva Pinel C, Lourenço-de-Oliveira R 2009b. Spatial evaluation and modeling of Dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. PLoS Negl Trop Dis 3: e545.

Honório NA, Silva WC, Leite PJ, Goncalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R 2003. Dispersal of Aedes aegypti and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 98: 191–198.

Johnson PH, Spitzauer V, Ritchie SA 2012. Field sampling rate of BG-sentinel traps for Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in suburban Cairns, Australia. J Med Entomol 49: 29–34.

Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Deepayan S, R development core team 2010. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-97.

Juliano SA, Lounibos LP, 2005. Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. Ecol Lett 8: 558–574.

Kay BH, Nam VS, Van Tien T, Yen NT, Phong TV, Diep VTB, Ninh TU, Bektas A, Aaskov JG 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. The American journal of tropical medicine and hygiene 66: 40–48.

Kay B, Vu SN 2005. New strategy against Aedes aegypti in Vietnam. Lancet 365: 613–617.

Khin MM, Than KA 1983. Transovarial transmission of dengue 2 virus by Aedes aegypti in nature. Am J Trop Med Hyg 32: 590–594.

Kittayapong P, Yoksan S, Chansang U, Chansang C, Bhumiratana A 2008. Suppression of dengue transmission by application of integrated vector control strategies at sero-positive GIS-based foci. Am J Trop Med Hyg 78: 70–76.

Kline DL, Lemire GF 1998. Evaluation of attractant-baited traps/targets for mosquito management on Key Island, Florida, USA. J Vector Ecol 23: 171–185.

Kline DL 2006. Traps and trapping techniques for adult mosquito control. J Am Mosq Control Assoc 22: 490–496.

Koenraadt CJ, Harrington LC 2008. Flushing effect of rain on container-inhabiting mosquitoes Aedes aegypti and Culex pipiens (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 45: 28–35.

Korte RL, Fontes G, Camargo JS, Rocha EM, Araujo EA, Oliveira MZ, Santos RV, Camargo LM 2013. Survey of Bancroftian filariasis infection in humans and Culex mosquitoes in the western Brazilian Amazon region: implications for transmission and control. Rev Soc Bras Med Trop 46: 214–220.

Kouri GP, Guzman MG, Bravo JR, Triana C 1989. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. Bull World Health Organ v. 67: 375–380.

Kröckel U, Rose A, Eiras AE, Geier M 2006. New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. J Am Mosq Control Assoc 22: 229–238.

Kroeger A, Lenhart A, Ochoa M, Villegas E, Levy M, Alexander N, McCall PJ 2006. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomised trials. BMJ 332: 1247–1252.

Krueger A, Hagen RM 2007. Short communication: first record of Aedes albopictus in Gabon, Central Africa. Trop Med Int Health 12: 1105–1107.

Lacroix R, McKemey AR, Raduan N, Kwee Wee L, Hong Ming W, Guat Ney T, Rahidah AAS, Salman S, Subramaniam S, Nordin O, Hanum ATN., Angamuthu C, Marlina Mansor S, Lees RS, Naish N, Scaife S, Gray P, Labbe G, Beech C, Nimmo D, Alphey L, Vasan SS, Han Lim L, Wasi AN, Murad S 2012. Open Field Release of Genetically Engineered Sterile Male Aedes aegypti in Malaysia. PLoS One 7: e42771.

Lenhart A, Orelus N, Maskill R, Alexander N, Streit T, McCall PJ 2008. Insecticide-treated bednets to control dengue vectors: preliminary evidence from a controlled trial in Haiti. Trop Med Int Health 13: 56–67.

Lenhart A, Trongtokit Y, Alexander N, Apiwathnasorn C, Satimai W, Vanlerberghe V, Van der Stuyft P, McCall PJ 2013. A cluster-randomized trial of insecticide-treated curtains for dengue vector control in Thailand. Am J Trop Med Hyg 88: 254–259.

Lourenço-de-Oliveira R, Lima JB, Peres R, Alves FC, Eiras AE, Codeço CT 2008. Comparison of different uses of adult traps and ovitraps for assessing dengue vector infestation in endemic areas. J Am Mosq Control Assoc 24: 387–392.

Luz PM, Grinsztejn B, Galvani AP 2009. Disability adjusted life years lost to dengue in Brazil. Trop Med Int Health 14: 237–246.

Maciel-de-Freitas R, Codeço CT, Lourenço-de-Oliveira R 2007. Daily survival rates and dispersal of Aedes aegypti females in Rio de Janeiro, Brazil. Am J Trop Med Hyg 76: 659–665.

Maciel-de-Freitas R, Eiras AE, Lourenco-de-Oliveira R 2006. Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 101: 321–325.

Maciel-de-Freitas R, Eiras AE, Lourenco-de-Oliveira R 2008a. Calculating the survival rate and estimated population density of gravid Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) in Rio de Janeiro, Brazil. Cad Saude Publica 24: 2747–2754.

Maciel-de-Freitas R, Peres RC, Alves F, Brandolini MB 2008b. Mosquito traps designed to capture Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) females: preliminary comparison of Adultrap, MosquiTRAP and backpack aspirator efficiency in a dengue-endemic area of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 103: 602–605.

Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR 2004. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. Nat Med 10: S98–109.

Martins VE, Alencar CH, Kamimura MT, Carvalho AFM, Simone SG, Dutra RF, Guedes MI 2012. Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in Aedes aegypti and Aedes albopictus in Fortaleza, Ceara, Brazil. PLoS One 7: e41386.

McDonald PT 1977. Population characteristics of domestic Aedes aegypti (diptera: culicidae) in villages on the Kenya coast. II. Dispersal within and between villages. J Med Entomol 14: 49–53.

McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AW, Sidhu M, Wang YF, O'Neill SL 2009. Stable introduction of a life-shortening Wolbachia infection into the mosquito Aedes aegypti. Science 323: 141–144.

Medeiros Z, Dreyer G, Andrade LD, Pires ML, Mendes J, Pimentel R 1992. Wuchereria bancrofti microfilarial density of autochthonous cases and natural Culex infectivity rates in northeast Brazil. J Trop Med Hyg 95: 214–217.

Meeraus WH, Armistead JS, Arias JR 2008. Field comparison of novel and gold standard traps for collecting Aedes albopictus in Northern Virginia. J Am Mosq Control Assoc 24: 244–248.

Melo DP, Scherrer LR, Eiras AE 2012. Dengue Fever Occurrence and Vector Detection by Larval Survey, Ovitrap and MosquiTRAP: A Space-Time Clusters Analysis. PLoS One 7: e42125.

Meltzer MI, Rigau-Perez JG, Clark GG, Reiter P, Gubler DJ 1998. Using disability-adjusted life years to assess the economic impact of dengue in Puerto Rico: 1984-1994. Am J Trop Med Hyg 59: 265–271.

Mendez F, Barreto M, Arias JF, Rengifo G, Munoz J, Burbano ME, Parra B 2006. Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue-endemic region of Colombia. Am J Trop Med Hyg 74: 678–683.

Mendki MJ, Ganesan K, Prakash S, Suryanarayana MVS, Malhotra RC, Vaidyanathaswamy R 2000. Heneicosane: An oviposition-attractant pheromone of larval origin in Aedes aegypti mosquito. Current Science 78(11): 1295-1296.

MS/Fiocruz - Ministério da Saúde, Fundação do Instituto Oswaldo Cruz; Santos SM, Souza WV (organizadores) 2007. Introdução à estatística espacial para a Saúde Pública. Série B. Textos Básicos de Saúde, Série Capacitação e Atualização em Geoprocessamento em Saúde; 3). 120 pp.

MS/FUNASA - Ministério da Saúde/ Fundação Nacional de Saúde 2001. Dengue: instrução para pessoal de combate ao vetor. Manual de Normas Técnicas. Brasília, 83 pp.

MS/FUNASA - Ministério da Saúde/ Fundação Nacional de Saúde 2002. Programa Nacional de Controle da Dengue - PNCD. Brasília, 34 pp.

MS/SVS - Ministério da Saúde/ Secretaria de Vigilância em Saúde 2009a. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue: Série A. Normas e manuais técnicos.

MS/SVS - Ministério da Saúde/ Secretaria de Vigilância em Saúde 2009b. Guia de Vigilância Epidemiológica e Eliminação da Filariose Linfática. Brasília, 80 pp.

MS/SVS - Ministério da Saúde/ Secretaria de Vigilância em Saúde 2012. Levantamento Rápido de Índices para Aedes aegypti - LIRAa - para Vigilância Entomológica no Brasil. Metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e Tipo de Recipientes. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 84 pp.

Mogi M, Khamboonruang C, Choochote W, Suwanpanit P 1988. Ovitrap surveys of dengue vector mosquitoes in Chiang Mai, northern Thailand: seasonal shifts in relative abundance of Aedes albopictus and Ae. aegypti. Med Vet Entomol 2: 319–324.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gotzsche PC, Devereaux PJ, Elbourne D, Egger M, Altman DG 2010. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. BMJ 340: c869.

Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, Rocha BC, Hall-Mendelin S, Day A, Riegler M 2009. A Wolbachia symbiont in Aedes aegypti limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium: Cell 139: 1268–1278.

Mulhern TD 1985. New Jersey mechanical trap for mosquito surveys. (reprint from 1942). J Am Mosq Control Assoc 1: 411–418.

Mumford J, Quinlan MM, Beech C, Alphey L, Bayard V, Capurro ML, Kittayapong P, Knight JD, Marrelli MT, Ombongi K 2009. MosqGuide: A project to develop best practice guidance for the deployment of innovative genetic vector control strategies for malaria and dengue: AsPac J Mol Biol Biotechnol 17: 93–95.

Nam VS, Yen NT, Duc HM, Tu TC, Thang VT., Le NH, San LH, Loan LL, Huong VT, Khanh LH, Trang HT, Lam LZ, Kutcher SC, Aaskov JG, Jeffery JA, Ryan PA, Kay BH 2012. Community-Based Control of Aedes aegypti By Using Mesocyclops in Southern Vietnam. Am J Trop Med Hyg 86: 850–859.

Nasci RS 1991. Influence of larval and adult nutrition on biting persistence in Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 28: 522–526.

Nelson MJ 1986. Aedes aegypti: Biology and Ecology. PAHO, Washington, 50 pp.

Nogueira RM, Araújo JMG, Schatzmayr HG 2007. Dengue viruses in Brazil, 1986 - 2006. Rev Panam Salud Publica 22(5): 358-363.

Nogueira RM, Eppinghaus AL 2011. Dengue virus type 4 arrives in the state of Rio de Janeiro: a challenge for epidemiological surveillance and control. Mem Inst Oswaldo Cruz 106: 255–256.

Normile D 2013. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts: Science 342: 415.

O'Meara GF, Evans LFJ, Gettman AD, Cuda JP 1995. Spread of Aedes albopictus and decline of Ae. aegypti (Diptera: Culicidae) in Florida. J Med Entomol 32: 554–562.

Obermayr RP 2006. Bekämpfung von Schädlingspopulationen mit Hilfe von Fallensystemen. Dissertação apresentada no Instituto de Zoologia da Universidade de Regensburg, Alemanha, 76 pp.

Ocampo CB, Gonzalez C, Morales CA, Perez M, Wesson D, Apperson CS 2009. Evaluation of community-based strategies for Aedes aegypti control inside houses. Biomedica 29: 282–297.

Ordonez-Gonzalez JG, Mercado-Hernandez R, Flores-Suarez AE, Fernandez-Salas I 2001. The use of sticky ovitraps to estimate dispersal of Aedes aegypti in northeastern Mexico. J Am Mosq Control Assoc 17: 93–97.

Osanai CH, Travassos da Rosa AP, Tang AT, Amaral RS, Passos ADC, Tauil PL 1983. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. Nota prévia. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 25: 53-54.

PAHO 2014. Number of Reported Cases of Dengue and Severe Dengue (SD) in the Americas, by Country: Figures for 2013. http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=264&Itemid=363. Acessado em 23/02/2014.

Pamplona LGC, Lima JWO, Cunha JCL, Santana EWP 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: 400–404.

Paz-Soldan VA, Plasai V, Morrison AC, Rios-Lopez EJ, Guedez-Gonzales S, Grieco JP, Mundal K, Chareonviriyaphap T, Achee NL 2011. Initial assessment of the acceptability of a Push-Pull Aedes aegypti control strategy in Iquitos, Peru and Kanchanaburi, Thailand. Am J Trop Med Hyg 84: 208–217.

Pepin KM, Marques-Toledo C, Scherer L, Morais MM, Ellis B, Eiras AE 2013. Cost-effectiveness of novel system of mosquito surveillance and control, Brazil. Emerg Infect Dis 19: 542–550.

Perich MJ, Davila G, Turner A, Garcia A, Nelson M 2000. Behavior of resting Aedes aegypti (Culicidae: Diptera) and its relation to ultra-low volume adulticide efficacy in Panama City, Panama. J Med Entomol 37: 541–546.

Perich, MJ, Kardec A, Braga IA, Portal IF, Burge R, Zeichner BC, Brogdon WA, Wirtz RA 2003. Field evaluation of a lethal ovitrap against dengue vectors in Brazil. Med Vet Entomol 17: 205–210.

Pessanha JE, Caiaffa WT, Cesar CC, Proietti FA 2009. Avaliação do Plano Nacional de Controle da Dengue. Cad Saúde Pública 25: 1637–1641.

Pinheiro FP, Travassos da Rosa AP, Travassos da Rosa JF, Ishak R, Freitas RB, Gomes ML, LeDuc JW, Oliva OF 1981. Oropouche virus. I. A review of clinical, epidemiological, and ecological findings. Am J Trop Med Hyg 30: 149–160.

Pinheiro F, Nelson M 1997. Re-Emergence of Dengue and Emergence of Dengue Haemorrhagic Fever in the Americas. WHO Dengue Bulletin 21: 16-24.

Pinheiro JC, Bates DM 2000. Mixed-effects models in S and S-PLUS: Springer-Verlag, New York, 528 pp.

Ponlawat A, Harrington LC 2005. Blood feeding patterns of Aedes aegypti and Aedes albopictus in Thailand. J Med Entomol 42: 844–849.

Ponlawat A, Harrington LC 2009. Factors associated with male mating success of the dengue vector mosquito, Aedes aegypti. Am J Trop Med Hyg v. 80: 395–400.

R development Core Team 2010. R: A language and environment for statistical computing.

Rachou RG 1956. Transmissores da filariose bancroftiana no brasil. Rev Bras Malariol Doen Trop 8: 267–279.

Rapley LP, Johnson PH, Williams CR, Silcock RM, Larkman M, Long SA, Russell RC, Ritchie SA 2009. A lethal ovitrap-based mass trapping scheme for dengue control in Australia: II. Impact on populations of the mosquito Aedes aegypti. Med Vet Entomol 23: 303–316.

Reiter P, Amador MA, Colon N 1991. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of Aedes aegypti populations. J Am Mosq Control Assoc 7: 52–55.

Reiter P 2007. Oviposition, dispersal, and survival in Aedes aegypti: implications for the efficacy of control strategies: Vector-Borne and Zoonotic Diseases 7: 261–273.

Resende MC, Silva IM, Eiras ÁE 2010. Avaliação da operacionalidade da armadilha MosquiTRAP no monitoramento de Aedes aegypti. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 19(4):329-338.

Resende MC, Silva IM, Ellis BR, Eiras AE 2013. A comparison of larval, ovitrap and MosquiTRAP surveillance for Aedes (Stegomyia) aegypti. Mem Inst Oswaldo Cruz 108: 1024–1030.

Ríos-Velásquez CM, Codeço CT, Honório NA, Sabroza PS, Moresco M, Cunha IC, Levino A, Toledo LM, Luz SL 2007. Distribution of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 102: 617–623.

Ritchie SA, Long S, Hart A, Webb CE, Russell RC 2003. An adulticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. J Am Mosq Control Assoc 19: 235–242.

Ritchie SA, Long S, Smith G, Pyke A, Knox TB 2004. Entomological investigations in a focus of dengue transmission in Cairns, Queensland, Australia, by using the sticky ovitraps. J Med Entomol 41: 1–4.

Rocha EM, Fontes G 1998. Filariose bancroftiana no Brasil. Rev Saude Publica v. 32(1): 98–105.

Rocha ESO, Oliveira JG, Santos JR, Rodrigues GOL, Figueiredo LB, Pessanha JEM, Proietti FA, Fonseca FG, Bonjardim CA, Ferreira PCP, Kroon EG 2013. Recombinant envelope protein-based enzyme immunoassay for IgG antibodies is comparable to neutralization tests for epidemiological studies of dengue infection. J Virol Methods 187(1):114-120.

Rueda LM, Patel KJ, Axtell RC, Stinner RE 1990. Temperature-dependent development and survival rates of Culex quinquefasciatus and Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 27: 892–898.

Russell RC, Webb CE, Williams CR, Ritchie SA 2005. Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito Aedes aegypti in Cairns, Queensland, Australia. Med Vet Entomol 19: 451–457.

Sabchareon A, Wallace D, Sirivichayakul C, Limkittikul K, Chanthavanich P, Suvannadabba S, Jiwariyavej V, Dulyachai W, Pengsaa K, Wartel TA, Moureau A, Saville M, Bouckenooghe A, Viviani S, Tornieporth NG, Lang J 2012. Protective efficacy of the recombinant, live-attenuated, CYD tetravalent dengue vaccine in Thai schoolchildren: a randomised, controlled phase 2b trial. Lancet 380: 1559–1567.

Salazar FV, Achee NL, Grieco JP, Prabaripai A, Eisen L, Shah P, Chareonviriyaphap T 2012. Evaluation of a peridomestic mosquito trap for integration into an Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) push-pull control strategy. J Vector Ecol 37: 8–19.

San Martin JL, Brathwaite O, Zambrano B, Solorzano JO, Bouckenooghe A, Dayan GH, Guzman MG 2010. The epidemiology of dengue in the americas over the last three decades: a worrisome reality. Am J Trop Med Hyg 82: 128–135.

Sant'ana AL, Roque RA, Eiras AE 2006. Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to Aedes (Stegomyia) (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 43: 214–220.

Schatzmayr HG, Nogueira RM, Travassos da Rosa AP (1986) An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro-1986. Mem Inst Oswaldo Cruz 81: 245-246.

Schmaedick MA, Ball TS, Burkot TR, Gurr NE 2008. Evaluation of three traps for sampling Aedes polynesiensis and other mosquito species in American Samoa. J Am Mosq Control Assoc 24: 319–322.

Scott TW, Amerasinghe PH, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GG, Strickman D, Kittayapong P, Edman JD 2000. Longitudinal studies of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: blood feeding frequency. J Med Entomol 37: 89–101.

Scott TW, Chow E, Strickman D, Kittayapong P, Wirtz RA, Lorenz LH, Edman JD 1993a. Blood-feeding patterns of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) collected in a rural Thai village. J Med Entomol 30: 922–927.

Scott TW, Clark GG, Lorenz LH, Amerasinghe PH, Reiter P, Edman JD 1993b. Detection of multiple blood feeding in Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. J Med Entomol 30: 94–99.

Scott TW, Morrison AC, Lorenz LH, Clark GG, Strickman D, Kittayapong P, Zhou H, Edman JD 2000. Longitudinal studies of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. J Med Entomol 37: 77–88.

Seng CM, Setha T, Nealon J, Socheat D, Chantha N, Nathan MB 2008. Community-based use of the larvivorous fish Poecilia reticulata to control the dengue vector Aedes aegypti in domestic water storage containers in rural Cambodia. J Vector Ecol 33: 139–144.

Serufo JC, Oca HM, Tavares VA, Souza AM, Rosa RV, Jamal MC, Lemos JR, Oliveira MA, Nogueira RM, Schatzmayr HG 1993. Isolation of dengue virus type 1 from larvae of Aedes albopictus in Campos Altos city, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 88: 503–504.

Shepard DS, Coudeville L, Halasa YA, Zambrano B, Dayan GH 2011. Economic impact of dengue illness in the Americas. Am J Trop Med Hyg 84: 200–207.

Shepard DS, Suaya JA, Halstead SB, Nathan MB, Gubler DJ, Mahoney RT, Wang DN, Meltzer MI, 2004. Cost-effectiveness of a pediatric dengue vaccine. Vaccine 22: 1275–1280.

Siler JF, Hall MMW, Hitchens MAP 1925. Transmission of dengue fever by mosquitoes. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY) 23(3): 197–201.

SINAN 2014. DENGUE - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. http://dtr2004.saude.gov.br/ sinanweb/tabnet/dh?sinan/dengue/ Acessado em 23/02/2014.

Sithiprasasna R, Mahapibul P, Noigamol C, Perich MJ, Zeichner BC, Burge B, Norris SL, Jones JW, Schleich SS, Coleman RE, 2003. Field evaluation of a lethal ovitrap for the control of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in Thailand. J Med Entomol 40: 455–462.

Srikiatkhachorn A, Rothman AL, Gibbons RV, Sittisombut N, Malasit P, Ennis FA, Nimmannitya S, Kalayanarooj S 2011. Dengue-how best to classify it. Clin Infect Dis 53: 563–567.

Steffler LM, Marteis LS, Dolabella SS, Cavalcanti SC, Santos RL 2011. Risk of dengue occurrence based on the capture of gravid Aedes aegypti females using MosquiTRAP. Mem Inst Oswaldo Cruz 106: 365–367.

Suaya JA, Shepard DS, Siqueira JB, Martelli CT, Lum LCS, Tan LH, Kongsin S, Jiamton S, Garrido F, Montoya R 2009. Cost of dengue cases in eight countries in the Americas and Asia: a prospective study. Am J Trop Med Hyg 80: 846–855.

Sudia WD, Chamberlain RW 1988. Battery-operated light trap, an improved model. By W. D. Sudia and R. W. Chamberlain, 1962. J Am Mosq Control Assoc 4: 536–538.

Taliberti H, Zucchi P 2010. Direct costs of the dengue fever control and prevention program in 2005 in the City of São Paulo. Revista Panamericana de Salud Pública 27: 175–180.

TDR/WHO 2007. Report of Dengue Scientific Working Group: WHO, Geneva, 160 pp.

Teixeira MG 2012. Few characteristics of dengue's fever epidemiology in Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 54 Suppl 18: S1–4.

Teixeira MG, Siqueira JBJ, Ferreira GL, Bricks L, Joint G 2013. Epidemiological trends of dengue disease in Brazil (2000-2010): a systematic literature search and analysis. PLoS Negl Trop Dis 7: e2520.

Thammapalo S, Meksawi S, Chongsuvivatwong V 2012. Effectiveness of Space Spraying on the Transmission of Dengue/Dengue Hemorrhagic Fever (DF/DHF) in an Urban Area of Southern Thailand. J Trop Med 2012: 652564.

Trpis M, Hausermann W 1986. Dispersal and other population parameters of Aedes aegypti in an African village and their possible significance in epidemiology of vector-borne diseases. Am J Trop Med Hyg 35: 1263–1279.

Vale GA, Lovemore DF, Flint S, Cockbill GF 1988. Odour-baited targets to control tsetse flies, Glossina spp.(Diptera: Glossinidae) in Zimbabwe: Bulletin of Entomological Research 78: 31–49.

Vanlerberghe V, Villegas E, Oviedo M, Baly A, Lenhart A, McCall PJ, Van der Stuyft P 2011. Evaluation of the effectiveness of insecticide treated materials for household level dengue vector control. PLoS Negl Trop Dis 5: e994.

Vezzani D, Velazquez SM, Schweigmann N 2004. Seasonal pattern of abundance of Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires City, Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz 99: 351–356.

Vilela AP, Figueiredo LB, Santos JR, Eiras AE, Bonjardim CA, Ferreira PC, Kroon EG 2010. Dengue virus 3 genotype I in Aedes aegypti mosquitoes and eggs, Brazil, 2005-2006. Emerg Infect Dis v. 16, p, 989–992.

Wallace D, Canouet V, Garbes P, Wartel TA 2013. Challenges in the clinical development of a dengue vaccine. Curr Opin Virol 3: 352–356.

Watts DM, Burke DS, Harrison BA, Whitmire RE, Nisalak A 1987. Effect of temperature on the vector efficiency of Aedes aegypti for dengue 2 virus. Am J Trop Med Hyg v. 36: 143–152.

WHO 1997. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. 84 pp.

WHO 2009, Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition.

WHO 2013. Dengue and severe dengue: Fact sheet No 117. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/. Acessado em 04/10/2013.

Wikipédia. http://en.wikipedia.org/wiki/Sete_Lagoas. Acessado em 28/02/2014.

Wilke AB, Marrelli MT 2012. Genetic Control of Mosquitoes: population suppression strategies. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 54: 287–292.

Willemse L 1991. A trial of odour baited targets to control the tsetse fly, Glossina morsitans centralis (Diptera: Glossinidae) in west Zambia: Bulletin of Entomological Research 81: 351–357.

Williams CR, Leach KJ, Wilson NJ, Swart VR 2008. The Allee effect in site choice behaviour of egg-laying dengue vector mosquitoes. Trop Biomed 25: 140–144.

Williams CR, Long SA, Russell RC, Ritchie SA 2006. Field efficacy of the BG-Sentinel compared with CDC Backpack Aspirators and CO2-baited EVS traps for collection of adult Aedes aegypti in Cairns, Queensland, Australia. J Am Mosq Control Assoc 22: 296–300.

Williams CR, Long SA, Webb CE, Bitzhenner M, Geier M, Russell RC, Ritchie SA 2007. Aedes aegypti population sampling using BG-Sentinel traps in north Queensland Australia: statistical considerations for trap deployment and sampling strategy. J Med Entomol 44: 345–350.

Wise de Valdez MR, Nimmo D, Betz J, Gong HF, James AA, Alphey L, Black WC 2011. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. Proc Natl Acad Sci USA 108: 4772–4775.

Wong J, Stoddard ST, Astete H, Morrison AC, Scott TW 2011. Oviposition site selection by the dengue vector Aedes aegypti and its implications for dengue control. PLoS Negl Trop Dis 5: e1015.

Wood S 2006. Generalized Additive Models: An introduction with R. Chapman and Hall/CRC, Boca raton, 384 pp.

Zar JH 2010. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River NJ, 944 pp.

Zeichner BC, Perich MJ 1999. Laboratory testing of a lethal ovitrap for Aedes aegypti. Med Vet Entomol 13: 234–238.

Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R: Springer, New York, 600 pp.