

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

HENRIQUE RAFAEL PONTES FERREIRA

PERFIL EPIDEMIOLOGICO E MOLECULAR DA DENGUE NO MUNICÍPIO
DE PICOS, PIAUÍ

PICOS – PI

2017

HENRIQUE RAFAEL PONTES FERREIRA

**PERFIL EPIDEMIOLOGICO E MOLECULAR DA DENGUE NO MUNICÍPIO
DE PICOS, PIAUÍ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Piauí, Campus
Senador Helvídio Nunes de Barros, como parte
dos requisitos necessários para obtenção do
título de licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Maria Mendes
Marques.

PICOS – PI

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí

Biblioteca José Albano de Macêdo

F383p Ferreira, Henrique Rafael Pontes

Perfil epidemiológico e molecular da dengue no município de Picos, Piauí /
Henrique Rafael Pontes Ferreira.– 2017.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (58 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências
Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2018.

Orientador(A): Prof^ª. Dra. Márcia Maria Mendes Marques

1. *Aedes Aegypti*. 2. Genotipagem. 3. Vírus da Dengue. I. Título.

CDD 614.675

HENRIQUE RAFAEL PONTES FERREIRA

**PERFIL EPIDEMIOLOGICO E MOLECULAR DA DENGUE NO MUNICÍPIO
DE PICOS, PIAUÍ**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal do
Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de
Barros, como parte dos requisitos
necessários para obtenção do título de
licenciado em Ciências Biológicas.

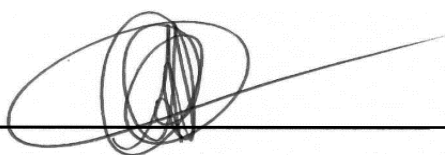
Monografia aprovada em:

05/07/2017

BANCA EXAMINADORA



Orientadora: Profa. Dra. Marcia Maria Mendes Marques
Curso de Ciências Biológicas - UFPI/CSHNB



Primeira Examinadora: Profa. Dra. Ana Carolina Landim Pacheco
Curso de Ciências Biológicas - UFPI/CSHNB



Segundo Examinador: Prof. Dr. Edson Lourenço Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI

PICOS –PI

2017

Dedico este trabalho a minha família por todo o incentivo, e por sempre acreditarem no meu esforço e a meus amigos. E com muita gratidão à minha orientadora Marcia Maria Mendes Marques.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus, este que me proporciona vida, paz e sabedoria para lidar com todas as dificuldades que segue a cada dia, acima de tudo é ele o meu pai fortalecedor, e está comigo a todo o instante.

Minhas mães maravilhosas, Maria de Lourdes e Marina da concepção, que me deram a vida, me deram a oportunidade de viver, o meu sincero agradecimento e amor para essas mulheres batalhadoras, minha fonte de inspiração.

Meus irmãos Raul Filho e Daniela Santana que sempre me apoiaram, muito obrigado por existirem em minha vida.

Minha orientadora Profa. Dra. Márcia Maria Mendes Marques, agradeço pela confiança, e por todas as oportunidades que me proporcionou, sendo decisivas para minha formação, sendo minha grande inspiração, como professora, profissional e ser humano. Muito obrigado por tudo.

Agradeço também a Profa. Dra. Ana Carolina Landim Pacheco, ao Prof. Dr. Paulo Victor de Oliveira, a Profa. Dra. Maria Carolina de Abreu e a Profa. Patrícia de Sousa Gonzaga, que me incentivaram profundamente no decorrer da minha formação, por meio de suas competências, sendo profissionais exemplares a quais tenho grande admiração. Meu muito obrigado por tudo.

Ao grupo de pesquisa LAPEDONE, eu agradeço em especial ao Lucas Emanuel, Jailson Santana e Ramila Alencar, pois sem o esforço de vocês este trabalho não teria sentido, agradeço muito por vocês entrarem na minha vida. Que possamos seguir juntos em frente em futuras pesquisas.

Ao Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular da UECE, empresa Greenbean, em Nome da Profa. Dra. Izabel Florindo Guedes, Prof. Bruno Bezerra da Silva e ao Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins.

A dona Zenilde Landim Pacheco, agradeço muito por Deus ter colocado uma pessoa tão iluminada no nosso caminho, muito obrigado por todos os conselhos, pela hospitalidade no período que estávamos em Fortaleza, a senhora tem uma parcela muito grande nos resultados deste trabalho.

E os meus amigos/irmãos/companheiros João Caio, Junim Rodrigues, Wictor Stefan, Tamires Muniz, Luma Patrícia, Jussara Damascena, Edyte Moraes, Kennyana Miranda, Rafanyelle Araújo, Mariana Rodrigues, Rayla Caroline, Maura Gêssica,

Aparecida Rocha, Augusto César, Maria Daniela, Jessica Monteiro Luz, Michele Vieira. Estes que presenciaram todo o decorrer da minha formação, entraram em minha vida para somar, agradeço muito pela nossa amizade, pela companhia proporcionada, cada um de vocês foram fundamentais para a minha formação, me fazendo feliz por existir a cada dia.

A todos, o meu muito obrigado, que nossa luta seja contínua e nossas conquistas sejam alcançadas, amém.

"Precisamos dar um sentido humano às nossas construções. E, quando o amor ao dinheiro, ao sucesso nos estiver deixando cegos, saibamos fazer pausas para olhar os lírios do campo e as aves do céu."

(Érico Veríssimo)

RESUMO

A Dengue se tornou nos anos um problema de saúde pública mundial, é endêmica em mais de 100 países. Com a circulação de quatro sorotipos distintos (DENV 1-4), a falta de uma vacina eficaz contra os mesmos vem aumentando os casos da doença. No Brasil é transmitido ao homem por duas espécies de mosquitos do gênero *Aedes* (*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*), ao realizarem o repasto sanguíneo, o vírus é inoculado (Transmissão Horizontal). O mosquito é capaz de transmitir o vírus para sua prole por meio da transmissão vertical ou transovariana, aumentando assim a capacidade de sobrevivência do vírus. O objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento epidemiológico e genotipagem do vírus Dengue circulante em mosquitos *A. aegypti*, capturados na zona urbana do município de Picos, estado do Piauí. Inicialmente foi coletado dados vetoriais dos anos de 2015 e 2016 no Centro de Controle de Zoonoses do município, acerca do Índice de Infestação Predial (IIP), tipos de criadouros e os bairros de maior infestação de larvas do *A. aegypti*. A coleta de formas imaturas do *A. aegypti* no ano de 2017 foi feita com o uso de 36 larvitampas distribuídas em 12 bairros do município, realizada durante o período de fevereiro a junho de 2017. Para a extração do vírus da dengue, foi utilizado três *pools*, contendo seis mosquitos alados por *pool*, a partir do kit de extração QIAmp Viral RNA mini kit (Qiagen). Após a extração o RNA foi submetido a RT-PCR, e em seguida uma reação Semi Nested PCR. Os resultados epidemiológicos mostraram uma diminuição no Índice de Infestação Predial de 0,4 para 0,2, onde manteve baixo risco para surto de Dengue, os recipientes do tipo A2 (caixas d'água) prevaleceu nos pontos focais notificados e os bairros que se destacaram, no ano de 2015 foi o bairro Morada do Sol e em 2016 o bairro Paroquial. Foi possível coletar com larvitampas 1.476 larvas de *A. aegypti*, sendo capazes de se desenvolver para o estágio adulto 791 larvas (53,59%) (469 machos e 322 fêmeas). Houve a positividade para DENV 1 e DENV 3 dentre os *pools* de *A. aegypti* analisados. Este foi o primeiro trabalho no estado do Piauí, que relata a tipagem do vírus dengue em mosquitos *A. aegypti* naturalmente infectados. O monitoramento da circulação viral em mosquitos e pode servir como advertência para os sistemas de monitoramento de surtos de dengue prevenindo epidemias.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Genotipagem. Vírus Dengue.

ABSTRACT

Dengue has become a global public health problem in the years, it is endemic in more than 100 countries. With the circulation of four distinct serotypes (DENV 1-4), the lack of an effective vaccine against them has increased the cases of the disease. In Brazil it is transmitted to man by two species of mosquitoes of the genus *Aedes* (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*), when they perform the blood repast, the virus is inoculated (Horizontal Transmission). The mosquito is able to transmit the virus to its offspring by means of the vertical or transovarian transmission, thus increasing the survival capacity of the virus. The objective of this work was to carry out an epidemiological survey and genotyping of the circulating dengue virus in *A. aegypti* mosquitoes, captured in the urban area of the municipality of Picos, state of Piauí. Initially, we collected vector data from the years 2015 and 2016 at the Center for Zoonoses Control of the municipality, about the Infestation Index (PII), breeding types and the neighborhoods with the highest infestation of *A. aegypti* larvae. The collection of immature forms in the year 2017 of *A. aegypti* in the year 2017 was done with the use of 36 larvitrams distributed in 12 districts of the municipality, carried out during the period from February to June of 2017. For the extraction of the virus Dengue, three pools, containing six winged mosquitoes per pool, were used from the QIAmp Viral RNA mini kit (Qiagen) extraction kit. After extraction the RNA was subjected to RT-PCR, and then a Semi Nested PCR reaction. Epidemiological results showed a decrease in the Predales Infestation Index from 0.4 to 0.2, where it maintained a low risk for Dengue outbreaks, type A2 receptacles (water boxes) prevailed at the notified focal points and Highlighted in the year 2015 was the neighborhood Morada do Sol and in 2016 the Parish neighborhood. It was possible to collect larval larvae of 1,476 *A. aegypti* larvae, and 791 larvae (53.59%) (469 males and 322 females) were able to develop for the adult stage. There was positivity for DENV 1 and DENV 3 among the *A. aegypti* pools analyzed. This was the first work in the state of Piauí, which reports the typing of the dengue virus in naturally infected *A. aegypti* mosquitoes. Monitoring viral circulation in mosquitoes and can serve as a warning for dengue outbreak monitoring systems to prevent epidemics.

Key-words: *Aedes aegypti*. Genotyping. Dengue Virus

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - Percentagem

°C – Graus Celcius

μL – Microlitro

ACE – Agente de Controle de Endemias

A. aegypti – *Aedes aegypti*

A. albopictus – *Aedes albopictus*

CCZ – Centro de Controle de Zoonoses

cDNA – Ácido Desoxirribonucleico complementar ou DNA complementar

cm – Centímetro

d.C. – Depois de Cristo

DENV – Vírus Dengue

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DNase - Desoxirribonuclease

dNTP - Desoxirribonucleotídeos Trifosfatados

DTT – Ditioneitol

ELISA – Linked Immunosorbent Assay (Ensaio Imunoenzimático)

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

IIP – Índice de Infestação Predial

kDa – Quilodalton

Km² - Quilômetro quadrado

LIRAA – Levantamento de Índice Rápido para *Aedes aegypti*

M – Molar

Mg - Miligrama

mL – Mililitro

mM - Milimolar

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Polimerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)

PAHO – Pan American Health Organization (Organização Pan-Americana de Saúde)

pb – Pares de bases

prM – Proteína precursora da Proteína da Membrana

RNA – Ácido Ribonucleico

RNase – Ribonuclease

RT – Reverse Transcriptase (Transcriptase Reversa)

SISFAD – Sistema de Informação da Febre Amarela e Dengue

Taq DNA polimerase – *Thermus aquaticus* DNA polimerase

UECE – Universidade Estadual do Ceará

UFPI – Universidade Federal do Piauí

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mosquito <i>Aedes aegypti</i> adulto	21
Figura 2 – (A) características morfológicas presentes em Machos de <i>Aedes aegypti</i> ; (B) características morfológicas presente em Fêmeas de <i>Aedes aegypti</i>	22
Figura 3 – Organização do genoma do vírus da Dengue.....	23
Figura 4 – Armadilha Larvitampa confeccionada de pneu, medidas: 40 cm de comprimento, 8 cm de largura e 28 cm de circunferência.....	30
Figura 5 – Mapeamento nos locais de montagem das larvitampas para a captura do <i>Aedes aegypti</i> no município de Picos	31
Figura 6 – Larvas do <i>Aedes aegypti</i> coletados em campo, mantidas em laboratório. Destaque para as espículas laterotorácicas bastante desenvolvidas	33
Figura 7 - (A) recipiente utilizado para manutenção da pupa do <i>Aedes aegypti</i> ; (B) gaiola confeccionada para a manutenção dos mosquitos alados de <i>Aedes aegypti</i>	34
Figura 8 – Preferência dos tipos de criadouros usados na ovoposição do mosquito <i>Aedes aegypti</i> encontrados nos anos de 2015 e 2016.....	38
Figura 9 – Distribuição dos pontos focais e quantidade de larvas do mosquito <i>Aedes aegypti</i> coletadas pelo CCZ nos anos de 2015 e 2016.	39
Figura 10 – Abundância de mosquitos adultos <i>Aedes aegypti</i> machos e fêmeas criados no laboratório.....	40
Figura 11 – Distribuição de larvas do <i>Aedes aegypti</i> coletados nas larvitampas distribuídas nos bairros do município de Picos.	41
Figura 13 – Resultado da RT-PCR em Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo 1%.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos tipos de criadouros de ovoposição do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	20
Tabela 2 – Disposição de Larvitrapas, destacando a quantidade por bairro e o número da armadilha, localizadas na Zona Urbana do Município de Picos, Piauí.....	32
Tabela 3 - Primers (oligonucleotídeos iniciadores) utilizados nas reações de RT-PCR/nested-PCR	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Histórico e Epidemiologia da Dengue	17
2.2 Manifestações Clínicas da Dengue e Diagnóstico.....	18
2.3 <i>Aedes aegypti</i> e Transmissão do Vírus Dengue.....	19
2.4 Agente Etiológico e Variabilidade Genética	22
2.5 Tratamento, Prevenção e Controle Vetorial	25
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo Geral	28
3.2 Objetivos Específicos	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Área de Estudo	29
4.2 Coleta de Dados do Monitoramento do Mosquito <i>Aedes aegypti</i> no Centro de Controle de Zoonoses	29
4.3 Coleta de Espécimes do Mosquito <i>Aedes aegypti</i> em Campo.....	29
4.3.1 Instalação do método de coleta do <i>A. aegypti</i> utilizando larvitampas	30
4.3.2 Período de coleta de larvas	32
4.3.3 Manutenção e caracterização das formas imaturas e da forma adulta do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	33
4.4 Detecção e Identificação Viral	34
4.4.1 Preparação dos espécimes para a extração do vírus da Dengue	34
4.4.2 Extração do RNA viral	35
4.4.3 RT – PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction)	35
4.4.4 NESTED – PCR	36
5 RESULTADOS	38
5.1 Dados do Controle do Mosquito <i>Aedes aegypti</i> Coletados no Centro de Controle de Zoonoses.....	38
5.2 Coleta de Formas Imaturas de <i>Aedes aegypti</i> Utilizando Larvitampas.....	40
5.3 Detecção do Vírus Dengue em Amostras de <i>Aedes aegypti</i> por Meio da RT-PCR. 43	
6 DISCUSSÃO	45
7 CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A Dengue constitui um grande desafio à saúde pública no mundo, é uma doença essencialmente urbana e tem se manifestado em forma de epidemias em diversas regiões do mundo, principalmente em áreas tropicais e subtropicais. Cerca de 2,4 milhões de casos são registrados por ano, e resulta em aproximadamente 20 mil óbitos, principalmente de crianças. A doença é endêmica em mais de 100 países nas Américas, África, sudeste da Ásia, no Pacífico ocidental e leste do Mediterrâneo (LUPI, 2011; WHO, 2016; PAHO, 2016).

O Brasil registrou aproximadamente 63% dos casos de dengue na América Latina no ano de 2016, com co-circulação dos quatro sorotipos do vírus Dengue (DENV 1, 2, 3 e 4) e alta taxa de dengue severa e óbito (PAHO, 2016). A circulação dos quatro sorotipos concomitantemente, pode prenunciar epidemias mais frequentes e severas de dengue no país. Mundialmente, o desafio das autoridades sanitárias é reverter a tendência de aumento das epidemias promovendo ações que visam principalmente o controle vetorial. Nas américas o vírus da Dengue é transmitido principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e, em menor grau, pelo *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; PAHO, 2016)

Vários fatores biológicos e antropogênicos são atribuídos à mudança na epidemiologia da dengue e o comportamento do vetor: mudanças demográficas em populações humanas, urbanização, velocidade e volume de tráfego internacional, introdução de novos genótipos do dengue, fracasso dos programas de erradicação de vetores, e picos sazonais na população do vetor e da dengue (MOHAMMED; CHADEE, 2011).

Observa-se que as medidas tomadas para o controle do vetor, se tornam de grande importância, pois o *A. aegypti* se tornou apto na transmissão de outras arboviroses, como o vírus da febre Chikungunya e Zika Vírus (VEGA-RÚA et al., 2014).

Pesquisas sobre levantamento epidemiológico da dengue têm sido bastante exploradas nos últimos anos e, a partir delas, tem-se produzidos mapas de risco da doença, apresentando um melhor direcionamento dos órgãos de saúde para seu controle (SCHATZMAYR et al., 2000). Amostras clínicas e mosquitos vetores vêm sendo utilizados para a vigilância de epidemias, evitando surtos de dengue, uma vez que, o DENV pode ser isolado dessas amostras e detectado o sorotipo do vírus dengue através

da técnica de transcrição reversa seguida por reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) (ZEIDLER et al., 2008).

A epidemiologia molecular é capaz de identificar variantes genéticas mais virulentas, as quais podem estar relacionadas com o surgimento de formas severas da doença, assim como prover conhecimentos acerca de sua distribuição geográfica.

A vigilância epidemiológica é a uma ferramenta importante no combate à dengue, visto que, ainda não existe tratamento preventivo e/ou curativo para essa doença e as ações de combate está restrito a eliminação do mosquito transmissor, *Aedes aegypti*. O presente trabalho promoverá informações que poderão ser usados por órgãos competentes da vigilância epidemiológica no Município de Picos para a prevenção e controle da Dengue.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico e Epidemiologia da Dengue

A dengue é uma doença de infecção viral aguda de quadro febril, com complicações potencialmente fatais. As primeiras epidemias de dengue clinicamente reconhecidas ocorreram na década de 1780, nos continentes, Asiático, Africano e Americano (GUPTA et al., 2012; RODRIGUEZ-ROCHE; GOULD, 2013).

Sintomas compatíveis com a dengue foram primeiramente relatados em uma enciclopédia chinesa publicada por volta de 265 a 450 d.C. O primeiro surto da doença foi descrito em 1635, na região das Índias Francesas Ocidentais (GUBLER; KUNO, 1998).

A dengue é endêmica em mais de 100 países, abrangendo o sudeste da Ásia, no Pacífico Ocidental, na América Central e do Sul, no Caribe e na África. Estudos estimam que cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem nessas áreas, com a ocorrência de 50 a 100 milhões de casos por ano e cerca de 22.000 mortes, principalmente de crianças (GUPTA et al., 2012; RODRIGUEZ ROCHE; GOULD, 2013).

No Brasil, o primeiro registro de dengue aconteceu no ano de 1846 em uma epidemia que atingiu principalmente os Estados do Rio Janeiro, São Paulo e Bahia. Hoje, a doença é encontrada em quase todo país, com epidemias registradas a cada ano (TEIXEIRA et al, 1999). Apesar da existência de esforços dirigidos a ação de controle epidemiológico, ainda é expressivo o número de casos de dengue. Em 2015, o Brasil registrou aproximadamente 73 mil casos, com a circulação simultânea dos 4 sorotipos virais (BRASIL, 2015).

O Piauí, pertencente a região Nordeste do Brasil, possui uma área de 251.611,186 km², com uma população estimada de 3.212.180 habitantes (IBGE, 2017). A dengue no estado é um problema de saúde pública desde a década de 90, onde tem-se os primeiros registros da doença. A primeira notificação ocorreu em Teresina e posteriormente ocorreu a disseminação no estado, decorrido da presença da doença em outros estados fronteiriços (FIGUEIREDO, 1996). Em 2015, foi registrado 7.618 casos suspeitos de dengue no estado, com uma redução de 0,8% em relação ao ano de 2014. Os municípios que mais registraram casos foram respectivamente: Teresina (4543); Picos (302); Parnaíba (215) e São Raimundo Nonato (80) (SESAPI, 2016).

No ano de 2016, houve uma queda de 32,3% nos números de dengue se comparado com o ano de 2015, no estado, com a notificação de 5.219 casos, os registros foram realizados por 149 municípios piauienses e as cidades com maior número de casos prováveis notificados de dengue foram: Teresina (3.092); Cocal (220); Simões (182); Picos (113) e Parnaíba (108) (SESAPI, 2017).

2.2 Manifestações Clínicas da Dengue e Diagnóstico

As manifestações clínicas da Dengue podem variar, de infecções assintomáticas a formas leves como a dengue clássica e podem evoluir para formas graves como a febre hemorrágica da dengue e a síndrome de choque da dengue, podendo ocorrer por qualquer um dos 4 sorotipos (DENV1-4) (VASILASKI et al., 2011).

As infecções assintomáticas, possuem grande importância epidemiológica, pois consistem em uma fonte silenciosa de transmissão do vírus, pois vários sinais e sintomas são compartilhados com outras doenças. Assim portadores desta infecção acabam passando despercebidos pelo sistema de vigilância sem a notificação feita pelos órgãos de saúde, facilitando a disseminação geográfica (VASCONCELOS et al., 1998; VASILASKI et al., 2011).

A fase aguda da Dengue inicia-se com febre acompanhada por dores de cabeça frontais e dor retro orbital, seguida por uma variedade de possíveis sintomas, tais como mialgia, artralgia, vômitos e fraqueza. Sendo raramente fatal, a maioria dos pacientes se recupera sem complicações em torno de dez dias após o início da doença. O quadro clínico grave, tem nos sintomas a tendência hemorrágica com o teste torniquete evidenciando petéquias, hemorragias em locais de punção venosa e sangramento gengival (RODRIGUES-ROCHE; GOLD, 2013). A Síndrome de choque da Dengue é responsável pela elevada mortalidade. Nestes casos o extravasamento plasmático gera uma insuficiência circulatória, podendo ocorrer hemorragia maciça ou encefalopatia, necessitando de transfusão sanguínea intensiva (TEO; NG; LAM, 2009).

O diagnóstico da infecção por dengue pode ser feito de acordo com os dados clínicos, epidemiológicos e testes laboratoriais que detectam a presença do vírus, a partir do isolamento viral e testes moleculares ou métodos para determinação de anticorpos por meio de testes sorológicos (CABEZAS, 2005).

O MAC ELISA é o método de diagnóstico clínico da dengue mais utilizado com a capacidade de detectar os anticorpos classes IgM e IgG, no sorotipo do paciente com amostra colhida a partir do sexto dia após o início dos sintomas além do isolamento viral.

Para o isolamento do vírus dengue é mais utilizado linhagens de células C6/36 de larvas de *Ae. albopictus*. Depois de um período de 7 a 10 dias pós inoculação, em cultura de células, a confirmação do isolamento e identificação viral pode ser feita por imunofluorescência indireta e por RT-PCR (SAMUEL; TYAGI, 2006).

Nos últimos anos, várias técnicas de diagnóstico molecular foram desenvolvidas e utilizadas para o diagnóstico de dengue dentre elas a técnica de RT-PCR, que pode ser aplicado no diagnóstico de dengue a partir de soro, tecidos de casos fatais, pool de mosquitos e cultura de células infectadas (SAMUEL; TYAGI, 2006).

2.3 *Aedes aegypti* e Transmissão do Vírus Dengue

Os principais transmissores do DENV são os mosquitos do gênero *Aedes*, pertencentes à família Culicidae subfamília Culicinae, sobretudo o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

O *A. aegypti* é originário do continente Africano e, provavelmente, chegou nas Américas no processo de colonização, século XVI, período de intenso tráfego de navios negreiros (FORATTINI, 2002). É generalizado nas Américas como o principal vetor do vírus da dengue, sendo o mais distribuído no Brasil (VEGA-RUA et al., 2014; SCAPR, 2016).

Nas cidades brasileiras o *A. aegypti* é encontrado principalmente nos locais de maior concentração humana. Os criadouros preferenciais do mosquito são os recipientes artificiais, no domicílio ou peridomicílio, representados, principalmente por pneus, latas, vidros, cacos de garrafa, pratos de vasos e xaxins, vasos de cemitério, caixas d'água, tonéis, latões e cisternas destapadas ou mal tapadas, ou mesmo, lagos artificiais, piscinas e aquários, principalmente sombreados e de fundo ou paredes escuras (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; BRAGA; VALE, 2007).

O Ministério da Saúde, (2013) classifica os tipos de criadouros mais frequentes para a ovoposição do *A. aegypti* de acordo com a tabela abaixo:

Tabela 1 – Classificação dos tipos de criadouros de ovoposição do mosquito *Aedes aegypti*.

Criadouros	
A1	Caixas d'água (elevado)
A2	Outros depósitos que armazenam água
B	Pequenos depósitos moveis
C	Depósitos fixos
D1	Pneu e outros materiais rodantes
D2	Lixo (recipientes plásticos, latas) sucatas, entulhos
E	Depósitos naturais

Fonte (BRASIL, 2013)

As fêmeas de *A. aegypti* alimentam-se mais de uma vez entre duas ovoposições seguidas, tendo como preferência o período diurno (GUBLER; KUNO, 1998). Os ovos do *A. aegypti* são colocados em grupos (10-30 ovos/criadouro) depositados nas paredes internas dos depósitos, próximos à superfície da água (NEVES et al, 2007).

No momento da postura os ovos são brancos, mas, rapidamente, adquirem a cor negra brilhante, podendo suportar condições adversas como baixas temperaturas e dessecação, entrando em um estado de dormência, conhecida como quiescência, permanecendo viáveis por vários meses, sendo uma estratégia de sobrevivência dos mosquitos, e favorecem a disseminação do mosquito *A. aegypti* por amplas áreas geográficas, por meio do transporte de ovos em vários tipos de materiais, chamada de dispersão passiva (FORATTINI, 2002; WHO, 2012)

A fase larvária do *A. aegypti* é um período de alimentação e crescimento, passando a maior parte do tempo alimentando-se sobretudo de material orgânico acumulado nas paredes e fundo de depósitos, dentre uma característica morfológica das larvas do gênero *Aedes*, é a presença de espiculas laterotorácicas (FORATTINI, 2002).

Dependendo da temperatura, disponibilidade de alimento e densidade das larvas no criadouro, o período entre a eclosão e a pupação pode não exceder a cinco dias.

Contudo, em baixa temperatura e escassez de alimento, o estágio larvário pode prolongar-se por várias semanas. As pupas não se alimentam, se mantêm flutuando na superfície da água, o que facilita a emergência do inseto adulto. Esta fase dura, geralmente, de dois a três dias (MARQUES, 2013).

Os adultos de *A. aegypti* realizam a dispersão e a reprodução da espécie, sua média de vida é de aproximadamente 35 dias (FORATTINI, 2002). Possuem características morfológicas marcantes, dentre elas, pode-se destacar no tórax escamas claras formando ornamentos branco-prateados. Duas faixas longitudinais curvilíneas, uma em cada lado do tórax e na sua porção mediana duas faixas longitudinais mais estreitas. No abdômen e nas pernas observam-se manchas branco-prateadas (Figura 1) (LEANDRO, 2012; COSTA, 2010).

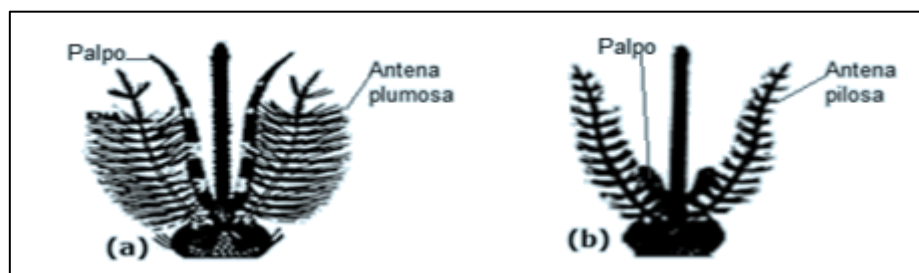
Figura 1 – Mosquito *Aedes aegypti* adulto



Fonte: Costa, 2010

Os machos *A. aegypti* apresentam antenas plumosas com palpos maxilares são iguais ou maiores que a probóscide (Figura 2A), enquanto que as fêmeas possuem antenas pilosas e os palpos maxilares são curtos, menores que a probóscide (Figura 2B) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

Figura 2 – (A) características morfológicas presentes em Machos de *Aedes aegypti*; (B) características morfológicas presente em Fêmeas de *Aedes aegypti*.



Fonte: Google Imagens, adaptado pelo Autor (2017)

O mosquito é infectado pelo DENV quando realiza o repasto sanguíneo em uma pessoa portadora do vírus, assim, o mesmo atinge o intestino médio do mosquito entre 8 a 12 dias se espalhando pelas glândulas salivares e, após esse período, o vírus pode ser transmitido para os seres humanos (GUBLER, 1989; DINIZ et al., 2014). A relação do *A. aegypti* com a transmissão do vírus dengue foi relatada por Bancroft em 1907 e confirmada por Cleland, et al, em 1918 (BANCROFT, 1907; CLELAND et al., 1919).

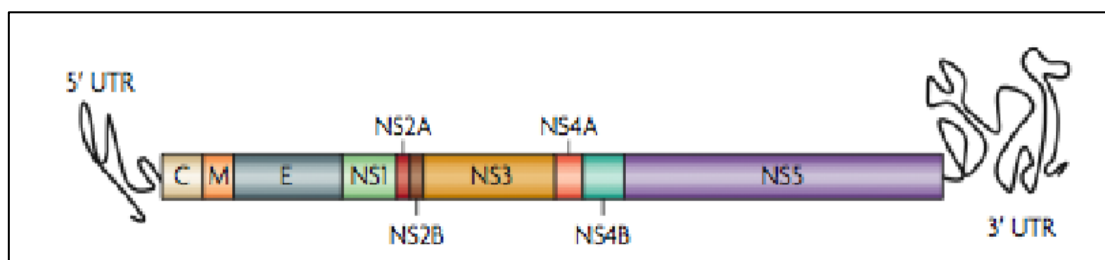
Não ocorre transmissão do DENV de pessoa a pessoa, mas sim por meio da picada do mosquito fêmea contaminado (transmissão horizontal) (GUPTA et al., 2012). A transmissão transovariana, ou transmissão vertical é relatada por diversos autores, onde a fêmea do mosquito, transmite o DENV para sua prole aumentando a probabilidade de sobrevivência do vírus, promovendo uma amplificação viral (MACKENZIE et al., 2004). Essa forma de transmissão é um fator decisivo na persistência do vírus em meio urbano (FORATTINI; BRITO, 2003; ZEIDLER et al., 2008).

2.4 Agente Etiológico e Variabilidade Genética

O vírus Dengue pertence à família Flaviviridae, mede cerca de 40 a 50 nanômetros, é envelopado. O seu genoma consiste de um RNA de polaridade positiva, com cerca de 11000 pares de bases. Externamente ao capsídeo viral, formado pela proteína do capsídeo (C), encontra-se o envelope lipídico, formado por duas proteínas glicosiladas, denominadas, proteína de membrana (M) e de envelope (E). O processo de tradução do RNA viral resulta em uma poliproteína que conta com aproximadamente 3.400 aminoácidos, que libera após sucessivas clivagens, três proteínas estruturais:

capsídeo (C); envelope (E) e pré-membrana (prM) e sete não estruturais, (NS1, NS2a e NS2b, NS3, NS4a e NS4b e NS5), que estão envolvidas na replicação e clivagem da poliproteína (Figura 3) (LODEIRO et al., 2009; LINDENBACH et al., 2007; QI et al., 2008; GUPTA et al., 2012).

Figura 3 – Organização do genoma do vírus da Dengue



Fonte: Guzman, et al (2010)

A proteína C possui Cerca de 112 a 127 aminoácidos é o primeiro polipeptídeo sintetizado, com peso molecular de aproximadamente 13,5 kDa, carregada positivamente devido ao número de resíduos de lisina e arginina, possui domínio hidrofóbico que interage com membranas celulares (LINDENBACH et al., 2007).

A proteína M com peso molecular de 8 kDa, possui 75 aminoácidos. Sua formação só é possível após a clivagem específica do precursor glicosilado prM durante a morfogênese viral. A clivagem de prM resulta no rearranjo de estruturas oligoméricas na superfície do virion, que promove a infectividade do virion maduro (LINDENBACH et al., 2007; BARTENSCHLAGER; MILLER, 2008; CLYDE; KYLE; HARRIS, 2006)

A glicoproteína de envelope (E) é a principal proteína estrutural do envelope viral, com peso molecular de 53 kDa, possui de 494 a 501 aminoácidos, atuando nos processos de interação de receptores celulares, penetração do vírus na célula e montagem das partículas virais, além disso é o principal alvo de anticorpos neutralizantes e possuir atividade hemaglutinante (LINDENBACH et al., 2007; GUZMÁN; KOURÍ, 2004; CHANG, 1997).

A glicoproteína NS1 é a primeira proteína não estrutural sintetizada, com 353 a 354 aminoácidos, tem peso molecular de 46 kDa, altamente conservada e atua na fase da infecção viral. Sua interação com a proteína NS4A é essencial para atividade de replicase viral, podendo ser encontradas no retículo endoplasmático e na superfície de células infectadas e na forma livre, no soro do indivíduo infectado. Assim como a glicoproteína

E, possui um papel importante na patogênese da doença (LINDENBACH et al., 2007; KHROMYKH et al., 1999; CLYDE; KYLE; HARRIS, 2006).

A região codificadora NS2 resulta em duas proteínas NS2A com 218 a 231 aminoácidos e peso molecular de 22 kDa e a proteína NS2B com 130 a 132 aminoácidos e peso molecular de 14 kDa. A proteína NS2A é hidrofóbica e tem função na replicação viral, necessária para o correto processamento proteolítico de NS1. A proteína NS2B está associada a membrana, formando um complexo estável NS2B-NS3, na função de serino protease (CHANG, 1997; FALGOUT et al., 1991; LINDENBACH et al., 2007).

Com peso molecular de 70 kDa, a proteína NS3 possui de 618 a 623 aminoácidos, é caracterizada como multifuncional, tem sido implicada na interação com a proteína de ligação do receptor nuclear humano, mediando o tráfego intracelular entre o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi. Possui atividade de helicase e de protease, além de participar na replicação do RNA e no processamento da poliproteína (CHANG, 1997; CLYDE; KYLE; HARRIS, 2006; LINDENBACH et al., 2007).

As proteínas NS4A (16 kDa, com 149 a 150 aminoácidos) e NS4B (27 kDa, com 248 a 256 aminoácidos) são hidrofóbicas, e participam da localização apropriada de proteínas virais e montagem do virion. A interação de NS4A e NS1 é importante para a replicase viral. Além disso a associação NS4B e NS2A, pode bloquear a tradução de sinal mediada por interferon (CLYDE; KYLE; HARRIS, 2006; LINDENBACH et al., 2007; KHROMYKH et al., 1999; LINDENBACH; RICE, 2003).

A proteína NS5 tem peso molecular de 103 kDa e possui de 900 a 905 aminoácidos, altamente conservada, sendo a maior entre as proteínas dos Flavivirus, é multifuncional e apresenta atividade de metiltransferase e de RNA polimerase (LINDENBACH et al., 2007; CHANG, 1997; LINDENBACH; RICE, 2003).

Durante a adsorção, os virions são capazes de interagir com múltiplos receptores celulares, existindo uma grande variedade de células susceptíveis ao vírus no organismo humano, como as células da linhagem mononuclear fagocitária, cardíacas, cerebrais, renais, hepáticas, pulmonares e da medula óssea (ARAÚJO et al., 2009; JESSIE et al., 2004).

O vírus invade as células pela superfície celular, com interações eletrostáticas, transformando a ligação instável em adsorção irreversível estável (WANG et al., 2012). As partículas virais penetram nas células susceptíveis, resultando na formação de vesículas endocíticas, que ao atingirem o pH adequado promovem a fusão do envelope

viral com a membrana do endossoma, liberando o nucleocapsídeo no citoplasma da célula (CHU; NG, 2004; GOLLINS; PORTERFIELD, 1986; KUHN et al., 2002).

O vírus da dengue possui quatro sorotipos distintos, (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), porém sorologicamente semelhantes. Pessoas infectadas por um determinado sorotipo podem desenvolver de maneira permanente uma proteção contra reinfecções com o mesmo sorotipo, no entanto não garante proteção contra sorotipos heterólogos, aumentando o risco de desenvolvimento de formas graves da doença (SCAPR, 2016).

O vírus Dengue apresenta grande variabilidade genética devido ao alto grau de mutação associado com a RNA polimerase e suas rápidas taxas de replicação e ausência de mecanismos de reparo. Atualmente existe quatro sorotipos antigenicamente distintos entre si (ÃNEZ, 2007; HOLMES, 2009). O primeiro isolamento do DENV foi realizado em 1944, onde foi possível identificar os sorotipos DENV 1 e DENV 2 (SABIN, 1952).

Um dos fatores apontados para esta diversidade genética do DENV é associado ao crescente tamanho e densidade da população hospedeiro/vetor, uma vez que possibilitam o aumento da taxa de transmissão e conseqüente população viral e quantidade de replicação (CHEN; VASILAKIS, 2011).

Esta evolução molecular dos diversos sorotipos DENV tem apresentado um grande impacto em todo o mundo devido a sua virulência. O monitoramento do deslocamento dos vírus para diferentes áreas geográficas, a caracterização genética das amostras virais associadas às epidemias, bem como a determinação da variabilidade genética e padrões de transmissão destes isolados, são estratégias fundamentais para se estabelecer uma eventual associação genótipo/virulência e desenvolvimento de estratégias efetivas para o controle da doença (LANCIOTTI, 1994; MIAGOSTOVICH).

2.5 Tratamento, Prevenção e Controle Vetorial

Não existe um tratamento específico, nem vacina contra a Dengue. Dentre as condutas terapêuticas que podem ser tomadas, destaca-se o gerenciamento da febre, cuidados de enfermagem, equilíbrio de fluidos, eletrólitos e parâmetros de coagulação sanguínea (WHO, 2009; BEAUTE; VONG, 2010). O tratamento de pacientes com dengue pode ser a partir de acetaminofeno devendo ser feitos exames diários de contagem de plaquetas e medida do hematócrito a partir do primeiro dia da doença até o 1º a 2º dias após a fase aguda (AHMAD et al., 2011).

Pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de desenvolver uma vacina antiviral tetravalente capaz de inibir os 4 sorotipos de DENV, induzindo uma imunidade eficiente e duradoura contra os quatro sorotipos, pois a proteção contra apenas um ou dois sorotipos se torna desinteressante devido ao aumento do risco de desenvolvimento da forma grave da doença em reinfecções por outros sorotipos (WHITEHEAD et al., 2007; WHO, 2009; SOUZA, 2013).

Os órgãos públicos fornecem campanhas com o objetivo conscientizar a população para evitar o acúmulo de reservatórios propícios para o desenvolvimento do vetor, porém essas ações não se mostram eficientes (CONEGLIAN, 2012; MAFRA; ANTUNES, 2015). A população, principalmente com baixa escolaridade, considera a dengue como uma doença passageira, dando maior importância a medidas curativas do que preventivas. Assim, torna-se necessário que a população tenha informações acerca dos modos de prevenção dessa doença, sendo o controle vetorial uma maneira indispensável de preveni-la levando em conta a falta de vacina ou drogas antivirais específicas (BRASIL, 2010; CONEGLIAN et al., 2012; MAFRA; ANTUNES, 2015).

O controle do vetor da dengue é baseado principalmente em medidas de gestão ambiental para conter a proliferação de mosquitos, principalmente pela eliminação dos recipientes que podem acumular água. Também é possível o uso de inseticidas nas formas lavares e forma adulta do mosquito, o uso de repelentes de inseto e armadilhas de mosquito (COELHO, 2012; RODRIGUES-ROCHE; GOLD 2013; MAFRA; ANTUNES, 2015).

Neste sentido, a vigilância entomológica trabalha com o conceito de risco considerando à presença, distribuição e abundância dos vetores como parâmetros fundamentais para o controle da doença (GOMES, 1998). Muitos estudos evidenciam a importância do monitoramento feito por órgãos da vigilância entomológica, que medem a infestação de *A. aegypti* em áreas urbanas. Segundo Braga e Valle (2007) o monitoramento de larvas é importante para verificar o impacto das estratégias básicas de controle da doença, dirigidas à eliminação do vetor.

Para a vigilância é essencial e importante à seleção dos instrumentos mais adequados para este fim. Sendo indispensável, para isso, o conhecimento sobre a biologia e a ecologia do mosquito-alvo (GOMES, 2007). De um modo geral o monitoramento tem como principais objetivos, investigar a distribuição espaço-temporal e a densidade populacional da espécie-alvo.

O Índice de Infestação Predial (IIP) para larvas e pupas, em depósitos, estabelece uma relação entre o número de imóveis positivos para *Aedes aegypti* e o número de imóveis inspecionados, é o mais utilizado pelo Ministério da Saúde, calculado conforme exemplificado abaixo (BRASIL, 2005):

$$\frac{\text{Número de imóveis positivos}}{\text{Número de imóveis inspecionados}} \times 100$$

O valor do IIP é capaz de classificar o município, a partir da vistoria de Terrenos Baldios, Residências e Pontos Comerciais. O IIP abaixo de 1%, mantém condições satisfatórias, risco para surto dengue é pequeno. Valores entre 1% e 3,9% estão em situação de alerta e acima de 4% os municípios são caracterizados com alto risco de surto de dengue (BRASIL, 2009). Portanto, a vigilância epidemiológica é de grande importância, indicando medidas de controle, impedindo novas ocorrências de dengue, cabendo assim à administração pública atribuir suportes de conscientização e aumentar o nível de práticas preventivas (BRITO, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Realizar um levantamento epidemiológico da dengue, destacando o controle vetorial e a caracterização molecular do vírus, a fim de contribuir com o sistema de Vigilância em saúde do Município de Picos, Piauí.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a distribuição do mosquito *Aedes aegypti* no município de Picos;
- Verificar os tipos de criadouros preferenciais para ovoposição do *Aedes aegypti* no município de Picos;
- Destacar os bairros com maior registro de pontos focais do mosquito *Aedes aegypti* no município de Picos;
- Apresentar o Índice de Infestação Predial verificado no município de Picos;
- Estabelecer em condições de Laboratório a população de *A. aegypti* oriundas de campo, da fase larval até a fase de mosquito alados;
- Isolar o (s) vírus dengue a partir de mosquitos naturalmente infectados, coletados no município de Picos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de Estudo

A pesquisa foi realizada no município de Picos, na região centro Sul do Piauí, distante 320 Km da capital Teresina. Possui uma área de 577,304 km² com uma população de aproximadamente 73.414 mil habitantes, Sendo 35.061 Homens e 38.353 mulheres (IBGE, 2016).

O município conta com um total de 27 bairros na zona urbana e 28 localidades que se encontram na zona rural (MBI, 2017). Com clima tropical, semiárido quente e seco, com duas estações bem definidas, possui limites com os municípios de Santana do Piauí e Sussuapara ao norte, ao sul com Itainópolis, a oeste com Dom Expedito Lopes e Paquetá, a leste com Sussuapara e Geminiano (AGUIAR; GOMES, 2004).

4.2 Coleta de Dados do Monitoramento do Mosquito *Aedes aegypti* no Centro de Controle de Zoonoses

Os dados vetoriais acerca do Índice de Infestação Predial (IIP), tipos de criadouros e os bairros de maior infestação de larvas do *A. aegypti* foram coletados do Programa SISFAD (Sistema de Informação da Febre Amarela e Dengue), no Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Picos, da Secretaria Municipal.

4.3 Coleta de Espécimes do Mosquito *Aedes aegypti* em Campo

Para a coleta de espécimes do mosquito *A. aegypti* no ano de 2017 no município de Picos foram utilizadas larvitampas capazes de capturar suas larvas. As larvitampas foram confeccionadas a partir de pneus de motocicletas, cortado em medidas proporcionais. Um pneu resultava em 3 armadilhas de tamanho: 40 cm de comprimento, 8 cm de largura e 28 cm de circunferência (Figura 4)

Figura 4 – Armadilha Larvitrapa confeccionada de pneu, medidas: 40 cm de comprimento, 8 cm de largura e 28 cm de circunferência.



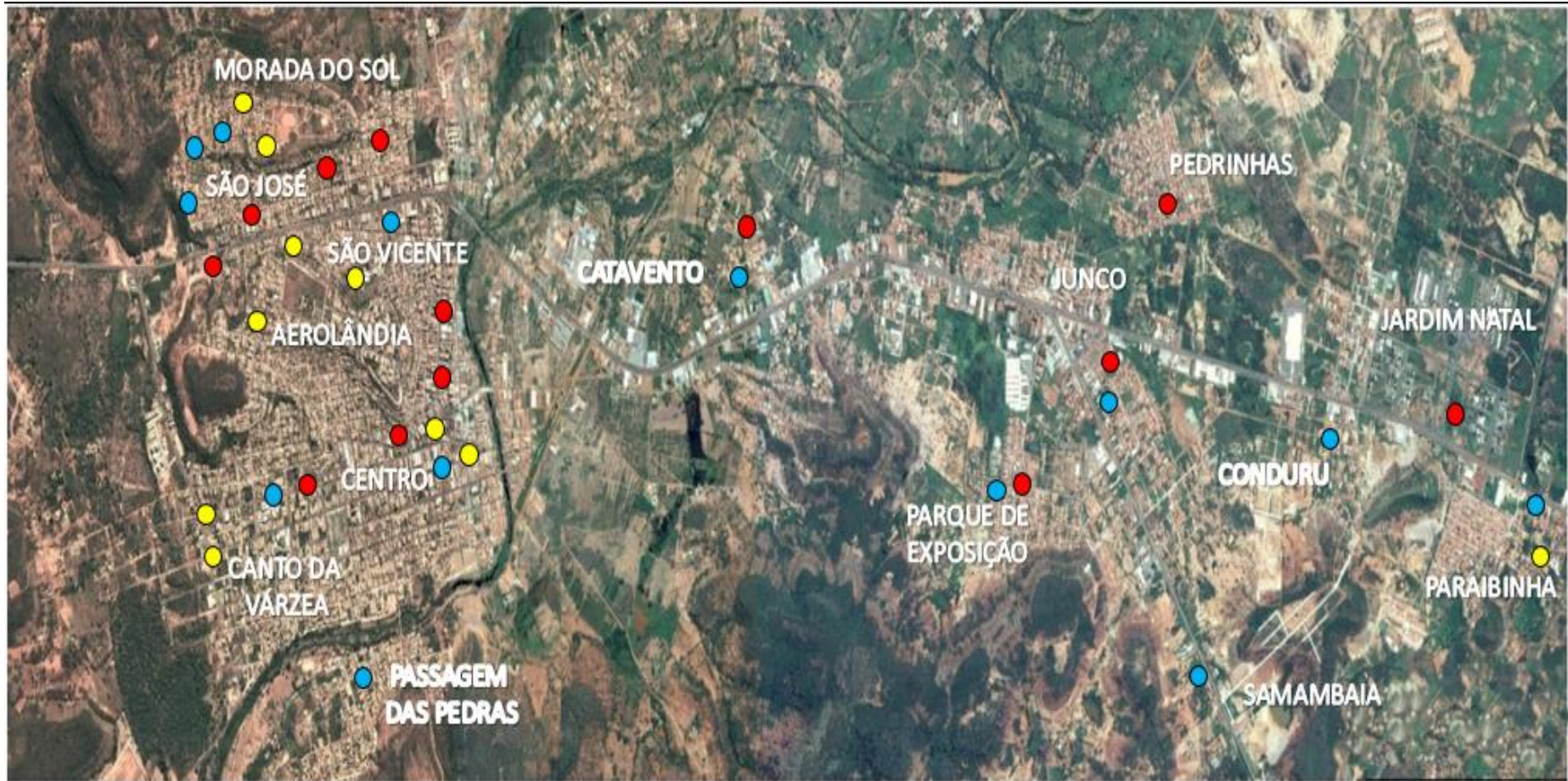
Fonte: Elaborada pelo autor (2017)

4.3.1 Instalação do método de coleta do *A. aegypti* utilizando larvitrapas

As larvitrapas foram instaladas em residências, terrenos baldios, comércios e outros pontos aptos para o desenvolvimento larvário, locais peri e intra domicílio. As larvitrapas foram preenchidas com água para a ovoposição do mosquito, instaladas a 1 metro do solo.

Durante a pesquisa foi utilizado um total de 36 armadilhas devidamente numeradas, distribuídas nos bairros da Zona Urbana (Figura 5). Deste total, 13 armadilhas dispostas em ambientes intra domiciliar, 13 armadilhas em locais peridomicílio e 10 armadilhas em terrenos baldios.

Figura 5 – Mapeamento nos locais de montagem das larvitrapas para a captura do *Aedes aegypti* no município de Picos



Legenda: ● Terrenos Baldios ● Locais Intradomiciliar ● Locais Peridomiciliar

Fonte: Google Earth

A escolha dos bairros para a distribuição das larvitampas, foi resultado das vistorias anteriormente realizada dos Agentes de Controle de Endemias (ACE), para a distribuição das armadilhas foi levado em consideração a concentração populacional e a quantidade de residências nos bairros trabalhados. A tabela 2 mostra a distribuição das larvitampas, destacando o bairro, a quantidade de armadilhas dispostas e o número das armadilhas, respectivamente.

Tabela 2 – Disposição de Larvitampas, destacando a quantidade por bairro e o número da armadilha, localizadas na Zona Urbana do Município de Picos, Piauí.

Bairro	Quantidade	Nº da Armadilha
Centro	8	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 31
São Vicente	4	1, 2, 3, 34
São José	4	4, 5, 6, 33
Morada do Sol	4	7, 8, 9, 10
Canto da Várzea	2	18, 19
Junco	2	23, 24
Catavento	2	29, 30
Parque de Exposição	2	21, 22
Paraibinha	2	26, 27
Aerolândia	1	20
Samambaia	1	25
Pedrinhas	1	28
Passagem das Pedras	1	32
Conduru	1	36
Jardim Natal	1	35

4.3.2 Período de coleta de larvas

O período de coleta de larvas do *A. aegypti* totalizou 22 semanas epidemiológicas do ano de 2017, tendo início na primeira semana de fevereiro (01 de fevereiro) e término na quarta semana de junho (26 de junho). A vistoria de todas as larvitampas acontecia nas segundas e quartas, durante o turno da manhã, com autorização previa do proprietário.

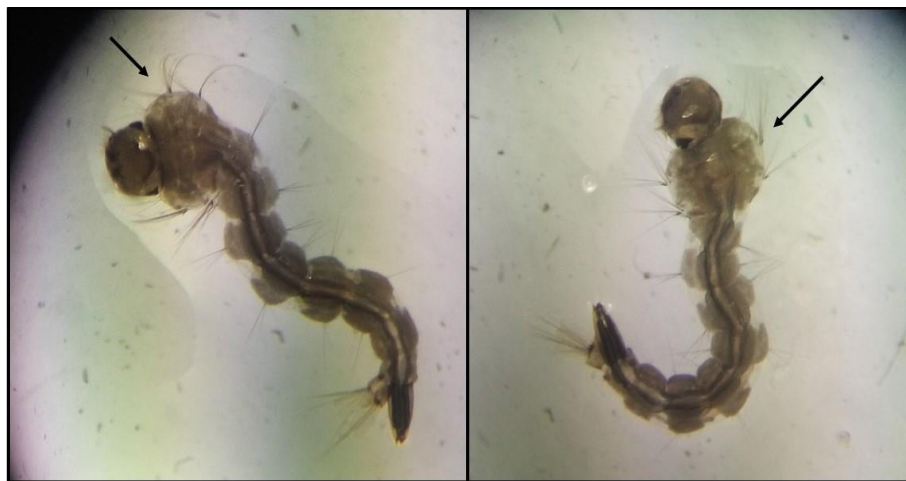
4.3.3 Manutenção e caracterização das formas imaturas e da forma adulta do mosquito *Aedes aegypti*

Todo o material advindo do campo (larvas e pupas de culicídeos em geral) era inicialmente colocado em tubos de vidro de 10 mL, etiquetados com a data da coleta, bairro e o número da armadilha.

As amostras eram enviadas para o laboratório de pesquisa III da Universidade Federal do Piauí, *campus* Senador Helvidio Nunes de Barros, para serem identificadas. Foram utilizados apenas larvas do mosquito *A. aegypti*, as demais espécies de mosquitos foram descartadas.

Logo após as larvas eram colocadas em bandejas de plástico, 300mL preenchidas com água, mantidas vivas com alimentação de 100mg de ração de tartaruga, para sua identificação de acordo com chave de classificação específica, que descreve a presença de espiculas laterotorácicas como uma característica presente em larvas de mosquitos do gênero *Aedes* (FORATINI, 2002) (Figura 6).

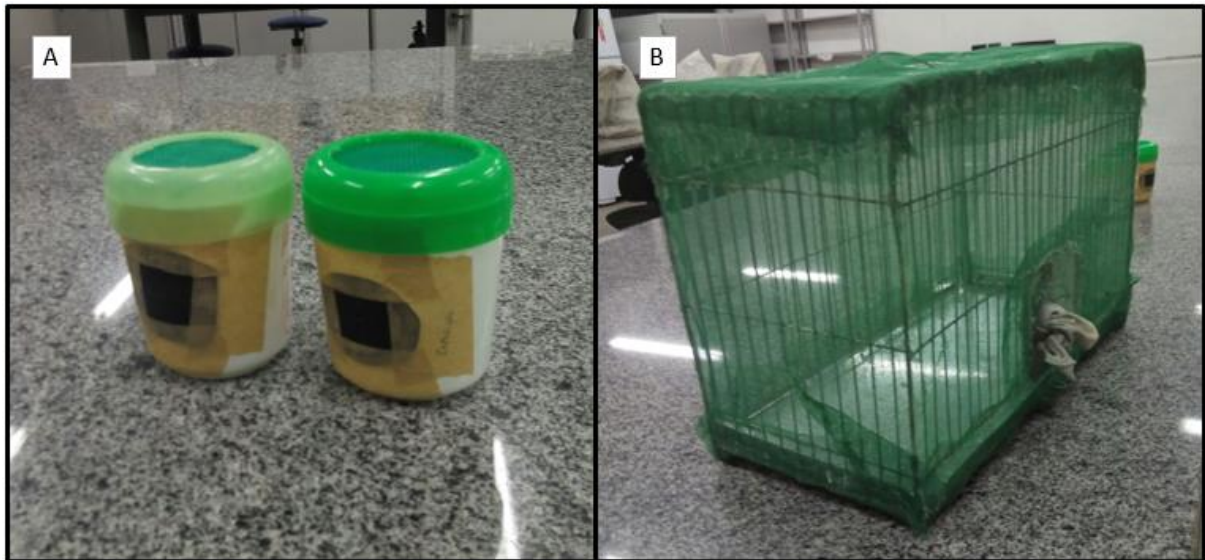
Figura 6 – Larvas do *Aedes aegypti* coletados em campo, mantidas em laboratório. Destaque para as espiculas laterotorácicas bastante desenvolvidas



Fonte: Elaborada pelo autor (2017)

Ao passo que as larvas se transformavam em pupas elas eram distribuídas em recipientes de plástico de 100 mL, (Figura 7A) inseridos no interior de uma gaiola (Figura 7B), adaptadas para a manutenção das formas aladas emergentes. Os mosquitos adultos eram alimentados com solução de sacarose a 10%, embebida em algodão, repostos a cada 2 dias, estando privados de qualquer fonte de sangue.

Figura 7: (A) recipiente utilizado para manutenção da pupa do *Aedes aegypti*; (B) gaiola confeccionada para a manutenção dos mosquitos alados de *Aedes aegypti*.



Fonte: Elaborada pelo autor (2017)

4.4 Detecção e Identificação Viral

Os mosquitos adultos foram levados para o Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular da Universidade Estadual do Ceará (UECE), em Fortaleza, Ceará, onde procedeu a extração do RNA viral e identificação preliminar do sorotipo de vírus.

4.4.1 Preparação dos espécimes para a extração do vírus da Dengue

Seguindo o protocolo sugerido por Rosen et al., (1983), os espécimes adultos foram capturados com auxílio de um capturador do tipo sugador e transferidos para recipientes plásticos de 500 mL, adaptados à manutenção destes, e mantidos em temperatura de 4°C, durante 5 minutos, com o propósito de lhes produzir um efeito anestésico, facilitando sua posterior identificação.

Os espécimes foram identificados e separados de acordo com o sexo seguindo as chaves de identificação proposto por Consoli; Oliveira (1994). Logo após foram agrupados em lotes contendo 1 a 50 espécimes, sendo mantidos em ultrafreezers a uma temperatura de -80°C.

4.4.2 Extração do RNA viral

Para esta etapa foram utilizados os exemplares dos mosquitos inicialmente guardadas no -80°C . Utilizado um total de 3 *pools* contendo 6 espécimes fêmeas de *A. aegypti* cada *pool*.

Todos os *pools* de mosquitos-fêmeas foram macerados a seco em microtubos (2,0 mL), com o auxílio de bastões de vidro (1,0 cm x 30 cm). Submetidos à extração de RNA viral, utilizando-se para isso o QIAmp Viral RNA mini kit (Qiagen), seguindo-se as instruções do fabricante.

4.4.3 RT – PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction)

A amplificação e a detecção de segmento específico do genoma dos vírus dengue foram realizadas a partir das reações de RT-PCR e nested-PCR, de acordo com o protocolo estabelecido por Lanciotti et al., (1992).

Sendo um vírus com genoma de RNA, é necessária a síntese de uma fita de DNA complementar (cDNA) a partir do molde genômico de RNA do DENV para fins de identificação do(s) sorotipo(s) isolado(s). Para a síntese de cDNA fita simples, adicionou-se, em um microtubo (200 μL) livre de nucleases, 2,0 μL de random primers (Invitrogen / 648985), 5,0 μL do RNA extraído, 1,0 μL de dNTPs (10 mM) (Invitrogen / 610104) e 12 μL de água ultrapura livre de DNase e RNase (Invitrogen / 482349), seguindo-se do aquecimento dessa mistura a 65°C , durante 5 minutos, e incubando-a em banho de gelo por, pelo menos, 1 minuto. Em seguida, acrescentou-se 7,0 μL do MIX A a cada amostra, o qual era constituído por 1,0 μL de DTT (0,1 M) (Invitrogen / 1532), 1,0 μL de RNaseOUT Recombinant (40 U/ μL) (Invitrogen / 627266), 1,0 μL de SuperScript III (200 U/ μL) (Invitrogen / 18080) e 4,0 μL do tampão 5X [250 mM Tris-HCl (pH 8,3), 375 mM KCl, 15 mM MgCl_2] (Invitrogen / 18080). Tal mistura foi mantida em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) por 5 minutos, sendo, posteriormente, incubada a 50°C por 50 minutos. Por fim, a reação foi inativada por meio do aquecimento a 70°C , durante 15 minutos. De posse do cDNA de fita simples, procedeu-se a amplificação deste, por meio da reação de PCR. Para tal fim, 5,0 μL do cDNA foram misturados a 45 μL do MIX B, constituído por 35,1 μL de água ultrapura livre de DNase e RNase (Invitrogen / 482349), 1,5 μL de MgCl_2 (50 mM) (Invitrogen / 553629), 1,0 μL de dNTPs (10 mM) (Invitrogen / 610104), 1,0 μL de primer forward D1 (10 μM) (Invitrogen / 130190G07), 1,0 μL primer reverse D2 (10 μM) (Invitrogen / 130190G08), 0,4 μL de Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen / 10342-053)

e 5,0 µL do tampão 10X [200 Mm Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl] (Invitrogen / 553629). Tal mistura foi suavemente agitada em vortex, antes de ser submetida a 94°C, durante 2 minutos, para a inativação da SuperScriptIII, além de ativar a Taq DNA polimerase (hot start). Em seguida, as amostras foram submetidas a 30 ciclos de PCR (94°C / 35 segundos para a desnaturação; 55°C / 1 minuto = hibridização dos primers; 72°C / 2 minutos = extensão das novas fitas, seguidos de 1 segmento de 72°C / 10 minutos, para a extensão final das fitas recém-sintetizadas), em um termociclador Mastercycler pro (Eppendorf).

4.4.4 NESTED – PCR

A amplificação do segmento-alvo pela reação de PCR (511 pb) foi seguida pela reação de nested-PCR, a qual visa à identificação dos sorotipos dos vírus dengue, mediante o uso de primers reverse tipo-específicos (type-specific primers) (Tabela 3). Para isso, o produto da reação de PCR foi diluído na proporção de 1:100, e um volume de 5,0 µL deste foi misturado a 45 µL do MIX C, constituído por 32,1 µL de água ultrapura livre de DNase e RNase (Invitrogen / 482349), 1,5 µL de MgCl₂ (50 mM) (Invitrogen / 553629), 1,0 µL de dNTPs (10 mM) (Invitrogen / 610104), 1,0 µL de primer forward D1 (10 µM), 1,0 µL de cada primer tipo-específico (10 µM) - TS 1 (Invitrogen / 130190G09), TS 2 (Invitrogen / 130190G10), TS 3 (Invitrogen / 130190G11) e TS 4 (Invitrogen / 130190G12), 0,4 µL de Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen / 10342-053) e 5,0 µL do tampão 10X [200 Mm Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl] (Invitrogen / 553629). Tal mistura foi suavemente agitada em vortex, antes de ser submetida a 94°C, durante 2 minutos, para ativar a Taq DNA polimerase (hot start). Em seguida, as amostras foram submetidas a 35 ciclos de PCR (94°C / 35 segundos = desnaturação; 55°C / 1 minuto = hibridização dos primers; 72°C / 2 minutos = extensão das novas fitas, seguidos de 1 segmento de 72°C / 10 minutos, para a extensão final das fitas recém-sintetizadas), em um termociclador Mastercycler pro (Eppendorf).

Tabela 3 - Primers (oligonucleotídeos iniciadores) utilizados nas reações de RT-PCR/nested-PCR

<i>Primers</i>	Sequência	Posição de hibridização no genoma	Tamanho do amplicon (pb)
D1	5'- TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG -3'	134 – 161	511 (D1 + D2)
D2	5'- TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC -3'	616 – 644	
TS 1	5'- CGTCTCAGTGATCCGGGGG -3'	568 – 586	482 (D1 + TS1)
TS 2	5'- CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'	232 – 252	119 (D1 + TS2)
TS 3	5'- TAACATCATCATGAGACAGAGC -3'	400 – 421	290 (D1 + TS3)
TS 4	5'- CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA -3'	506 – 527	392 (D1 + TS4)

A detecção dos segmentos amplificados foi feita em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídio (Invitrogen / 15585011) 1%, e visualizado em transiluminador ultravioleta (Biosystems).

5 RESULTADOS

5.1 Dados do Controle do Mosquito *Aedes aegypti* Coletados no Centro de Controle de Zoonoses

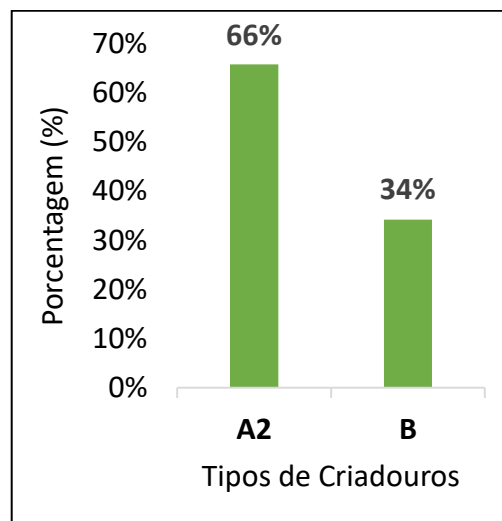
Em 2015 foi realizado no município de Picos a vistoria de 359 terrenos baldios e 5.993 imóveis como residências e comércios em quatro ciclos no decorrer do ano (Janeiro, Abril, Julho e Dezembro). Assim registrou no um IIP no valor 0,4.

No ano de 2016 houve a vistoria de 316 terrenos baldios e 3.714 outros imóveis (comercio e residências), em três ciclos (Abril, Julho e Outubro) e IIP registrou um valor de 0,2. Havendo uma diminuição no valor do IIP se comparado ao ano de 2015, por ser trabalhado um número reduzindo de vistorias em residências, comércios e terrenos baldios, e em menos ciclos.

Os ACE notificam a presença de pontos focais de larvas do *A. aegypti*, classificando os tipos de criadouros onde é encontrado, a partir dessas vistorias que são realizadas em residências, comércios e terrenos baldios.

A partir da vistoria realizada pelo CCZ nos anos de 2015 e 2016 foi possível destacar os tipos de criadouros utilizados para a ovoposição do mosquito fêmea do *A. aegypti* no município de Picos. Observado na figura 8.

Figura 8 – Preferência dos tipos de criadouros usados na ovoposição do mosquito *Aedes aegypti* encontrados nos anos de 2015 e 2016.

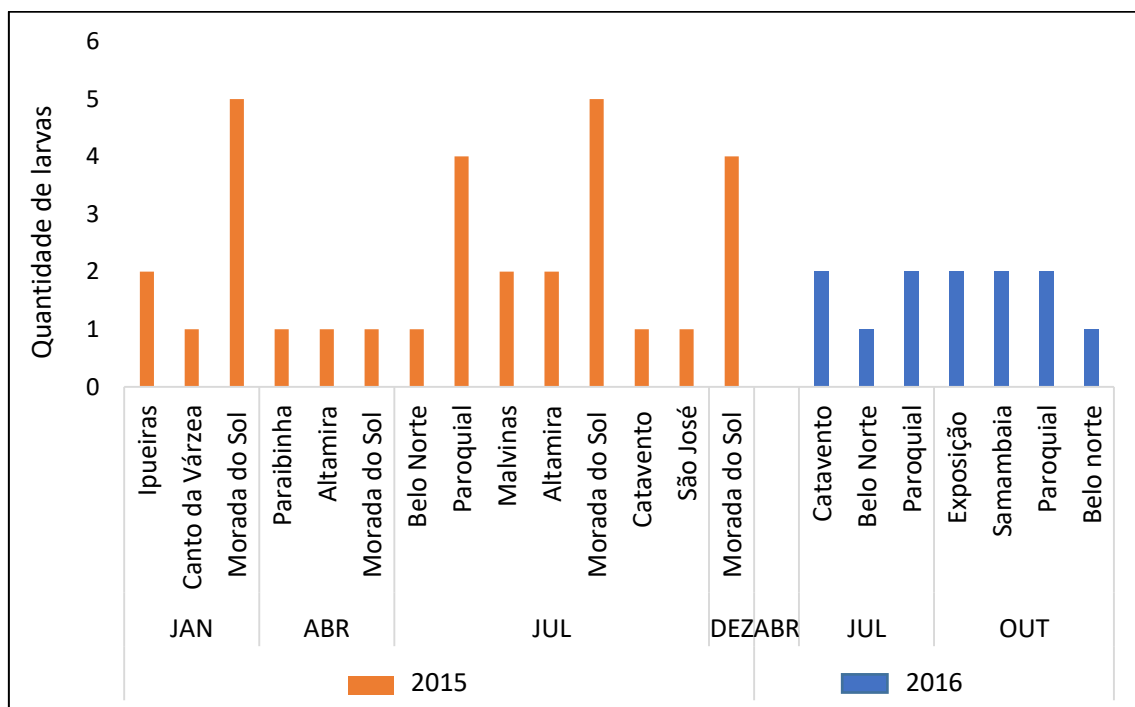


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os tipos de criadouros mais frequentes, utilizados para a ovoposição do mosquito fêmea no município de Picos nos anos de 2015 e 2016, foram os criadouros do tipo A2 (Caixas d'água) com 66% em seguida recipientes do tipo B (Pequenos depósitos moveis) que registrou 34%. Esses tipos de depósitos tem uma maior prevalência por estarem presentes em domicílios, depósitos do tipo B, são principalmente baldes, bacias e latas, que pela falta do abastecimento de água nos bairros do município, os residentes tendem a armazenar água nesses depósitos. Outros tipos de depósitos não foram notificados nesses dois anos analisados.

Os ACE nos anos de 2015 e 2016 coletaram 43 amostras de larvas de *A. aegypti*, a partir dessas vistorias, sendo possível identificar os bairros onde mais se coletou larvas nesses anos (Figura 9).

Figura 9 – Distribuição dos pontos focais e quantidade de larvas do mosquito *Aedes aegypti* coletadas pelo CCZ nos anos de 2015 e 2016.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

No ano de 2015, a partir das vistorias, a vigilância epidemiológica do município de Picos conseguiu coletar 31 larvas do *A. aegypti* com uma maior predominância no mês de Julho que foi possível coletar 16 larvas. Levando em consideração o ano completo, no bairro Morada do Sol foi encontrado e coletado 15 espécimes de *A. aegypti*, sendo o bairro que mais foi registrado larvas no município no ano de 2015.

Em 2016 houve uma diminuição na quantidade de ciclos trabalhados, consequentemente um número reduzido de residências, comércios e terrenos baldios vistoriados. Um total de 12 larvas foram coletadas nos três ciclos, sendo que o ciclo de abril, não foi registrado coleta de espécimes do *A. aegypti*, na vistoria. A partir dos registros foi possível verificar que o bairro Paroquial houve mais coletas de larvas no decorrer do ano de 2016, com quatro larvas do *A. aegypti* coletadas.

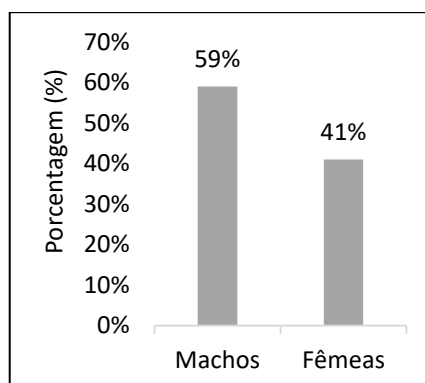
Um dos fatores que os ACE apontam para a presença de pontos focais nesses bairros nos anos de 2015 e 2016 é a falta de saneamento básico juntamente com a falta de abastecimento de água, o acúmulo de lixo, o grande número de residências e a densidade populacional nesses bairros, sendo considerados fatores que estão relacionados ao aumento de pontos focais, com competência para a ovoposição do mosquito *A. aegypti* no município de Picos.

5.2 Coleta de Formas Imaturas de *Aedes aegypti* Utilizando Larvitampas

A captura de larvas com a utilização de larvitampas no município de Picos, que caracteriza o presente estudo totalizou 22 semanas epidemiológicas do ano de 2017 (01 de fevereiro a 26 de junho), nesse período foi possível coletar 2.459 larvas e pupas de diversas espécies. Sendo possível identificar 1.476 larvas do *A. aegypti* no Laboratório de Pesquisa III. O restante do material pertencia a outras espécies e não foi considerado neste trabalho.

Do total de larvas de *A. aegypti* identificadas, 791 larvas (53,59%) foram capazes de se desenvolverem para estagio adulto em condições propicias no Laboratório de Pesquisa III. A partir disso, foi possível diferenciar mosquitos *A. aegypti* quanto ao sexo (469 machos e 322 fêmeas) (Figura 10).

Figura 10 – Abundância de mosquitos adultos *Aedes aegypti* machos e fêmeas criados no laboratório.

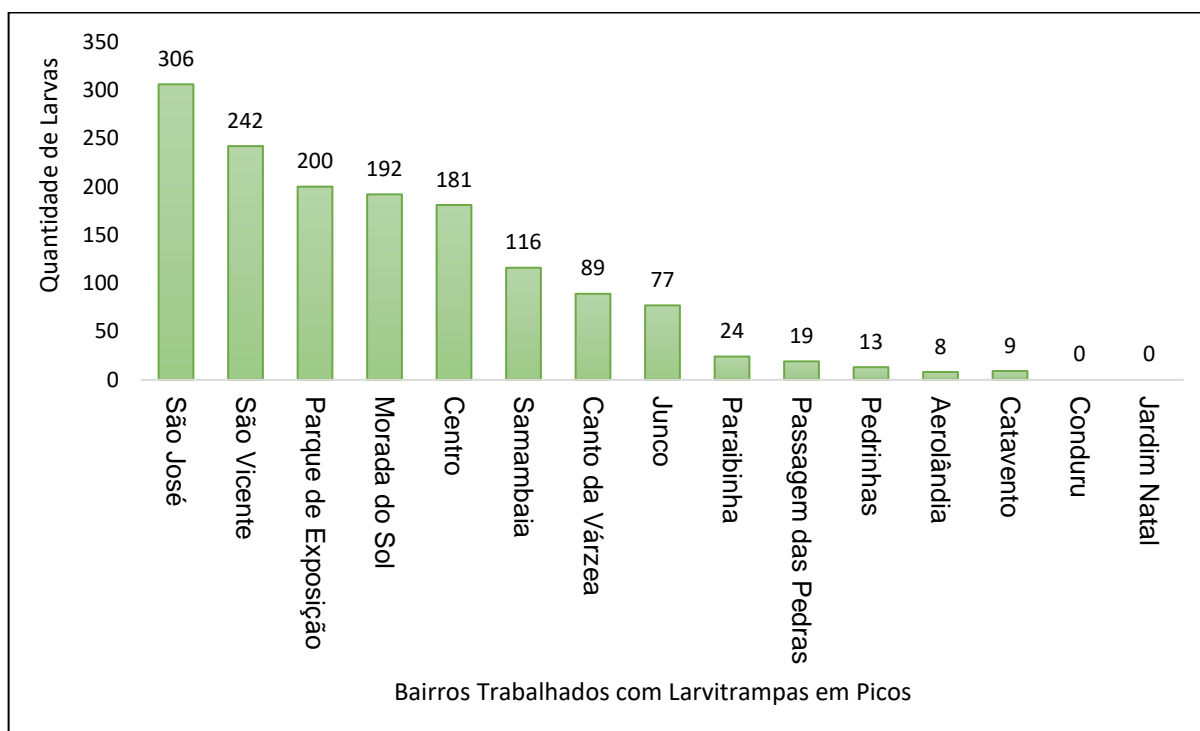


Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Dois espécimes alados foram identificados durante o período de coleta, sendo *Aedes albopictus* confirmando a sua circulação no município. Costa et al (2016) registrou pela primeira vez a sua presença em Picos no ano de 2011, colonizando uma grande diversidade de criadouros naturais e artificiais, assim como o *A. aegypti* possui uma rápida adaptação ao ambiente peridoméstico, embora não possuir casos de transmissão do dengue no município por *A. albopictus*.

Com a identificação de espécimes de *A. aegypti* foi possível estabelecer uma quantidade de larvas coletadas em cada bairro do município de Picos, e este resultado pode ser visto na figura 11.

Figura 11 – Distribuição de larvas do *Aedes aegypti* coletados nas larvitrapas distribuídas nos bairros do município de Picos.



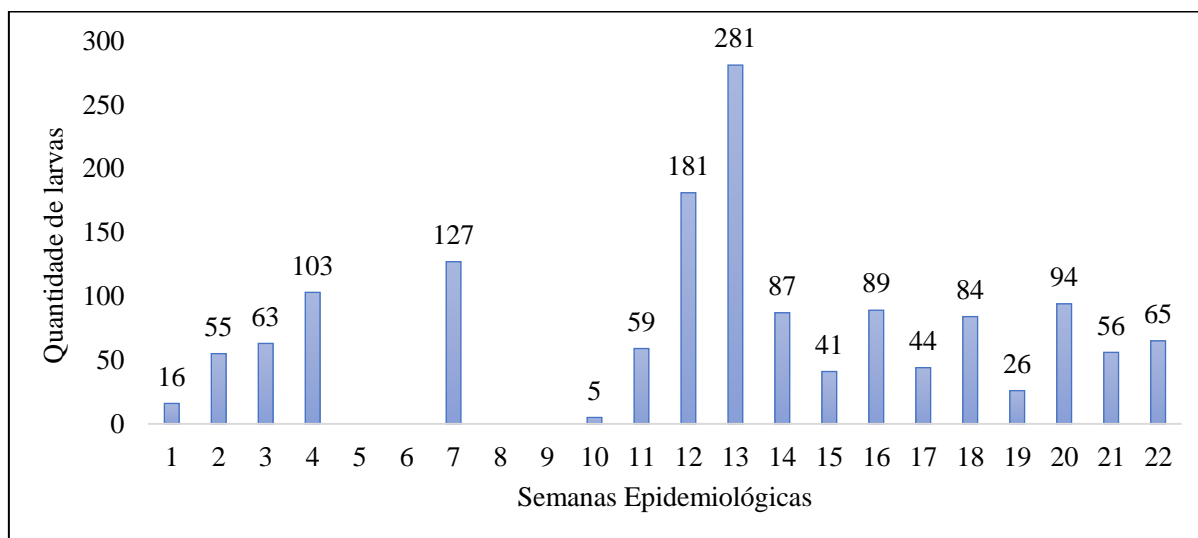
Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

Os bairros onde foram percebidos uma maior quantidade de larvas coletadas do mosquito *A. aegypti* foram os bairros São José, São Vicente, Parque de Exposição, Morada do Sol e Centro, respectivamente. Esses bairros possuem uma maior quantidade de larvitrapas distribuídas, especificamente por haver uma maior quantidade de imóveis e conseqüentemente uma maior concentração populacional, pois são esses alguns dos fatores apontados por haver a presença de criadouros do *A. aegypti*.

No bairro São José, onde foi possível coletar uma maior quantidade de larvas estão distribuídas quatro armadilhas, duas em locais intradomiciliar e duas armadilhas em locais peridomicílio. A falta de saneamento básico, esgotos a céu aberto, acúmulo de lixo, presença de terrenos baldios nos arredores das armadilhas, o abastecimento de água ineficaz levando à utilização de recipientes para reservar água nas residências, podem ser fatores determinantes para a presença significativa do *A. aegypti* neste bairro. Fatores esses que podem ser encontrados nos demais bairros onde foi expressivo o número de larvas coletadas. Nos bairros onde houve uma menor quantidade de larvas do *A. aegypti* coletados é importante ressaltar que existe a presença do mosquito, então deve-se ter uma preocupação com esses bairros também por possuírem os mesmos fatores que influenciam na presença do *A. aegypti*.

Levando em consideração as semanas epidemiológicas trabalhadas de 01 de fevereiro a 26 de junho, temos os seguintes resultados (Figura 12):

Figura 12 - Abundância de larvas de *Aedes aegypti* coletadas por semanas epidemiológicas trabalhadas de 01 de fevereiro a 26 de junho no município de Picos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

As semanas epidemiológicas que mais se destacaram em quantidade de larvas de *A. aegypti* coletadas foram a semana epidemiológica 12 (17 de abril) e 13 (24 de abril), com o registro de 181 e 281 larvas, respectivamente. Apesar de não ser um mês predominante de chuva no município e nos dados apresentados das vistorias do CCZ são encontradas poucas larvas de *A. aegypti* no mês de Abril, pode se justificar este elevado número de larvas encontradas pois os ovos são capazes de eclodirem quando os índices de pluviosidade diminuem e as temperaturas se elevam.

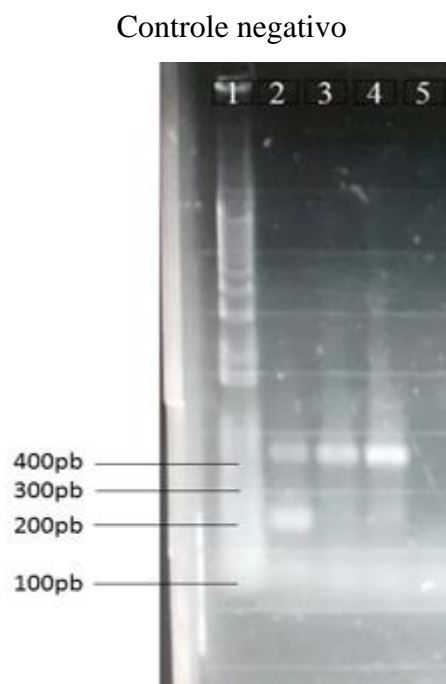
O número significativo de larvas de *A. aegypti* coletadas em Picos revela a alta capacidade deste mosquito em se adaptar no meio urbano, encontrando neste espaço condições ambientais e sociais ideais para a sua procriação.

5.3 Detecção do Vírus Dengue em Amostras de *Aedes aegypti* por Meio da RT-PCR.

Apenas mosquitos adultos fêmeas de *A. aegypti* foram utilizadas para as etapas de extração do RNA viral, seguindo o estudo feito por Martins, et al (2012). Na semana de 5 a 11 de março de 2017, foram testadas no Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular da UECE, um total de 18 espécimes fêmeas de *A. aegypti* perfazendo 3 pools, para a extração do RNA viral seguido pela técnica de RT-PCR e Nested-PCR.

Dentre as amostras de *A. aegypti* analisadas, a amostra 1 foi positiva para DENV 1 e DENV 3, e as amostras 2 e 3 foram positivas para DENV 1. Na figura 13 pode-se observar os produtos amplificados pela RT-PCR, submetidas a eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio 1%.

Figura 13 – Resultado da RT-PCR em Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo 1%. Poços: (1) Marcador molecular; (2) Amostra 1; (3) Amostra 2; (4) Amostra 3; (5)



Fonte: Elaborado pelo autor (2017)

O produto da RT-PCR, mostra no poço 2 a detecção do sorotipo DENV 1 e 3, e nos canais 3 e 4 foi detectado o sorotipo DENV 1. No poço 2 A banda superior de 482 pb corresponde ao DENV 1 e a banda inferior de 290 pb corresponde ao DENV 3.

Neste estudo foi possível realizar pela primeira vez no município de Picos a tipagem do vírus dengue em mosquitos *A. aegypti* naturalmente infectados, a partir da detecção preliminar de DENV 1 e 3 em amostras de mosquitos fêmeas de *A. aegypti* adultos, emergentes de larvas que foram coletados no campo, privados de qualquer alimentação de sangue.

6 DISCUSSÃO

Muitos estudos evidenciam a importância do monitoramento feito por órgãos da vigilância epidemiológica, que medem a infestação de *A. aegypti* em áreas urbanas. Segundo Costa, et al (2016) a vigilância epidemiológica é a maior estratégia de controle de mosquitos transmissores da Dengue, sendo o único método para se prevenir futuras epidemias.

No Brasil, o monitoramento do mosquito *A. aegypti* acontece, essencialmente, a partir do levantamento das formas imaturas, comumente chamado de pesquisa larvária. O índice mais comum é o Índice de Infestação Predial (IIP) (FORATTINI, 2002; GOMES 1998; MORATO, 2005). Contudo, encontrar larvas e pupas numa inspeção de pesquisa larvária não significa, necessariamente, que haja simultaneamente fêmeas adultas no local inspecionado, uma vez que as formas aquáticas podem ter sido originadas de ovos depositados meses antes e as larvas eclodiram recentemente em resposta à condições ambientais favoráveis (ACYOLI, 2006).

De acordo com Braga; Valle (2007) o monitoramento de larvas que é feito por diversos órgãos de vigilância epidemiológica, é importante para verificar o impacto das estratégias básicas de controle da doença, dirigidas à eliminação do vetor.

Entretanto, Regis, (2009) afirmam que os métodos de vigilância usados nos programas brasileiros não têm sido capazes de revelar as reais taxas de infestação por *Aedes*. Onde novos instrumentos devem ser utilizados para ampliar a capacidade do setor de saúde para a prática da vigilância, levando em consideração os aspectos relativos ao vetor, ao local vitoriado e às pessoas, para a tomada de decisão a respeito dos métodos mais adequados para cada situação.

As armadilhas que viabilizam o monitoramento das formas de vida do mosquito *A. aegypti*, são usadas para verificar a atividade de ovoposição de mosquitos vetores, sendo eficiente para a detecção precoce de novas infestações e para a vigilância de populações de vetores. As larvitampas confeccionadas com pneu são as mais simples de serem confeccionadas (WHO, 2009).

Silva, et al (2009) demonstrou uma maior eficiência de larvitampas se comprado com ovitampas, ambas espalhadas no bairro Campo Grande na cidade do Rio de Janeiro. Esses resultados mostram a eficiência de larvitampas na captura de larvas do mosquito *A. aegypti*.

Neste estudo foi possível identificar 1.476 larvas do *A. aegypti* no Laboratório de Pesquisa III da UFPI, a partir de condições propícias no Laboratório, 791 larvas (53,59%) foram capazes de se desenvolverem para estagio adulto onde foi possível diferenciar mosquitos *A. aegypti* quanto ao sexo (469 machos e 322 fêmeas).

O trabalho realizado por Martins, et al (2012) identificou 3.417 larvas de *A. aegypti* a na cidade de Fortaleza, Ceará. Semelhante ao trabalho feito por Pinheiro, et al (2014), que conseguiu identificar 3.800 espécimes de *A. aegypti* em estágio de larva no município de Vassouras, no estado do Rio de Janeiro.

O bairro do município de Picos com uma maior quantidade de larvas do *A. aegypti* coletadas foi o bairro São José com 306 larvas identificadas durante este estudo. Rêbello, et al (1999) a partir da verificação da densidade populacional de *A. aegypti* na Ilha de São Luís, Maranhão, pôde observar que as zonas de maior incidência do mosquito vetor deve-se a grande quantidade de imóveis e a grande concentração populacional em aglomerados de habitações sem saneamento básico.

O mosquito *A. aegypti* possui adaptações às condições das cidades, exigindo ações coordenadas de múltiplos setores da sociedade e mudanças de hábitos culturais das populações expostas. Os rápidos e desordenados processos de urbanização, associados ao deslocamento das populações humanas, favorecem o surgimento de condições para o aumento da densidade de mosquitos nas grandes cidades (GUBLER, 2004; MARZOCHI, 1994; TAUIL, 2001).

O período que mais se destacou na coleta de larvas do *A. aegypti* foram as semanas epidemiológicas 12 (17 de abril) e 13 (24 de abril), com o registro de 181 e 281 larvas, respectivamente, este período no município de Picos é característico por haver umas poucas chuvas, sendo o mês seguinte do período de chuvas (janeiro, fevereiro e março). Porém sua presença foi detectada em todos os meses de estudo.

Segundo Souza (1999), períodos com menor pluviosidade o mosquito *A. aegypti* pode reproduzir-se dentro das residências, ou seja, os mosquitos depositam seus ovos durante o período mais chuvoso e os mesmos eclodem quando os totais pluviométricos diminuem e as temperaturas se elevam.

Viana; Ignotti (2013), evidenciam que mesmo a dengue sendo uma doença tipicamente sazonal são registrados casos da dengue tanto no período chuvoso quanto no seco, havendo uma dificuldade no estabelecimento de um padrão sazonal da incidência da doença.

Durante o verão, no Brasil, que é predominante nos primeiros meses do ano, as altas taxas de pluviosidade, está ligada intimamente na distribuição do mosquito vetor da dengue, além da temperatura e umidade relativa do ar, sendo uma doença predominante nesse período, pois aumenta consideravelmente o número de criadouros, disponíveis para o seu desenvolvimento (COELHO, 2012; DINIZ et al., 2014).

Dibo et al. (2008) confirmam que o número significativo de ovos, larvas e mosquitos é mais frequente em períodos de temperaturas e índices pluviométricos mais elevados, ou seja, assim sendo considerável o número de larvas encontradas nos primeiros meses de 2017.

O estudo realizado por Zeidler, et al (2008) pode justificar que a população de *A. aegypti* aumenta em períodos de chuva provavelmente por causa do acúmulo de água em reservatórios naturais e/ou artificiais, aumentando assim o número de criadouros propícios para ovoposição do mosquito fêmea. Souza (1999), ainda relata que mesmo em períodos com menor pluviosidade o mosquito transmissor da doença *A. aegypti* pode reproduzir-se dentro das residências, ou seja, os mosquitos depositam seus ovos durante o período mais chuvoso e os mesmos eclodem quando os totais pluviométricos diminuem e as temperaturas se elevam.

A RT-PCR nos últimos anos revolucionou o diagnóstico de doenças infecciosas e demonstrou ser bastante útil no diagnóstico da dengue. É uma técnica rápida simples e eficiente na identificação e caracterização de arbovírus (GUZMAN; KOURI, 2002; CABEZAS, 2005).

De acordo com Pinheiro et al, (2005) a técnica de RT-PCR é utilizada em diversas regiões do mundo desde a década de 1990, para a detecção do vírus da dengue em tecidos de mosquitos. No Brasil, essa técnica é de grande validação para o monitoramento da circulação de sorotipos do DENV.

O estudo realizado por Martins, et al (2012) utilizou a técnica de RT-PCR para a detecção dos sorotipos circulantes na cidade de Fortaleza, Ceará, a partir de amostras de mosquitos adultos de *A. aegypti*, dentre os seus resultados, após a análise de 47 pools de fêmeas do mosquito foi possível identificar a infecção de DENV 2 e 3. Esta técnica também foi utilizada por Costa, et al (2009), realizado em 46 bairros da cidade de Manaus, Amazonas, onde detectou em 11 pools de mosquitos fêmeas de *A. aegypti*, a positividade para DENV 1 e 3.

Antes de 1975, apenas o DENV-2 e o DENV-3 circulavam nas Américas, em 1977, o DENV-1 foi responsável pelas epidemias de dengue ocorridas na Jamaica e em Cuba, em 1978, espalhando-se nos anos seguintes pelo Caribe, México, Estados Unidos, América Central e norte da América do Sul, apresentaram as características clínicas de dengue clássica (SCHATZMAYR, 2008).

No Brasil, os primeiros casos de dengue, com confirmação laboratorial, ocorreram em no estado de Roraima, em 1982, com o isolamento dos sorotipos 1 e 4 (OSANAI, 1983). A análise dos sorotipos circulantes numa localidade é importante, pois alguns vírus causam manifestações clínicas mais severas, fato observado mais comumente em locais com circulação simultânea de diferentes sorotipos (BALMASEDA et al., 2006). De acordo com Passos, et al., (2004) indivíduos acometidos pelo DENV 3 apresentam sintomatologia mais grave,

apresentando chance 6,07 vezes maior de apresentar choque em relação a indivíduos infectados com DENV 2, sugerindo maior virulência deste sorotipo

O DENV estabeleceu-se definitivamente no país após a introdução do DENV-2, em 1990 e do DENV-3, no final do ano 2000 (NOGUEIRA et al., 2001), ambos no Rio de Janeiro.

Portanto, o monitoramento da circulação viral em vetores, por meio da técnica de RT-PCR, se torna uma alternativa de identificar com antecedência e credibilidade a disseminação do vírus, auxiliando a determinar épocas e locais onde deve ser aplicado políticas públicas de controle de doenças transmitidas pelo *A. aegypti* com o objetivo de futuras epidemias.

7 CONCLUSÃO

O levantamento epidemiológico do vetor da Dengue na região metropolitana de Picos, mostra as características ecológicas do mosquito como distribuição, principais criadouros, fatores ambientais que favorecem sua dispersão e índice de infestação predial, sendo de fundamental importância visto que o controle da densidade vetorial é a única maneira de controlar a doença.

Índices de Infestação Predial abaixo de 1% nos anos de 2015 e 2016, classifica o município fora dos riscos de surto para a Dengue, porém a quantidade significativa de larvas coletadas no ano de 2017 neste estudo, reflete um quadro preocupante no que diz respeito a presença e abundância do *A. aegypti* em Picos, assim a vigilância entomológica deve trabalhar periodicamente e promover ações de controle para evitar futuras epidemias no município.

Os resultados preliminares de amostras de mosquitos *A. aegypti* coletados em campo mostrou a co-circulação de DENV 1 e DENV 3. Este é o primeiro trabalho realizado na cidade de Picos, que mostra o sorotipo Dengue circulante.

Estudos sobre a epidemiologia e investigação do sorotipo viral se tornam ferramentas interessantes no ponto de vista controle/prevenção da doença, sendo uma ferramenta indispensável para a identificação das variantes genéticas do DENV, as quais podem estar relacionadas com o surgimento das formas mais severas da doença na população humana.

REFERÊNCIAS

- ACYOLI, R. V. **O uso de armadilhas de oviposição (ovitrampas) como ferramenta para o controle da dengue.** 2006. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006.
- AGUIAR, R.B.; GOMES, J. R. C. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado do Piauí. **Fortaleza: CPRM.** Ceará, n. 8, p. 1, 2004.
- AHMAD, N.; FAZAL, H.; AYAZ, M.; ABBASI, B.H.; MOHAMMAD, I.; FAZAL, L. Dengue fever treatment with Carica papaya leaves extracts. **Asian Pac J Trop Biomed**, Ásia, v. 1, n. 4, p. 330–333, 2011.
- ÃNEZ, G. Molecular evolution of dengue virus: a necessary field of research. **Investigación Clínica**, Maracaibo, v.48, n.3, p.273-276, 2007.
- ARAÚJO, J. M. G.; SCHATZMAYR, H. G.; FILIPPIS, A. M.; SANTOS, F. B.; CARDOSO, M. A.; BRITTO, C.; COELHO, J. M. A retrospective survey of dengue virus infection in fatal cases from an epidemic in Brazil. **J Virol Methods**. v. 155, p. 34-38, 2009.
- BANCROFT, T. L. On the etiology of dengue fever. **Aust Med Gaz.** v. 25, p. 17-18, 1907.
- BALMASEDA, A.; HAMMOND, S. N.; PÉREZ, L.; TELLEZ, Y.; SABORÍO, S. I.; MERCADO, J. C.; CUADRA, R.; ROCHA, J.; PÉREZ, M. A.; SILVA, S.; ROCHA, C.; HARRIS, E. Serotype-Specific differences in clinical manifestations of dengue. **The American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, n. 74, p. 449-456, 2006.
- BARTENSCHLAGER, R.; MILLER, S. Molecular aspects of Dengue virus replication. **Future Microbiol**, v. 3, n. 2, p. 155-165, 2008.
- BEAUTE, J.; VONG, S. Cost and disease burden of dengue in Cambodia. **BMC Public Health**, v. 10, p. 521–526, 2010.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.16, n.4, p.295-302, 2007.
- BRASIL. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Diretoria Técnica em Gestão. **Diagnóstico rápido nos municípios para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil – LIRAA**: metodologia para avaliação dos Índices de Breteau e Predial. Brasília, 2005.
- BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE, Brasil. **Levantamento Rápido do Índice de Infestação por *Aedes aegypti* LIRAA**, v. 1, 28 f. 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Brasília: Ministério da Saúde; 444 f. 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* – LIRAA - para Vigilância Entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil.** Brasília; 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Plano de Contingência Nacional para Epidemias de Dengue**, Brasília, 30 f. 2015.

BRITO A.L. **Perfil epidemiológico da dengue no Brasil, nos anos 2009 a 2013.** 2015. 13 f. Trabalho de conclusão de curso. (Bacharelado em Biomedicina) - Centro Universitário de Brasília, Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Brasília, 2015

CABEZAS, C. Dengue em el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Rev. Peru Med. Exp. Salud Publica*, v. 22, n. 3, p. 212-228, 2005

CARVALHO, R.G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; BRAGA, I.A. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 109, p. 787-796, 2014.

CHEN, R.; VASILAKIS, N. Dengue - Quo tu et quo vadis? **Viruses**, v.3, p. 1562-1608, 2011.

CHU J. J. H.; NG, M. L. Infectious Entry of West Nile Virus occurs through a Clathrin-Mediated Endocytic Pathway Infectious Entry of West Nile Virus Occurs through a Clathrin-Mediated Endocytic Pathway. **Journal of Virology**, v. 78, n. 19, p.10543-10555, 2004.

CLELAND, J. B.; BRADLEY, B.; MACDONALD, W. Further Experiments in the Etiology of Dengue Fever. **J Hyg**, Londres, 18:217-254, 1919.

CLYDE, K.; KYLE, J. L.; HARRIS, E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. **Journal of virology**, v. 80, n. 23, p. 11418-11431, 2006.

COELHO, G. E. Challenges in the control of *Aedes aegypti*. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, v. 54, n. 18, p. 13, 2012.

CONEGLIAN, A. R.; MATTIA, P. C. M.; RODOLPHO, T. M.; FRANÇA, J. G. ; MONKOLSKI, A. Incidência de dengue no município de Barbosa Ferraz, Paraná, Brasil. **SaBios: Rev. Saúde e Biol**, v.7, n.1, p.6-12, jan./abr., 2012.

CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.** Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1994.

COSTA, C. A.; SANTOS, I. G. C.; BARBOSA, M. G. Detecção e tipagem de vírus dengue em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) na Cidade de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42, n. 6, p. 677-681, 2009.

COSTA, L. H. **Avaliação de infoquímicos presentes em ovos e larvas de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) como atraentes e/ou estimulantes de ovoposição para grávidas co-específicas.** 2010. Dissertação (Mestrado em

Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto De Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 2010.

COSTA, A. R.; SANTANA, C. M.; SILVA, V. L.; PINHEIRO, J. A. F.; MARQUES, M. M. M.; FERREIRA, P. M. P. Análise do controle vetorial da dengue no sertão piauiense entre 2007 e 2011. **Cad. Saúde Colet.**, Rio de Janeiro, n. 24, v. 3, p. 275-281, 2016.

DIBO, M. R.; CHIEROTTI, A. P.; FERRARI, M. S.; MENDONÇA, A. L.; CHIARAVALLI NETO, F. Study of the relationship between *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* egg and adult densities, dengue fever and climate in Mirassol, state of São Paulo, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 103, n. 6, p. 554-560, 2008.

DINIZ, M.M.C.S.L.; HENRIQUES, A.D.S.; LEANDRO R.S.; AGUIARI, D.L.; BESERRA, E.B. Resistência de *Aedes aegypti* ao temefós e desvantagens adaptativas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.48, n.5, p.775-782, mai. 2014.

FALGOUT, B.; PETHEL, Y. M.; LAI, C. J. Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for proteolytic processing of dengue virus nonstructural proteins. **Journal of Virology**, v. 65, p. 2467–2475, 1991.

FIGUEIREDO, L. T. M. Dengue in Brazil: history, epidemiology and research. **Vírus Rev & Res.** v. 1, p. 9-16, 1996.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia.** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. vol. 2. p. 453-449, 2002.

FORATTINI, O. P.; BRITO, M. Household water reservoirs and control of *Aedes aegypti*. **Rev Saude Publica**, v. 37, p. 676–677, 2003.

FRANCO-PAREDES C.; JONES D.; RODRIGUEZ-MORALES A. J.; SANTOSPRECIADO J. I. Commentary: improving the health of neglected populations in Latin America. **BMC Public Health**, v. 7, p. 11, 2007.

GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e Comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Dengue**, v. 37, p. 379-396. 1985.

GOLLINS, S. W.; PORTERFIELD, J. S. The uncoating and infectivity of the flavivirus west nile on interaction with cells effects of pH and ammonium chloride. **J Gen Virol**, v. 67, p. 1941-59, 1986.

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

GOMES, A. C. Especificidade da armadilha Adultrap para capturar fêmeas de *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 40, n. 2, p. 216-219, mar./abr. 2007.

GUBLER, D.J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 11, n. 3 p. 480–496, 1998.

GUBLER, D.; KUNO, G. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **eds.** Cambridge: CAB International, Cambridge, p. 175-98. 1998.

GUBLER, D. J. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, n. 27, p. 319–330, 2004.

GUPTA, N.; SRIVASTAVA, S.; JAIN, A.; CHATURVEDI, U.C. Dengue in India. **The Indian Journal of Medical Research**. Índia, v.136, n.3, p.373-390, 2012.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: atualização. **Coleção estudos da cidade**, n. 47, 2002.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue diagnosis. Advances and challenges. **Internacional Journal of Infectious Diases**, v. 8, n. 2, p. 69-80. 2004

HANG, V. T.; NGUYET, N. M.; TRUNG, D. T.; TRICOU, V.; YOKSAN, S.; DUNG, N. M.; NGOC, T. V.; HIEN, T. T.; FARRAR, J.; WILLS, B.; SIMMONS, C. P Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Severity, Specificity and Relationships to Viraemia and Antibody Responses. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, Washington, v.3, n.1, p.1-7, 2009

HENCHAL, E. A.; PUTNAK, J. R. Global epidemiology of dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. v. 21, p. 636-641, 1990.

HOLMES, E. C. RNA virus genomics: a world of possibilities. **The Journal of Clinical Investigations**, v.119, n.9, p. 2488-2495, 2009.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Cidades**. Disponível em <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=220800> Acesso em: 26 jun. de 2017.

JANSEN, C.C.; BEEBE, N.W. The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next? **Microbes and Infection**, v. 12, p. 272-279, 2010

JESSIE K.; FONG, M. Y.; DEVI, S.; LAM, S. K; WONG, K. T. Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. **Journal Infectious Disease**, v. 189, n. 8, p. 1411-1418, 2004

KHROMYKH, A. A.; VARNAVSKI, A. N.; SEDLAK, P. L.; WESTAWAY, E. G. Coupling between replication and packaging of flavivirus RNA: evidence derived from the use of DNAbased full-length cDNA clones of Kunjin virus. **J Virol**, v. 75, p. 4633-4640, 2001.

KUHN, R. J.; ZHANG, W.; ROSSMANN, M. G.; PLETNEV, S. V.; CORVER, J.; LENCHES, E.; JONES, C. T.; MUKHOPADHYAY, S.; CHIPMAN, P. R.; STRAUSS, E. G.; BAKER, T. S.; STRAUSS, J. H. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation and fusion. **Cells**, v. 108, p. 717–725, 2002.

LANCIOTTI, R. S.; CALISHER, C. H.; GUBLER, D. J.; CHANG, G. J.; VORNDAM, A. V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol**. v. 30, n. 3, p. 545-51, 1992.

LANCIOTTI, R. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. **J Gen Virol.** v. 75, p. 65-75, 1994.

LEANDRO, R. S. **Competição e dispersão de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) em áreas de ocorrência no município de João Pessoa –PB.** 2012. 68 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, Paraíba, 2012.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flaviviruses. **Adv Vírus Res,** v. 59, p. 23-61, 2003.

LINDENBACH, B. D.; THIEL, H. J.; RICE, C. M. Flaviviridae: the viruses and their replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM. (Ed.). **Virology.** Philadelphia, p. 1101-1154, 2007.

LODEIRO, M. F.; FILOMATORI, C. V.; GARMANIK, A. V. Structural and functional studies of the promoter element for dengue virus replication, **J virol,** v. 83, p. 993-1008, 2009.

LUPI, O. Mosquito-borne hemorrhagic fevers. **Dermatologic Clinics,** v. 29, n. 1, p. 33-38. Jan. 2011.

MACKENZIE, J. S.; GUBLER, D. J.; PETERSEN, L. R. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. **Nat Med,** n. 10, v. 12, p. 98-109, 2004.

MAFRA R.L.M.; ANTUNES, E. Comunicação, estratégias e controle da dengue: a compreensão de um cenário público de experiência. **Saúde e Sociedade,** São Paulo, v.24, n.3, p.977-990, jul./set. 2015.

MARTINS, V.E.P.; ALENCAR, C.H.M.; FACÓ, P.E.G.; DUTRA, R.F.; ALVES, C.R.; PONTES, R.J.S.; GUEDES, M.I.F. Spatial distribution and breeding site characteristics of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in Fortaleza, State of Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** Minas Gerais, v.43, p.73-77, 2010.

MARTINS, V. E. P.; ALENCAR, C. H.; KAMIMURA, M. T.; ARAÚJO, F. M. C.; SIMONE, S. G., DUTRA, R. F.; GUEDES, M. I. F. Occurrence of Natural Vertical Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceara, Brazil. **PlosOne.** v. 7, n. 7, p. 1-9. 2012.

MARQUES, S. M. **Fatores de risco para complicações por dengue em menores de 15 anos no município de Goiânia.** 2013. 113f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue in Brazil – situation, transmission and control – a proposal for ecological control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** Rio de Janeiro. v. 89, p. 235-245, 1994.

- MBI. Picos (PI) - **Índice de bairros e demais núcleos populacionais**. Disponível em: <<http://www.mbi.com.br/mbi/biblioteca/cidade/picos-pi-br/>> Acesso em 15 jun. De 2017
- MIAGOSTOVICH, M. P. Genetic characterization of dengue virus type 3 isolates in the State of Rio de Janeiro, 2001. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v.35, n.8, p.869-872, 2002.
- MOHAMMED, A; CHADEE D. D. Effects of diferente temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. **Acta Tropica**, v.119, n.1, p.38-43, jul. 2011.
- MORATO, V. C. G. et al. Infestation of *Aedes aegypti* estimated by oviposition traps in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 553-558, 2005.
- NEVES D. P.; MELO A. L.; LINARDI P. M.; VITOR R. W. A., Parasitologia Humana, 11ª edição, Atheneu, 2007.
- NOGUEIRA, R.M.R.; MIAGOSTOVICH, M.P.; FILIPPIS, A.M.B.; PEREIRA, M.A.S.; SCHATZMAYR, H.G. Dengue type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**; v.96, n.7, p.925-926, 2001.
- OSANAI. Dengue outbreak in Boa Vista, Roraima.Preliminary report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.25, n.1, p.53-54, 1983.
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Descripción de la situación epidemiológica actual del dengue en las Américas**. 2016. Disponível em: <www.paho.org/hq/index.php?option=com_contentview=articleid=4494:descripcion-situacion-epidemiologica-actual-dengue-americanaseItemid=2481elang=pt>. Acesso em: 13 jun. de 2017.
- PASSOS, M. N. P.; SANTOS, L. M. J. G.; PREIRA, M. R. R.; CASALI, C. G.; FORTES, B. P. M. D.; VALENCIA, L. I. O.; ALEXANDRE, A. J.; MEDRONHO, R. A. Diferenças clínicas observadas em pacientes com dengue causadas por diferentes sorotipos na epidemia de 2001/2002, ocorrida no município do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 4, p. 293-295, 2004.
- PINHEIRO, R. F.; ALVES, S. P.; OLIVEIRA, A. A.; ESPINDOLA, C. B.; MALECK, M.. Avaliação da Presença de *Aedes aegypti* (Linnaeus) e *Aedes albopictus* (Skuse) no Município de Vassouras, RJ, Brasil. **Entomo Brasilis**.v. 7, n. 2, p. 116-123, 2014.
- PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P.; BARROS, P. M. S. S.; VASCONCELOS, P. F.C.; CRUZ, A. C. R. Detection of dengue virus serotype 3 by reverse transcription polymerase chain reaction in *Aedes aegypti* (Díptera, Culicidae) captured in Manaus, Amazonas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 833-839, 2005.
- QI, R.; ZHANG, L.; CHI, C. Biological characteristics of dengue virus and potencial targets for drug design. **Acta Biochimica et biophysica sinica**, v. 40, p. 91-101, 2008.

REBELO, J. M. M.; COSTA, J. M. L.; SILVA, F. S.; PEREIRA, Y. N. O.; SILVA, J. M. Distribuição do *Aedes aegypti* e do dengue no Estado do Maranhão, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 15, p. 477-486, 1999.

REGIS, L. An entomological surveillance system based on open spatial information for participative dengue control. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 4, p. 655-662, 2009.

RODRIGUEZ-ROCHE, R.; GOULD, E.A. Understanding the dengue viruses and progress towards their control. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-20, mai. 2013.

ROSEN, L. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 32,. P. 1108-1119, 1983.

TEO, D.; NG, L.C.; LAM, S. Is dengue a threat to the blood supply? **Transfusion Medicine**, v. 19, n. 2, p. 66-77, 2009.

SABIN, A.B. Research on dengue during World War II. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v.1, p.30-50, 1952.

SAMUEL, P. P.; TYAGI, B. K. Diagnostic methods for detection & isolation of dengue viruses from vector mosquitoes. **Indian J. Med. Res**, v. 123, p. 615-628, 2006.

SCAPR, PORTO DE IBIRUTUBA. **Plano de Contingência Contra a Dengue, Febre Chikungunya e Zika Vírus**, 2016, 10 f. Governo de Santa Catarina. Brasil. 2016.

SCHATZMAYR, H. G. Dengue situatuion in Brazil by year 2000. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 1, 2000.

SCHATZMAYR, H. G. Aspectos Históricos da Dengue e de seus vetores. In: SOUZA, L. J. **Dengue. Diagnóstico, Tratamento e Prevenção**. Rio de Janeiro: Rubio, 2008. p.1-10.

SESAPI. Secretaria de Estado da Saúde. **Piauí registrou quase 7,7 mil casos de dengue em 2015**. Disponível em: <<http://www.saude.pi.gov.br/noticias/2016-01-05/6916/piaui-registrou-quase-7-7-mil-casos-de-dengue-em-2015.html>> Acesso em: 15 jun. de 2017.

SESAPI. Secretaria de Estado da Saúde. 2017. **Número de casos de dengue no Piauí em 2016 caiu 32,3%, diz secretaria**. Disponível em: <<http://g1.globo.com/pi/piaui/noticia/2017/01/numero-de-casos-de-dengue-no-piaui-em-2016-caiu-323-diz-secretaria.html>>. Acesso em: 25 jun. de 2017.

SILVA, V. C; SERRA-FREIRE, N. M.; SILVA, J. S; SCHERER, P. O.; RODRIGUES, I; CUNHA, S. P.; ALENCAR, J. Estudo comparativo entre larvitrapas e ovitrapas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo Grande, Estado do Rio de Janeiro. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, n. 6, p. 730-731. Nov-dez, 2009.

SOUZA, S. R. Fatores associados à ocorrência de formas imaturas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 32, n. 4, p. 373-382, 1999.

SOUZA, J.P.; CAMARGOS, V.N.; TARANTO, M.F.R.; SANTOS, M.; ANDRADE, A.C.S.P.; SANTOS, L.L.; TARANTO, A.G.; KROON, E.G.; FERREIRA, J.M.S. Correlação entre aspectos socioeconômicos e dados epidemiológicos do mosquito vetor da dengue. **BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**, Paraná, v.2, n.2, p.150-152, jun. 2013.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 99-102, 2001.

TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e Medidas de Prevenção do Dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, Brasília, v. 8, n. 4, p. 5-33, 1999.

VASCONCELOS, P. F. C.; LIMA, J. W. O.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TIMBÓ, M. J.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; LIMA, H. R.; RODRIGUES, S. G.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p. 447-454, 1998.

VASILAKIS, N.; CARDOSA, J.; HANLEY, K.A.; HOLMES, E.C.; WEAVER, S.C. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. **Nature Reviews Microbiology**, v.9, p.532-541, 2011.

VEGA-RÚA, A.; ZOUACHE, K.; GIROD, R.; FAILLOUX, A. B.; OLIVEIRA, R.L. High vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor of the spread of Chikungunya. **Journal Virology**, Washington DC, v.88, p.6294-6306, 2014.

VIANA D. V, IGNOTTI E. The occurrence of dengue and weather changes in Brazil: a systematic review. **Rev Bras Epidemiol**, 16:240-256., p-2013.

WANG, W.; WANG, S.X.; GUAN, H.S. The Antiviral Activities and Mechanims of Marine Polysaccharides: An Overview. **Marine Drugs**, v.10, p.2795-2816, 2012.

WHITEHEAD, S. S.; BLANEY, J. E.; DURBIN, A. P.; MURPHY, B. R. Prospects for a dengue virus vaccine. **Nature Reviews Microbiology**. v. 5, p. 518-528, 2007.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue**: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control – New edition. Genebra, 2009.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Alert and Response (GAR): Dengue/dengue haemorrhagic fever. 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/disease/dengue/en/>>. Acesso em: 20 jun de 2017.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue and severe dengue**. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>>. Acesso em: 20 jun. de 2017.

ZEIDLER, J. D.; ACOSTA, P. O. A.; BARRÊTO, P. P.; CORDEIRO, J. S. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 986-91, 2008.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
 () Dissertação
 (X) Monografia
 () Artigo

Eu, Henrique Raphael Pontes Ferreira,
 autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de 02
 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
 gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Perfil epidemiológico e molecular da Dengue no
município de Picos, Piauí
 de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
 de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 01 de Março de 2018.

Henrique Raphael Pontes Ferreira
 Assinatura

Henrique Raphael Pontes Ferreira
 Assinatura