



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA
CURSO DE DOUTORADO EM SAÚDE PÚBLICA**

IGOR ADOLFO DEXHEIMER PAPLOSKI

**ARBOVIROSES EM SALVADOR: EMERGÊNCIA, DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL,
DETERMINANTES E CONSEQUÊNCIAS PARA A SAÚDE COLETIVA**

IGOR ADOLFO DEXHEIMER PAPLOSKI

**ARBOVIROSES EM SALVADOR: EMERGÊNCIA, DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL,
DETERMINANTES E CONSEQUÊNCIAS PARA A SAÚDE COLETIVA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro

Salvador
2017

Ficha Catalográfica
Elaboração Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva

P213a Paploski, Igor Adolfo Dexheimer.

Arboviroses em Salvador: emergência, distribuição espaço-temporal, determinantes e consequências para a Saúde Coletiva / Igor Adolfo Dexheimer Paploski – Salvador: I.A.D. Paploski, 2017.

141 f.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro.

Tese (doutorado) – Instituto de Saúde Coletiva.
Universidade Federal da Bahia.

1. Dengue. 2. Zika. 3. Chikugunya. 4. Epidemia. 5.
Epidemiologia. I. Título.

CDU 616.91



Universidade Federal da Bahia
Instituto de Saúde Coletiva – ISC
Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva

IGOR ADOLFO DEXHEIMER PAPLOSKI

Arboviroses em Salvador: emergência, distribuição espaço-temporal, determinantes e consequências para a saúde coletiva.

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a tese, apresentada em sessão pública ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Data de defesa: 02 de maio de 2017.

Banca Examinadora:

Prof. Guilherme de Sousa Ribeiro - Orientador – ISC/UFBA

Profa. Maria da Glória Lima Cruz Teixeira – ISC/UFBA

Prof. Federico Costa – ISC/UFBA

Profa. Cristiane Wanderley Cardoso – SMS/BA

Prof. Adriano Figueiredo Monte Alegre – ICS/UFBA

Salvador
2017

Uma descoberta, por menor que seja ou por mais importante que pareça é, antes de tudo, uma realização pessoal, uma fonte de prazer intelectual.

(SILVA, 2012)

AGRADECIMENTOS

A realização desta Tese de Doutorado apenas foi possível devido ao apoio de diversas pessoas, que com diferentes ações, permitiram a minha vinda à Salvador e meu vínculo ao Instituto de Saúde Coletiva.

Gostaria de agradecer à minha família, que me deu condições de estudar e de ter o privilégio de adentrar no ramo acadêmico.

Aos professores, que moldaram minha forma de pensar e agir, especialmente aqueles dos programas de Pós-Graduação que cursei. Também aos colegas destes programas, pelas as discussões lá vivenciadas.

Aos membros da equipe, atuais ou do passado, coordenada pelo Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro.

Aos Professores Mitermayer Galvão dos Reis, Scott Weaver e Uriel Kitron, pelo apoio à execução do projeto nas mais diferentes facetas e pelas oportunidades por vocês me oferecidas.

Aos membros da Secretaria Municipal de Saúde de Salvador, especialmente nas pessoas de Cristiane Wanderley Cardoso e Ana Paula Prates, pelo apoio fundamental e irrestrito com a coleta e discussão de muitos dados e informações utilizados nesta Tese.

Aos membros das bancas de qualificação e de defesa desta Tese, por disponibilizarem seu tempo e experiência para apreciação deste trabalho.

Ao Professor Guilherme de Sousa Ribeiro, por ter aceitado o desafio de me orientar nos cursos de mestrado e doutorado.

Aos órgãos de financiamento dos estudos, por viabilizarem financeiramente a execução dos mesmos. Ao CNPq, pela minha bolsa de doutorado.

Em especial aos participantes dos estudos, por aceitarem fornecer informações em um momento doloroso, com a expectativa que sua contribuição trouxesse benefícios no futuro.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Introdução

Quadro Teórico.....	28
Figura 1. Número de casos e incidência anual de Dengue no Brasil, entre 2007 e 2015. Dados do Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde.....	41

Artigo 1

Figure. Reported cases of indeterminate acute exanthematous illness and suspected dengue fever in Salvador, Brazil, by date of medical care, February 15-June 25, 2015.....	53
---	----

Artigo 2

Figure 1. Epidemiologic curves of weekly cases and moving averages of 3 weeks and 5 weeks for A) acute exanthematous illness (AEI), B) Guillain-Barré syndrome, and C) suspected microcephaly, Salvador, Brazil, 2015-2016.....	62
Table. Cases of reported acute exanthematous illness, Guillain-Barré syndrome, and microcephaly per epidemiologic week, Salvador, Bahia, Brazil, 2015–2016.....	63
Figure 2. Cross-correlation of acute exanthematous illness with A) Guillain-Barré syndrome and B) suspected microcephaly, Salvador, Brazil, 2015–2016, for a 5-week moving average.....	65

Artigo 3

Figura 1A. Proporção de confirmação de dengue por mês. Em laranja, meses considerados de alta transmissão da doença. Em azul, meses considerados de baixa transmissão da doença. Figura 1B. Número de casos de dengue por sorotipo em cada mês do estudo.....	82
Tabela 1. Frequência de confirmação para dengue entre indivíduos recrutados e confirmados, por período.....	83
Figura 2. Setores censitários em cada período de transmissão de acordo o índice de Getis.....	84
Figura 3 A. Clusteres espaço-temporais da ocorrência de dengue em Pau da Lima, Salvador, entre 2009-2013, B cluster ocorrido entre 04/12/2009 e	

23/02/2010, durante este período 10/54 (19%) casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster; C cluster ocorrido entre 02/03/2010 e 05/08/2010, durante este período 45/310 (15%) casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster; D cluster ocorrido entre 03/03/2011 e 11/05/2011, durante este período 66/123 (54%) dos casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster.....86

Artigo 4

Tabela 1. Caracterização demográfica, clínica e laboratorial dos indivíduos caso recrutados no estudo, estratificados de acordo com o status laboratorial.....105

Tabela 2. Comparação das características entomológicas nos grupos de indivíduos casos que foram diagnosticados com chikungunya ou dengue e de seus respectivos controles.....107

Artigo 5

Figure 1. Location of the storm drains surveyed in Salvador, Brazil.....124

Table 1. Findings from entomological surveys performed in storm drains of four neighbourhoods in Salvador, Brazil in 2015.....128

Table 2. Total number of mosquitoes (adults and immatures) captured during storm drain surveys in four neighbourhoods of Salvador, Brazil in 2015...129

Table 3. Factors associated with *Aedes aegypti* (adults or immatures) presence in 118 storm drains with accumulated water, Salvador, Brazil, 2015.....130

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

Ae. – *Aedes*

AEI – *Acute exanthematous illness* (doença exantemática aguda)

BTI – *Bacillus thuringiensis israelensis*

CESM – Centro de Emergência de São Marcos

CHIKV – Vírus Chikungunya

CI – *Confidence interval* (intervalo de confiança)

CIES – *Centers for Information and Epidemiologic Surveillance* (Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde)

DENV – Vírus da Dengue

ELISA – *Enzyme linked immunosorbent assays* (ensaio imunoenzimático)

ESO – *Epidemiologic Surveillance Office*

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

GBS – *Guillain-Barré syndrome* (síndrome de Guillain-Barré)

GPS – *Global positioning system* (sistema de posicionamento global)

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

LIRAA – Levantamento Rápido do Índice de Infestação por *Aedes aegypti*

NDCP – *National Dengue Control Program* (Programa Nacional de Controle da Dengue)

NS1 – *Non-structural protein 1* (proteína não-estrutural 1)

OMS – Organização Mundial da Saúde

OR – *Odds ratio* (razão de chances)

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)

RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa

SIG – Sistemas de Informações Geográficas

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

US – *United States* (Estados Unidos)

YFV – *Yellow fever virus* (vírus da Febre Amarela)

ZIKV – Vírus Zika

X²- Qui-quadrado

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	4
Lista de Tabelas e Figuras	5
Lista de Siglas e Símbolos	7
Resumo	9
Abstract	10
1. Introdução.....	11
1.1 Referencial Teórico	14
1.1.1 Espaço.....	14
1.1.2 Fatores de risco e multicausalidade.....	19
1.1.3 Interação entre o homem e o ambiente e a emergência de doenças infecciosas	22
1.2 Quadro Teórico	28
1.3 Revisão Bibliográfica.....	29
1.3.1 Arboviroses	29
1.3.2 Biologia de mosquitos vetores de dengue, Zika e chikungunya.....	34
1.3.3 Distribuição espacial de Dengue.....	35
1.3.4 Características entomológicas associadas à ocorrência de dengue e outras arboviroses	38
1.4 Objetivos de pesquisa	40
1.4.1 Objetivo Geral.....	40
1.4.2 Objetivos específicos	40
1.5 Relevância social e científica	40
1.6 Referências Bibliográficas	44
2. Artigo 1 – Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil.....	51
3. Artigo 2 – Time Lags between Exanthematous Illness Attributed to Zika Virus, Guillain-Barré Syndrome, and Microcephaly, Salvador, Brazil	57
4. Artigo 3 – - Distribuição espacial de dengue em uma comunidade urbana Salvador, 2009-2013	75
5. Artigo 4 – Associação entre características do ambiente domiciliar e a ocorrência de arboviroses em Salvador: um estudo de caso controle	95
6. Artigo 5 – Storm drains as larval development and adult resting sites for <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> in Salvador, Brazil	121
7. Conclusões	140

RESUMO

Vários arbovírus tem circulado no Brasil nos últimos anos, entre as quais o vírus da dengue, identificado no Brasil desde os anos 1980, e mais recentemente, os vírus chikungunya e Zika. No ano de 2015, uma epidemia causada pelo vírus Zika atingiu a cidade de Salvador. Esta epidemia ocorreu de forma repentina, afetou grande parte da população e teve um início, meio e fim bem determinados. Após a ocorrência desta epidemia, um aumento no número de casos de Síndrome de Guillain-Barré e de malformações congênitas em recém nascidos foi percebida. O tempo que decorreu desde a epidemia por Zika e a ocorrência dos casos de Guillain-Barré e de malformações congênitas sugere que a epidemia causada pelo vírus Zika pode estar associada à ocorrência destas manifestações graves. Apesar da ocorrência de arboviroses em Salvador há cerca de 40 anos, informações sobre que áreas são mais afetadas e sobre a variabilidade na distribuição de casos entre diferentes momentos epidêmicos e não epidêmicos ainda são escassas. Utilizando dados de uma vigilância aprimorada para síndrome febril aguda, na qual os indivíduos eram sistematicamente testados para dengue, identificamos que áreas diferentes de um bairro foram mais afetadas em diferentes epidemias, o que pode dificultar ações de controle entomológico para diminuir a ocorrência de dengue. Estas ações de controle entomológico se baseiam na premissa de que a ocorrência de casos de arboviroses se deve a diferenças entre a abundância de mosquitos vetores em diferentes ambientes. Utilizando um estudo de caso-controle, não conseguimos identificar diferenças de indicadores entomológicos entre casas de indivíduos com alguma arbovirose e de controles. Entretanto, encontramos mosquitos da espécie *Aedes aegypti* com o vírus chikungunya, sugerindo que esta espécie de mosquito é a responsável pela transmissão deste vírus em Salvador. Por fim, identificamos que determinados criadouros não preferenciais, como bocas-de-lobo, usualmente não vistoriados nas ações de combate ao *Aedes aegypti*, frequentemente acumulam água em seu interior e por vezes servem de criadouros para mosquitos desta e de outras espécies, potencialmente contribuindo para a ocorrência destas arboviroses no ambiente urbano de Salvador.

Palavras-chave: dengue, Zika, chikugunya, arbovírus, epidemia, epidemiologia.

ABSTRACT

Several arboviral outbreaks have occurred in Brazil in recent years, among which dengue, identified in Brasil in the 1980s, and more recently, chikungunya and Zika viruses. In the year 2015, an epidemic caused by the Zika virus occurred in the city of Salvador. This epidemic occurred abruptly, affected a large part of the population and had a well-defined beginning, middle and end. After the occurrence of this epidemic, an increase in the number of cases of Guillain-Barré syndrome and congenital malformations in newborns was noticed. The time elapsed between the Zika epidemic and the occurrence of Guillain-Barré cases and congenital malformations suggests that the epidemic caused by the Zika virus may be associated with the occurrence of these severe manifestations. Despite the occurrence of arboviruses in Salvador for almost 40 years, information on which areas are most affected and on the variability in the distribution of cases between different epidemic and non-epidemic periods are still scarce. Using data from a surveillance for acute febrile syndrome, in which individuals were systematically tested for dengue, we identified that different areas of a neighborhood are most affected in different epidemics, which may hinder focal entomological control activities to reduce the occurrence of dengue. These entomological control actions are based on the premise that the occurrence of arbovirus cases is due to differences between the abundance of mosquito vectors in different environments. Using a case-control study, we could not identify differences in entomological indicators between houses of individuals with arboviral infections and controls. However, we found *Aedes aegypti* mosquitos with the chikungunya virus, suggesting that this mosquito species is responsible for transmission of this virus in Salvador. We also identified that certain non-preferential breeding sites, such as storm drains, usually not sought for in activities to fight *Aedes aegypti*, often accumulate water inside and sometimes serve as breeding ground for mosquitoes of this and other species, potentially contributing to the occurrence of these arboviruses in the urban environment of Salvador.

Key words: dengue, Zika, chikugunya, arbovirus, epidemic, epidemiology.

1. Introdução

As arboviroses são doenças transmitidas aos seres humanos por meio de vetores artrópodes. Estas doenças apresentam grande morbidade e mortalidade no mundo (VASILAKIS; TESH, 2015), sendo que várias destas são reportadas no Brasil, especialmente a dengue, que foi reintroduzida no país na década de 1980. Mais recentemente, surtos de Chikungunya (TEIXEIRA et al., 2015) e Zika (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015) foram identificados no Brasil.

A dengue, chikungunya e Zika são doenças transmitidas a seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*, primariamente pela espécie *Ae. aegypti*, altamente adaptada ao ambiente urbano, e de forma secundária pela espécie *Ae. albopictus*. Os mosquitos da espécie *Ae. aegypti* se reproduzem de forma especialmente bem sucedida em ambientes urbanos antropizados onde o acúmulo de água para fins de consumo humano é rotineiro, a infraestrutura sanitária é precária e onde ocorre o acúmulo de recipientes não biodegradáveis que permitem a presença de água (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014).

A incidência da dengue tem aumentado globalmente nas últimas décadas, estimando-se que ocorram aproximadamente 100 milhões de infecções sintomáticas por ano (BHATT et al., 2013). No Brasil, a média anual de casos de dengue reportados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) entre os anos de 2007 e 2012 foi de 621 mil casos, sendo 45 mil na Bahia e 4,5 mil em Salvador. Contudo, a distribuição da doença não se dá de forma homogênea, existindo áreas com maior incidência da doença (HALSTEAD, 2007). Dentro de uma cidade existem áreas de maior ocorrência da doença (BANU et al., 2012; LIU et al., 2014; TOAN et al., 2013), onde são maiores os níveis de infecção pregressa (LIEBMAN et al., 2012).

Apesar da existência de trabalhos que identificam fatores de risco associados à ocorrência de dengue, estes estudos frequentemente utilizam pacientes hospitalizados com dengue (e por isso, com formas mais graves da doença) (BRAVO; GUZMÁN; KOURI, 1987; LUM et al., 2002; THEIN et al., 1997), ou apenas casos notificados (como por exemplo, ao SINAN) da doença (CARDOSO et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2005). Uma vez que a dengue é subnotificada em períodos interepidêmicos e super-notificada em períodos epidêmicos (GUBLER, 2002a; TEIXEIRA et al., 2002), as medidas de ocorrência

da doença com base em notificações são enviesadas, comprometendo a identificação dos fatores de risco para infecção por dengue. Devido à recente introdução dos vírus chikungunya e Zika no Brasil, não existem informações epidemiológicas disponíveis atualmente a respeito destas doenças.

O desenvolvimento de Sistemas de Informações Geográficas (SIG) tem permitido o uso mais frequente e aperfeiçoado do componente espacial em estudos epidemiológicos. Um desenvolvimento conceitual do campo geográfico, que passou a considerar não apenas o local em que eventos ocorrem, mas também porque a formação destes eventos se deu naquele local, permitiu uma melhor utilização destas ferramentas dentro do campo sanitário. No campo da saúde, Sistemas de Informações Geográficas tem permitido o mapeamento de diferentes doenças e agravos, a análise de distribuição espacial e espaço-temporal (TRAN et al., 2004), a identificação de fatores de risco espaciais e a identificação com maior precisão de áreas de risco para a ocorrência destes eventos (ROBINSON, 1998; TRAN et al., 2002). No caso específico da dengue, os programas de controle conduzidos pelos órgãos públicos tem foco no controle vetorial (FUNASA, 2002), estratégia que requer a identificação de áreas onde as ações desenvolvidas podem ser mais eficientes.

O controle da dengue no Brasil é feito baseado na premissa de que índices de infestação vetorial (mensurados por métodos como o Índice de Breteau, o Índice de Infestação Predial, ou indicadores como o LIRAA) são capazes de prever a ocorrência de casos de dengue e que casos da doença serão prevenidos se ações de controle vetorial forem intensificadas em áreas com altos índices de infestação. Entretanto, existem argumentos de que estes índices não são capazes em identificar nuances entomológicas importantes em cenários distintos. Um trabalho executado na Austrália investigou 1349 casas, das quais aproximadamente 5% tinham três ou mais contêineres com formas imaturas de *Aedes aegypti*. Isso representa pelo menos 200 criadouros existentes. Entretanto, apenas dois criadouros eram responsáveis por 28% das formas imaturas de insetos identificadas no estudo, levando os autores a proporem o conceito de “criadouro chave” (TUN-LIN; KAY; BARNES, 1995). Entretanto, os índices citados anteriormente desconsideram a existência destes tipos de “criadouro chave”. Além disso, estes índices não possuem mecanismos para corrigir a estimativa de risco para a ocorrência de arboviroses em função da

imunidade de grupo progressiva ou de eventos climáticos anômalos (como o El Niño, por exemplo) (FOCKS, 2004). De forma surpreendente, não existe uma relação matemática clara entre estes índices e a transmissão de arboviroses (especialmente a dengue) (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014).

Para melhor entendermos a associação entre os índices de infestação vetorial e a transmissão de arboviroses, quatro janelas de conhecimento foram anteriormente elencadas, usando a dengue como um exemplo (SCOTT; MORRISON, 2006): 1) Qual é o nível aceitável de risco de dengue? 2) Quais são as densidades de mosquitos necessárias para alcançar este nível? 3) Qual é a melhor forma de mensurar risco entomológico? 4) Em que escala geográfica os determinantes de transmissão de dengue são importantes? Este mesmo autor levantou a necessidade de estudos que mensurem a relação entre a densidade de *Aedes aegypti* e a incidência de dengue.

Desta maneira, esta tese tem como objetivo descrever a ocorrência de arboviroses na cidade de Salvador, de 2009 à 2016, em um contexto de introdução de novos vírus ao Brasil, além de estudar a distribuição espacial de casos de dengue e os fatores ambientais e entomológicos associados à dengue, chikungunya e Zika, com o intuito de permitir um maior entendimento sobre a ocorrência destas doenças mas principalmente de proporcionar oportunidades que permitam direcionar ações para o controle das mesmas.

1.1 Referencial Teórico

1.1.1 Espaço

A relação entre a geografia e a saúde das populações é frequentemente explorada na área de Saúde. Antes do surgimento da hipótese microbiológica de propagação das doenças, desenvolvida por Louis Pasteur, no século XIX, a hipótese vigente era a miasmática. De acordo com esta hipótese, as doenças propagavam-se por meio de miasmas, palavra de origem grega com significado similar à poluição, vapores, fumaça. Estes miasmas poderiam estar na forma de água e ar, e o controle da propagação destes miasmas deveria ser feito pela intervenção humana no espaço, tentando “limpar” um determinado ambiente. Vitruvius, um arquiteto romano do século I DC, escreveu sobre a propagação de doenças: “Pois quando a brisa da manhã soprar na direção da cidade, se ela traz consigo a névoa de pântanos, e o sopro venenoso das criaturas dos pântanos para os corpos dos habitantes da cidade, o local da cidade ficará insalubre”.

Estudos clássicos fizeram uso da distribuição de casos de uma determinada doença para auxiliar na identificação de um fator de risco comum. John Snow, estudando uma epidemia de cólera em Londres no ano de 1854, sugeriu que existia algo na água de poços localizados em pontos específicos da cidade que causava a doença (SNOW, 1855), embora ele não tenha conseguido identificar o agente patogênico (vale notar que a hipótese microbiológica de propagação das doenças não havia ainda sido proposta). Com os trabalhos de Pasteur e Koch, por volta de 1860, com a aceitação da hipótese microbiológica pela comunidade científica e com exemplos da utilização da distribuição espacial das doenças como o trabalho de Snow, a utilização da geografia como um meio de descrever a ocorrência das doenças se tornou uma ferramenta mais comumente utilizada para descrever doenças e possivelmente realizar intervenções visando seu controle.

Estes trabalhos acima relatados têm em comum o fato de utilizarem a geografia como uma fonte de informações sobre a *localização* de doenças ou agravos de interesse. Entretanto, embora a descrição do local de ocorrência de eventos de interesse seja importante, a localização de um evento é apenas um reflexo de uma rede causal que culminou com a ocorrência de um evento em um determinado lugar, e é possível utilizar a geografia para extrair mais informações

do que apenas o local de ocorrência de algo. O final da década de 1970 e início da década de 1980 foram marcadas por uma tentativa de romper com esta neutralidade científica (na qual se tentava explicitar apenas localização dos eventos de interesse) para tentar entender a geografia como algo além da simples posição espacial de um determinado evento.

Um importante proponente de uma revolução no pensamento geográfico foi David Harvey que, baseando-se nos textos de Marx e Engels, propôs que a força motriz na formação social e na ocupação do espaço é a manipulação da atividade humana (HARVEY, 1972). Para Harvey, perguntas que imediatamente surgem após esta afirmação são a de quem vai manipular quem, os interesses de quem esta manipulação defenderá, e se esta manipulação for exercida, quem defenderá o interesse do público, todo esse processo de formação social auxiliando a definir, entre outros aspectos, a ocorrência de doenças em uma população. Harvey cita uma descrição de Manchester (Inglaterra) feita por Engels, na qual são levantados conceitos de que a ocupação do espaço ocorre através de mecanismos de mercado e de forma discriminatória entre pessoas com diferentes posses mas que, além disso, o governo fornece melhores serviços para uma fração da população (aquela que detém maior poder), tendo isto um reflexo nos serviços públicos, oportunidades (de educação, trabalho, de infecção por diferentes doenças, mas também de tratamento) e no espaço que pessoas de diferentes classes sociais ocupam.

Apesar da existência de particularidades históricas e regionais que influenciam na ocupação do espaço urbano, há um componente econômico que auxilia a moldar a forma como a sociedade ocupa e utiliza os territórios ao seu redor, e que muitas vezes é determinante neste processo. Harvey sugere que dentro do sistema capitalista, as cidades tendem a ter um desenvolvimento similar porque as forças que as modificam, economicamente, são as mesmas.

Críticas à forma como o espaço era conceitualizado também surgiram aproximadamente na mesma época dentro do Brasil. Para o geógrafo brasileiro Milton Santos, não é dada importância suficiente ao papel do espaço em relação à sociedade. Ele entende que, tradicionalmente, a forma como a geografia percebe seus objetos parte primariamente do solo, e não da sociedade, como se a geografia se preocupasse mais com a *forma* das coisas do que com sua *formação* (SANTOS, 1977). Porém, Milton Santos chama a atenção de que se a

geografia deseja entender o espaço como um produto acumulado da história da ação humana, então é necessário olhar para a história da sociedade, e que apenas assim é que ela terá fundamentação que a permitirá compreender a realidade espacial (SANTOS, 1977).

Milton Santos entende o espaço como algo além de um simples campo passivo onde eventos ocorrem. Para ele o espaço reage e interage às transformações determinadas por necessidades sociais, econômicas e políticas, alterando-se de forma contínua em função do modo de produção que diferentes sociedades adotam e do acúmulo destas alterações ao longo do tempo (SANTOS, 1977). Simultaneamente, o espaço é peça fundamental na construção e evolução das interações sociais, econômicas e políticas, pois o espaço está presente em todas as facetas destas interações. O local de trabalho, de residência, os pontos de encontro, ruas, avenidas, caminhos, são condicionantes da atividade humana, ao passo que impõe a cada coisa um conjunto particular de relações justamente porque cada coisa ocupa um dado local no espaço. Para Milton Santos, parecem inseparáveis as questões da formação da sociedade e da sua distribuição no espaço (SANTOS, 1977).

Por isso, encontrar uma definição única de espaço é uma tarefa complexa, devido às diversas formas de encarar o espaço (seja como mera localização, seja como fruto da ação humana, determinada por questões econômicas, políticas e sociais). Uma dificuldade adicional em encontrar uma definição para espaço é que os conceitos têm diferentes significados ao longo da própria história, dado que definições não são imutáveis, fixas. Para Milton Santos, o espaço pode ser entendido como o resultado de um conjunto de relações sociais que se manifestam através de processos e funções. O espaço é um conjunto de objetos e sistemas de ações inseparáveis, sendo que o ser humano pode ser encarado como um objeto mas também como um agente de ações sobre o meio, sofrendo a sua própria existência consequências da sua própria ação, de forma tal que objeto e ação são inseparáveis em sua própria natureza (SANTOS, 2002). Nesta definição, tem-se que o espaço é um campo onde forças agem de formas diferentes (SAQUET; SILVA, 2008), o que ajuda a entender porque a alteração do espaço não se apresenta de maneira exatamente igual em todos os lugares, sejam estes pensados de forma local, regional, nacional ou mesmo global.

O modo de produção de uma sociedade (produção propriamente dita, circulação, distribuição e consumo de bens e serviços) é uma forma particular de exploração dos recursos da natureza, cuja disponibilidade é diferente em diferentes lugares, para obter os elementos necessários ao atendimento das necessidades da sociedade (SANTOS, 1977). O modo de produção é alterado pelo estado tecnológico de uma determinada sociedade. O espaço é construído (usado, organizado, reorganizado, configurado) em função de uma alteração na organização natural, e esta alteração é guiada pela necessidade social através da utilização de uma determinada *técnica*, que também se modifica ao longo do tempo (SAQUET; SILVA, 2008).

Uma característica que altera de forma importante a maneira com que o homem interage com o meio ao seu redor é o modo de produção de produtos (relacionado diretamente à tecnologia disponível), que por sua vez está intimamente relacionado à forma de organização social. Desde a expansão do comércio em escala continental ou mesmo global a partir do século XVI, é possível perceber que existiram períodos com diferentes modos de produção: mercantil, manufatureiro, industrial e tecnológico. Cada modo de produção possui sua própria forma de organização política, econômica e social (SANTOS, 1976).

O capitalismo moderno é fruto de cada um destes modos de produção, e se baseia no ciclo capital-mercadoria, cuja renovação é buscada de forma incessante pela inovação tecnológica. Este ciclo capital-mercadoria é sustentado pela população, através da aquisição de bens. A adaptação de bens às inovações tecnológicas (ou mercadológicas) torna um produto dito “atual” em “velho” e tem como objetivo a criação do “novo”, “moderno”. A incessante aquisição de bens novos, mesmo quando os bens antigos ainda cumprem sua função, compõe uma característica importante do modo capitalista em interagir com a sociedade e com o espaço e meio ambiente ao seu redor. Quem detém os meios de produção (capital) cria a demanda (por vezes através da inovação tecnológica) para produtos que ele mesmo produz e vende, explorando a natureza e o capital de trabalho humano no processo. O objetivo de acumulação é um dos princípios deste modelo econômico, e por definição, faz com que as disparidades entre quem detém os meios de produção e quem não os detém se tornem exponencialmente maiores. Desta forma, o crescimento econômico

capitalista não é igualitário entre os diferentes entes da sociedade, ajudando a reforçar e exacerbar as desigualdades sociais (SANTOS, 1974). No campo da saúde, este processo se reflete em oportunidades desiguais de diversos eventos de interesse, como a presença de vetores, saneamento básico, condições de moradia, ocorrência de infecções, acesso à serviços de saúde e ao tratamento de doenças. Desta forma, começa-se a entender o porquê de a distribuição de doenças não ser aleatória no espaço, e sim fruto de uma complexa interação entre o homem e o ambiente, determinada em grande parte pela forma de organização social adotada. O entendimento das interações entre o modelo econômico em que vivemos e suas relações com a sociedade é fundamental para entender a formação do espaço em que vivemos, seja este espaço localizado em cidades ou áreas rurais (SANTOS, 1999).

Para outros autores, também brasileiros, o ambiente é mais do que apenas o local onde um determinado evento ocorre, assumindo características que unem conceitos econômicos, ambientais e sociais (SOUZA; NETO, 2008). Para Quartilho (QUARTILHO, 2001), a doença, a morte, a saúde e o bem-estar de cada indivíduo são socialmente construídos, da mesma forma que o ambiente físico de um local, tal como a paisagem urbana ou o local de trabalho, são influenciados de forma determinante pela cultura, estrutura social e relações interpessoais dos indivíduos que habitam este local.

Opiniões similares também são adotadas por autores no exterior. Para Bennet, problemas de saúde podem ser considerados problemas ambientais. Para ele, o ambiente é composto por uma matriz complexa de circunstâncias físicas, biológicas e socioculturais que cercam o homem e afetam seu bem-estar físico, mental e social (BENNETT, 1991). A percepção que Bennet tem dos eventos de saúde e de sua distribuição espacial é a de que o conceito de saúde é mais complexo do que simples ausência de doença clinicamente identificável.

E é nesse espaço, complexo, modificado e alterado pelo homem, por sua vez guiado pelas necessidades econômicas, onde ocorrem eventos de interesse para a epidemiologia. Inúmeros agravos e doenças podem ser estudados sob o ponto de vista espacial. O mapeamento da ocorrência destes eventos pode ser efetuado, sobretudo para entender como a ocorrência destes eventos está relacionada com a maneira com o que o espaço é ocupado. A ocorrência de aglomerados de agravos (ou de ausência de agravos) também pode ser

identificada e pode ajudar a guiar intervenções para entender os determinantes que estão associados à ocorrência destes eventos, permitindo que se desenvolvam formas de intervenção melhor desenhadas e com maior probabilidade de sucesso. Desta forma, a interpretação dos achados desta análise será realizada tendo em mente a conformação espacial como um meio fruto das ações do homem, e não apenas como um descritor do local de ocorrência de um evento.

1.1.2 Fatores de risco e multicausalidade

Muitas das perguntas que guiam estudos no campo da saúde visam identificar uma causa para um determinado evento (ou então uma possível consequência de uma determinada exposição). Por exemplo, qual o efeito de uma vacina na prevenção de uma determinada doença? As perguntas no campo da saúde geralmente têm este formato pois entendemos que podemos observar, aprender e atuar para modificar a ocorrência de eventos (tentando impedir ou favorecer a sua ocorrência).

Fatores de risco são entendidos epidemiologicamente como situações que alteram a probabilidade de ocorrência de determinado evento de interesse (ROTHMAN; GREENLAND; LASH, 2008). A necessidade de se tomar decisões no que diz respeito a prevenção de doenças exige que sejam feitas considerações sobre a causalidade de um determinado desfecho. Entretanto, a atribuição causal de determinado fator de risco é um processo complexo. A própria natureza da ciência como posta por Popper, que requer que as hipóteses sejam falseadas (ou eliminadas) em vez de meramente verificadas (ou confirmadas) (POPPER, 1935), faz com que haja constante questionamento sobre as conclusões científicas. Aliado a isso, a existência de estudos que chegam a resultados contraditórios reforça a percepção de que a execução de apenas um estudo, ou o achado de uma medida de associação, simplesmente não é o suficiente para se chegar a uma afirmação para uma relação causal entre uma exposição e um desfecho.

Uma das principais limitações com a definição de fator de risco é a exigência da existência um agente contrafactual, ou seja, uma situação em que

a única diferença observada para a ocorrência ou não do agravo seja a do fator de risco em questão. Entretanto, esta situação é hipotética. Indivíduos não são iguais, e é impossível regredir no tempo para alterar uma exposição de um grupo de indivíduos (situação que, se possível, seria um exemplo de uma situação contrafactual perfeita). Desta forma, o que se observa frequentemente no campo da epidemiologia é uma associação entre dois eventos, e não necessariamente uma conexão causal.

Esta complexidade epistemológica fez surgir listas de sugestões de características a serem procuradas (ou considerações a se fazer) diante de associações entre uma exposição e um desfecho antes de atribuir relações causais. Uma dessas listas, que são melhor entendidas como guias do que como regras, foi proposta por Bradford Hill. Ele propunha que fossem avaliadas características tais como a força da associação (associações fortes são mais prováveis de serem causais do que associações fracas), sua consistência (repetibilidade da associação em diferentes cenários/locais), especificidade (se uma população específica, em um determinado lugar apresenta o evento sem outra explicação provável), temporalidade (a exposição precisa anteceder o efeito), a presença de um gradiente (quanto mais exposição, mais evento), plausibilidade (uma característica desejada, mas nem sempre possível, pois o conhecimento de determinados mecanismos é limitado pelo conhecimento atual humano), coerência (entre diferentes fontes de dados, por exemplo, informações epidemiológicas e laboratoriais), evidência experimental (por exemplo, repetição do fenômeno em laboratório) e analogia (existência de exposições e desfechos similares com associação já estabelecida) (HILL, 1965). De acordo com Hill, a presença de algumas destas características pode ajudar a se chegar a uma conclusão mais pragmática em relação à natureza de uma associação entre uma exposição e um desfecho, embora elas não devam ser encaradas como condições necessárias para se estabelecer tal relação.

Epistemologicamente, a conclusão de certeza sobre a causalidade é inatingível (BENNETT, 1991). A inferência em epidemiologia é melhor vista como um exercício da medida de um determinado efeito, em vez de uma decisão sobre se certo efeito tem uma determinada causa (ROTHMAN; GREENLAND, 2005). Além disso, conceitos como a existência não de uma única e exclusiva causa para um determinado evento, e sim de um complexa conjunção de fatores que

contribuem para ocorrência de um desfecho (KRIEGER, 1994) torna a busca por fatores de risco específicos, na melhor das hipóteses, apenas como uma aproximação da realidade, dada a limitação da capacidade de obtenção de informações, seja devido à restrições financeiras e logísticas, ou mesmo inerentes ao nosso alcance enquanto agentes de pesquisa (limitações do conhecimento atual ou mesmo limitações cognitivas).

É inerente, na busca por algum grau de certeza sobre determinada associação em um mecanismo causal, a simplificação de um processo mais complexo (BARRETO, 2005). Potenciais causas para um evento de saúde podem variar desde agentes infecciosos microscópicos, tais como vírus e príons, até fatores macro-sociais, como discutido anteriormente na seção de ocupação do espaço. Embora o campo da epidemiologia reconheça a complexidade das razões para ocorrência de um determinado evento, a tradicional forma com que epidemiologistas procuram por “causas” envolvem a testagem, um-a-um, de potenciais causas com potenciais desfechos, onde, de maneira geral, outros elementos da cadeia multicausal são agrupados dentro de um grupo geralmente chamado de “confundidores” (BARRETO, 2005). Barreto argumenta que esse aparente descompasso entre a teoria e a prática que aparece no campo da epidemiologia não é restrito a este. O autor defende a ideia de que o momento filosófico e científico em que a humanidade se encontra permite que conceitos como “caos”, “complexidade” e “modelos dinâmicos” estejam presentes em documentos que variam desde textos filosóficos, científicos e até mesmo na literatura popular. A junção do momento em que vivemos (com seus avanços filosóficos e tecnológicos) junto com a disseminação destes conceitos de complexidade, torna quase natural a intensificação do debate, dentro do campo da epidemiologia, sobre a teoria de causalidade.

Apesar desta discussão ser teórica, ela possui implicações práticas: a causa de um determinado evento é um “fator analisável” (BARRETO, 2005) que pode ser a consequência de uma intervenção deliberada, e isso não pode ser perdido de vista. A qualidade de um determinado ambiente afeta as condições de saúde dos indivíduos lá residentes, entretanto, um ambiente saudável pode tanto ser fruto da ocorrência natural ou consequência da ação direta de uma intervenção humana. Assim, o autor defende que cabe a epidemiologistas conjugarem perspectivas filosóficas e empíricas, se esforçando para enxergarem

a “causalidade” como um processo dinâmico, complexo e composto por diferentes entes, sem entretanto, perderem oportunidades para efetuar prevenção de eventos que afetam negativamente a saúde das pessoas, promoverem outro que afetam de forma positiva a saúde das pessoas e sem se perderem no que o autor chamou de “rede de causação” (BARRETO, 2005).

Assim, os fatores de risco que serão estudados neste projeto refletem uma aproximação da realidade, baseada na teoria, de possíveis características que alterem a probabilidade de ocorrência de arboviroses urbanas no Brasil, especialmente a dengue, Zika e chikungunya.

1.1.3 Interação entre o homem e o ambiente e a emergência de doenças infecciosas

Em um sentido amplo, o ambiente provê recursos para toda a vida que nele existe. O ser humano, por sua vez, explora os recursos para seu usufruto: alimento, água, ar, minerais, plantas, o próprio espaço. Com a expansão da população humana, aliada ao modo de organização social, mais recursos precisam ser explorados. Com a população humana ultrapassando a marca de 7 bilhões de pessoas, espalhadas por todos os continentes da Terra, desde florestas tropicais úmidas até desertos gelados, é inevitável que haja uma grande pressão sobre os recursos naturais.

A saúde, por sua vez, é um dos direitos humanos mais básicos e possivelmente um dos melhores indicadores de um desenvolvimento sustentável, socialmente responsável e racional. Ecossistemas equilibrados proporcionam oportunidades para a produção de bens e serviços essenciais para a saúde humana, incluindo segurança nutricional e alimentar, ar puro e água potável, medicamentos ou fontes de diversidade biológica para a pesquisa de medicamentos, valores culturais, contribuições para a subsistência local e desenvolvimento econômico, além de auxiliar a estabilizar o clima (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2012). Com a expansão das demandas econômicas em escala global, aliada à expansão populacional experimentada desde o início da revolução industrial, a pressão sobre os recursos naturais do planeta aumentou. Exemplos da ação do ser humano sobre o ambiente são

abundantes. Áreas cultivadas (seja para exploração vegetal ou animal) cobrem aproximadamente um quarto da superfície terrestre; é estimado que o volume de água contido em barragens (para consumo humano ou geração de energia elétrica) seja de três a seis vezes maior que o volume de água contido naturalmente em rios; a retirada de água de rios e lagos duplicou em volume desde 1960 (WHO, 2005), apenas entre os anos 2000 e 2010, uma área equivalente à área combinada da França, Espanha e Itália foi desmatada (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2012). Estas ações humanas sobre o ambiente alteram a dinâmica ecológica de inúmeros seres vivos, parasitas e vírus, propiciando por vezes o isolamento de populações (como em fragmentações de florestas), a proximidade do ambiente urbano à um ambiente relativamente silvestre e permitindo oportunidades de contato entre agentes patogênicos e potenciais hospedeiros para os quais essas oportunidades não existiam (ou eram muito pequenas) antes das ações humanas sobre o ambiente.

Alguns mecanismos para a emergência de doenças foram propostos. A alteração de habitats conduzindo a mudanças no número de criadouros de vetores ou na dispersão de hospedeiros reservatórios; a invasão de nichos ecológicos e a introdução (mesmo que involuntária) de espécies hospedeiras ou vetores; a mudança na biodiversidade (remoção de predadores, por exemplo), mudanças genéticas induzidas pelo ser humano em vetores de doenças ou patógenos (como resistência de mosquitos a determinados pesticidas ou a emergência de cepas bacterianas resistentes a antibióticos) (MORSE, 1995; SUTHERST, 2004; WHO, 2005) são exemplos destes mecanismos.

Exemplos de cenários em que ações humanas alteraram o ambiente e propiciaram oportunidades de transmissão de doenças são abundantes. Represas construídas por seres humanos para fins de captação e armazenamento de água ou para geração eletricidade e canais de irrigação são o ambiente ideal para caramujos que servem de hospedeiros para a esquistossomose (N'GORAN et al., 1997). Campos irrigados aumentam a quantidade de criadouros de mosquitos, conduzindo a uma maior transmissão de malária (KEISER et al., 2005a), encefalite japonesa (KEISER et al., 2005b) e febre do Vale Rift (WHO, 2005) em áreas próximas à estes campos. Hipotetiza-se que a expansão e a mudança de práticas na agricultura tenham favorecido a emergência do Vírus Nipah (LAM; CHUA, 2002). Foi sugerido que o

desflorestamento altera o risco de ocorrência de malária (VITTOR et al., 2006). A existência de uma população abundante de hospedeiros alternativos (hospedeiros que não seres-humanos) foi relacionada a um menor risco de Doença de Lyme, sugerindo que a preservação ambiental pode diminuir a ocorrência dessa doença em seres humanos (SCHMIDT; OSTFELD, 2001). Talvez um dos exemplos mais dramáticos seja o da emergência do HIV. O HIV é o vírus da imunodeficiência humana, cuja disseminação na população humana global levou a pandemia de AIDS. O vírus do HIV é geneticamente bastante próximo ao vírus SIV (vírus da imunodeficiência em símios), que infecta naturalmente primatas não humanos no continente africano. Imagina-se que devido à caça de primatas para consumo humano, aliado à expansão de estradas em áreas antes selvagens, propiciando maiores oportunidades de contato entre animais infectados e populações humanas (WOLFE et al., 2000), eventualmente um evento de transmissão de SIV entre chimpanzés e humanos por acaso se adaptou ao hospedeiro humano (vindo então a ser chamado de HIV) (SHARP; HAHN, 2011) e dali começou sua expansão para se tornar uma das epidemias de maior impacto econômico e social da era moderna.

Esta relação do homem alterando o ambiente e propiciando a expansão de doenças infecciosas não é muito distinta para a situação das arboviroses urbanas em circulação no Brasil, especialmente a dengue, Zika e chikungunya. Embora estas doenças não tenham sua origem no continente americano, elas ainda assim têm sua expansão alterada pela forma com que o ambiente (especialmente urbano) é construído e mantido. Em relação específica a dengue, tem sido proposto que áreas com sistema de abastecimento de água precário promovem a transmissão da doença (CAPRARA et al., 2009; SCHMIDT et al., 2011). Os vírus da Zika e da chikungunya foram apenas recentemente introduzidos no Brasil (por volta de 2015 e 2014, respectivamente), e não há muitos estudos sobre determinantes ambientais dessas doenças no Brasil. Entretanto, devido ao vetor destas doenças ser o mesmo (mosquitos do gênero *Aedes*, especialmente da espécie *Aedes aegypti*, mas também em menor grau da espécie *Aedes albopictus*) e devido à rápida expansão que ambos os vírus tiveram no território nacional, é razoável assumir que os determinantes ecológicos para a ocorrência da dengue sejam os mesmos para a ocorrência de Zika e chikungunya.

A emergência dos vírus da dengue, Zika e chikungunya em populações humanas tem similaridades entre si e de certa forma foi favorecida pela interação de populações humanas com o ambiente silvestre em que estas doenças circulavam.

A dengue é mantida em circulação em dois ciclos distintos, um dito “silvestre” e outro dito “humano”. O ciclo humano envolve principalmente mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, uma espécie antropofílica (adaptada ao ambiente modificado pelo ser humano) que tem grande sucesso habitando ambientes domésticos, e por mosquitos da espécie *Aedes albopictus*, que são tidos como animais peridomésticos com preferência por ambientes silvestres. A transmissão da dengue no ciclo humano ocorre virtualmente em todas as regiões tropicais e em algumas regiões subtropicais do globo. O ciclo silvestre envolve primatas não humanos que são infectados por espécies arborícolas de mosquitos do gênero *Aedes* no oeste africano e na Malásia (VASILAKIS et al., 2011). Todos os sorotipos da dengue já foram identificados infectando primatas não humanos no sudeste asiático e relatos de epidemias compatíveis com dengue foram feitos na China antes do ano 1000 (VASILAKIS et al., 2011). Ações humanas sobre o ambiente são tidas como as principais responsáveis para o surgimento de oportunidades de contato entre o vírus da dengue em seu ciclo silvestre com seres humanos, e eventual estabelecimento nesta população. A construção de estradas, o desmatamento, a urbanização (com consequente criação acidental de novos nichos ecológicos) desempenham um papel importante neste processo, pelos mecanismos expostos anteriormente. Um estudo na amazônia peruana encontrou que a densidade de plantas que acumulam água em folhas ou apêndices é cerca de nove vezes maior em áreas desmatadas do que em florestas bem estabelecidas, e que a maior densidade deste tipo de plantas está correlacionado com maior abundância de espécies de mosquitos que se alimentam de sangue humano (YANOVIK et al., 2006).

O vírus chikungunya, por sua vez, teve sua origem no oeste africano. Lá ele é transmitido em um ciclo silvestre entre uma variedade de espécies animais, incluindo o macaco-verde-africano (*Chlorocebus sabaeus*), o macaco patas (*Erythrocebus patas*) e o babuíno da Guiné (*Papio papio*) (DIALLO et al., 2012). Há evidências de que há ciclos epidêmicos entre as populações de primatas não humanos em ciclos que se repetem aproximadamente a cada três anos, sendo

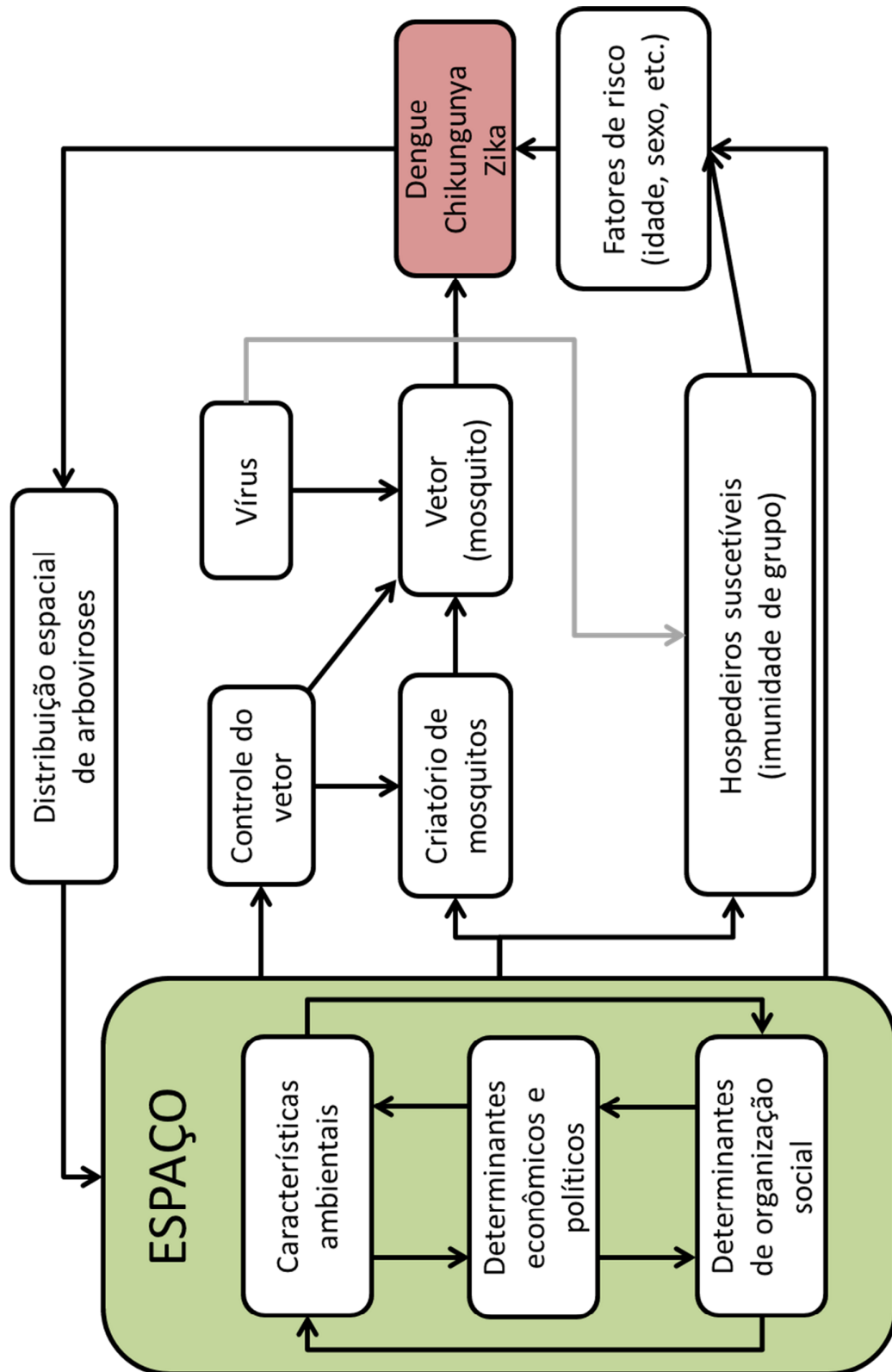
estes ciclos seguidos por períodos silenciosos (DIALLO et al., 1999). Especula-se que a existência destes períodos silenciosos de transmissão em primatas não humanos seja devido à proporção da população animal susceptível à infecção (que é muito baixa após uma epidemia mas que aumenta com a reposição populacional normal destes animais, seja por migração de animais de outras áreas ou nascimento de novos indivíduos) (DIALLO et al., 1999). O mesmo trabalho relata ter obtido isolados de chikungunya em seres humanos apenas em anos de alta transmissão do vírus em primatas não humanos (DIALLO et al., 1999), sugerindo uma correlação entre os dois eventos e levantando a hipótese de uma espécie de infecção acidental de seres humanos devido à grande circulação do vírus na população animal local. O desmatamento para agricultura para construção de habitações humanas é tido como um dos principais fatores que aumentam a probabilidade de transmissão do vírus chikungunya entre primatas não humanos e seres humanos. Por meio dessa intervenção ambiental, os seres humanos forçam uma convivência mais próxima dos primatas não humanos às residências humanas, com conseqüente compartilhamento de parasitas e eventual transmissão de patógenos (como o chikungunya) entre as populações envolvidas (DIALLO et al., 2012).

O vírus Zika também tem sua origem em um ciclo silvestre de circulação viral, provavelmente na África ou no sudeste asiático. Ele foi primeiro detectado em uma floresta (chamada Zika, que eventualmente veio a ser o nome do vírus) de Uganda em um trabalho que visava estudar a circulação de febre amarela em populações animais. Para tal, plataformas com animais sentinelas eram instaladas nas copas de árvores de várias localidades. Eventualmente, um dos animais sentinelas desenvolveu febre, sendo então isolado deste animal um vírus desconhecido até então, que recebeu o nome de Zika (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Apesar de infecções em seres humanos terem sido notadas, nenhuma epidemia de grande magnitude foi relatada, embora haja relatos de estudos feitos na época em seres humanos que tenham encontrado uma prevalência sorológica de infecção pelo vírus Zika em até 40% das pessoas testadas (ALTHOUSE et al., 2016). Mosquitos infectados no sudeste asiático também foram relatados no final da década de 1960 (MARCHETTE; GARCIA; RUDNICK, 1969), sugerindo que o vírus circulava na região nesta época. Independente do continente em que teve origem, seja Ásia ou África, um maior

contato humano com populações animais e seus vetores, possivelmente devido à expansão das atividades econômicas humanas, com desmatamento, construção de estradas e de cidades, possivelmente aumentou as oportunidades de contato para transmissão deste vírus de populações animais para populações humanas.

Estes três arbovírus servem como exemplos da emergência de doenças com grande impacto para a saúde pública, com potencial para infectar milhares ou até milhões de pessoas por ano. As características humanas de ocupação e exploração do espaço favorecem a ocorrência dessas doenças em populações humanas, e fatores de risco espaciais, sociais e individuais por sua vez influenciam a ocorrência da doença em uma escala menor, individual. Estes exemplos da interação entre o homem e o ambiente e a emergência de doenças infecciosas nos permite melhor entender o ambiente em que habitamos e os impactos que nossas ações tem nele. Adicionalmente, os vírus aqui relatados representam apenas uma pequena fração dos vírus que infectam seres humanos e que são epidêmicos ou potencialmente epidêmicos. É completamente possível (ou mesmo esperado) que novos vírus com mecanismos de transmissão similares ao dos vírus da dengue, Zika e chikungunya emerjam nas próximas décadas, e lições sobre os condicionantes, determinantes, distribuição espacial e fatores associados à ocorrência destas doenças podem fornecer informações valiosas no enfrentamento da re-emergência ou endemização dessas doenças ou mesmo de outras que podem surgir.

1.2 Quadro Teórico



1.3 Revisão Bibliográfica

1.3.1 Arboviroses

Arboviroses são doenças causadas por diferentes tipos de vírus que são transmitidos para os seres humanos por um vetor artrópode. Artrópodes são os componentes de um filo de animais invertebrados que possuem um exoesqueleto rígido e um número variável de apêndices articulados. Todos os arbovírus tem origem em um ciclo que envolve animais silvestres, e muitos causam doenças quando uma transmissão acidental à um ser humano ou algum animal doméstico ocorre (WEAVER; REISEN, 2010). Alguns vírus, tais como o vírus da dengue, chikungunya e Zika perderam a necessidade de amplificação enzoótica, de forma que são capazes de produzir grandes epidemias em regiões urbanas tropicais, onde há abundância de vetores (mosquitos) e hospedeiros (seres humanos) (GUBLER, 2002b), embora ciclos silvestres destes vírus ainda existam nas florestas da Ásia e África em um ciclo que envolve primatas não humanos e mosquitos.

Os arbovírus são transmitidos entre os hospedeiros (acidentais ou não) vertebrados por meio de vetores artrópodes de comportamento hematófago, que envolvem mosquitos, moscas e carrapatos (WEAVER; BARRETT, 2004). Por definição, os arbovírus precisam se replicar no interior do vetor artrópode antes de serem transmitidos à hospedeiros vertebrados, não ocorrendo transmissão mecânica (na qual não ocorre replicação no vetor) (WEAVER; REISEN, 2010). A transmissão destes vírus pode se dar de forma vertical (de especial importância em insetos, onde o vírus é transmitido de um vetor fêmea adulto à sua prole), horizontal venérea (quando o vírus é transmitido horizontalmente por meio de cópula) ou horizontal oral (também de importância em insetos, quando um inseto infecta um hospedeiro vertebrado ou se infecta a partir de um hospedeiro vertebrado). Modos de transmissão horizontal oral são os mais comuns para a maior parte das arboviroses (WEAVER; REISEN, 2010), sendo esta a forma que mosquitos fazem a transmissão à seres humanos. Entretanto, existem evidências de que arboviroses podem ser transmitidas entre seres humanos também de forma horizontal, por via sexual (MUSSO et al., 2015).

Em todos os continentes habitados da Terra circulam arbovírus. Grandes epidemias por arbovírus foram registradas nos últimos 30 anos em diversos

locais da Terra, muitas causadas por vírus que se pensavam estarem controlados ou por vírus conhecidos mas que não eram reconhecidos como tendo um potencial impacto para a saúde pública (GUBLER, 2002b). Uma maior distribuição geográfica de diversas espécies de mosquitos vetores e de arbovírus, aliado com a forma de organização social humana prevalente contribuíram para um aumento na frequência e magnitude de epidemias arbovirais no globo. A epidemiologia das doenças causadas por arbovírus é complexa e única para cada vírus. Características tais como número de sorotipos em circulação (como no caso da dengue), imunidade entre diferentes sorotipos, imunidade de grupo, existência de vacina e mesmo a taxa de reposição da população humana influenciam a ocorrência de uma doença causada por arbovírus em uma população.

Existem aproximadamente 300 vírus que são classificados como arbovírus, sendo que para cerca de 130 há registros de terem sido responsáveis por manifestações clínicas em seres humanos (GUBLER, 2002b). Os arbovírus são taxonomicamente diversos, pertencendo a pelo menos oito famílias virais, porém, três delas concentram grande parte dos vírus de importância para a saúde pública (GUBLER, 2002b). Essas três famílias são: *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae*. Diversas doenças infecciosas humanas são consideradas arboviroses. A lista abaixo cita algumas arboviroses de importância para seres humanos. Esta lista não é completa e descreve a amplitude geográfica e de mosquitos vetores para algumas arboviroses.

- Febre de Bunyamwera e Ngari, causada por vírus pertencentes à família *Bunyaviridae*; vírus isolados de pacientes febris na África e de mosquitos *Aedes aegypti*, embora se tenha mostrado que *Anopheles gambiae* tenha a capacidade de atuar como vetor para ambas viroses (ODHIAMBO et al., 2014).
- Encefalite de La Crosse, causada por vírus pertencente à família *Bunyaviridae*; doença causada por um vírus transmitido por mosquitos *Ochlerotatus triseriatus* e *Aedes albopictus*. Ocorre principalmente nos Estados Unidos.
- Febre do Vale Rift, causada por vírus pertencente à família *Bunyaviridae*; transmitida a seres humanos através do contato com

sangue animal infectado, ingestão de leite cru de um animal infectado ou através da picada de mosquitos *Culex tritaeniorhynchus* e *Aedes vexans*.

- Encefalite Japonesa, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; a transmissão ocorre através da picada de mosquitos *Culex tritaeniorhynchus* e *Culex vishnui*. A doença ocorre principalmente no sudeste asiático. Animais tais como bovinos e equinos também podem manifestar sinais clínicos graves.
- Encefalite do Vale Murray, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; ocorre principalmente no norte da Oceania e sul da Ásia. Transmitida a seres humanos pela picada de mosquitos *Culex annulirostris*.
- Encefalite de Saint Louis, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; ocorre principalmente nos Estados Unidos. Causada por um vírus relacionado ao da Encefalite Japonesa, porém é transmitido a seres humanos por picadas de mosquitos do gênero *Mansonia*.
- Febre do Oeste do Nilo, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; foi primeiro identificado em Uganda em 1937, onde causava surtos esporádicos. Na metade da década de 1990, causou surtos em outros países da África e da Europa, tendo chegado aos Estados Unidos em 1999. É transmitido por várias espécies de mosquitos, dos quais se destacam as do gênero *Culex* (*Culex pipiens*; *Culex tarsalis* e *Culex quinquefasciatus* entre eles). Evidências sorológicas da circulação deste vírus em animais no Brasil já foram encontradas (OMETTO et al., 2013).
- Febre Amarela, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; transmitida por mosquitos do gênero *Aedes* (em ambientes urbanos, o principal vetor é o mosquito *Aedes aegypti*). Em ambientes silvestres, o vírus é transmitido principalmente por mosquitos do gênero *Haemagogus*. É encontrada no oeste e centro da África e nas Américas do Sul e Central.
- Febre de Kyasanur, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; transmitida à seres humanos por carrapatos do gênero

Haemaphysalis. Ocorre principalmente na Índia, mas indivíduos na Arábia Saudita, China e Rússia já foram identificados com a doença.

- Febre Mayaro, causada por vírus pertencente à família *Togaviridae*; transmitida por mosquitos do gênero *Haemagogus*, porém já tendo sido identificada transmissão experimental por meio de mosquitos *Aedes aegypti* (LONG et al., 2011). Originária do continente americano, já foi detectada em vários lugares no Brasil (COIMBRA et al., 2007; MOURÃO et al., 2012; ZUCHI et al., 2014).
- Febre Oropouche, causada por vírus pertencente à família *Bunyaviridae*; transmitida por mosquitos *Culicoides paraensis*. Foi primeiro detectada em seres humanos em Trinidad (ANDERSON et al., 1961), embora epidemias tenham ocorrido no Brasil (ROSA et al., 1996).
- Febre Rocio, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; primeiro identificada em São Paulo na década de 1970, especula-se que seja transmitida pelos mosquitos *Psorophora ferox* e *Aedes scapularis* (MITCHELL; FORATTINI; MILLER, 1986).
- Dengue, causada por vírus pertencente à família *Flaviviridae*; transmitida por mosquitos do gênero *Aedes* (em especial as espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*). É responsável por grandes epidemias nas Américas (DICK et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2013) e no Sudeste Asiático (OOI; GUBLER, 2009) Existem quatro sorotipos de Dengue (DENV 1 – 4), com diferentes distribuições geográficas no globo (MESSINA et al., 2014). A infecção por um sorotipo da Dengue causa imunidade cruzada de curta duração (de meses até poucos anos) para os demais sorotipos, e por toda a vida para infecções pelo mesmo sorotipo (REICH et al., 2013).
- Zika, causada por um vírus pertencente à família *Flaviviridae*; primeiro identificada em uma floresta de Uganda (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952), ficou restrita até a metade da década de 2000 ao continente africano. Em 2007 causou uma epidemia na Micronesia (DUFFY et al., 2009) e em 2015 foi identificada no Brasil (CAMPOS; BANDEIRA;

SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015). É transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*.

- Chikungunya, causada por vírus pertencente à família *Togaviridae*; primeiro identificada na África, era conhecida por causar surtos esporádicos na África e no Sudeste Asiático (PIALOUX et al., 2007). Em 2013 foi identificada em ilhas do Caribe (CASSADOU et al., 2014; MORRISON, 2014) e em 2014 foi identificada no Brasil (TEIXEIRA et al., 2015), é transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*.

As arboviroses tem uma história complexa e repleta de diferentes vírus que já emergiram ou que tem o potencial de emergir e causar impactos na população humana. A expansão geográfica das atividades humanas, com modificação do meio ambiente, construção de estradas, desmatamento de florestas, construção de cidades (muitas vezes com condições inapropriadas de infra-estrutura) e o simples aumento da população humana, permitem um maior contato entre estes vírus, antes restritos a populações animais em lugares remotos, à populações humanas que se deslocam ao redor do globo com relativa facilidade. Mudanças climáticas, cuja origem está relacionada à atividade humana, também podem potencialmente aumentar a área no globo em que estas doenças podem ser transmitidas, principalmente por meio de um aumento da duração das estações de transmissão das doenças (WEAVER; REISEN, 2010).

Além disso, o risco de novos vírus se adaptarem à vetores bastante bem sucedidos em ambientes antropizados (modificados e criados pelo ser humano, como meios urbanos) representa um desafio para os órgãos de saúde e pesquisadores da área da saúde. Usando o Brasil como exemplo, nas últimas 3 décadas, os quatro sorotipos de dengue foram introduzidos e se espalharam por todo o território nacional. Situação similar ocorreu mais recentemente com os vírus da Zika e chikungunya. Estes eventos servem como exemplo e alerta de que vírus as vezes pouco conhecidos podem, em poucos anos, se espalharem por um país de dimensões continentais, infectando e afetando milhões de pessoas.

1.3.2 Biologia de mosquitos vetores de dengue, Zika e chikungunya

Os mosquitos vetores de dengue, Zika e de chikungunya são pertencentes ao gênero *Aedes*. O ciclo de vida destes animais tem início quando da ovoposição de ovos em recipientes que permitam o acúmulo de água. Os ovos, quando ovipostos, normalmente tem coloração esbranquiçada, gradualmente ganhando uma coloração enegrecida conforme maturam. As fêmeas de *Aedes* fazem a ovoposição de ovos de forma individual, sem agrupamento dos mesmos, em um substrato úmido, geralmente pedras, folhas, galhos que ficam suficientemente próximos à uma superfície de água. Estes animais tem a capacidade de escolher locais para a ovoposição baseado em características físicas e químicas da água presente no local (BENTLEY; DAY, 1989). Uma característica importante que as fêmeas de mosquitos do gênero *Aedes* possuem é a de realizar o que se chama de saltos de ovoposição, que é um comportamento no qual o animal não realiza a ovoposição de todos seus ovos em um único container, aumentando a probabilidade de sobrevivência de ao menos uma fração de sua prole (COLTON; CHADEE; SEVERSON, 2003).

O estágio larval de mosquitos exige um habitat aquático. As larvas eclodem a partir dos ovos e necessitam passar por quatro estágios larvais até se desenvolverem à uma pupa. No avanço entre cada estágio larval, os animais realizam o descarte da exúvia, que é uma cutícula do exoesqueleto quitinoso destes estágios larvais. As larvas se alimentam de organismos microscópicos presentes na água e de detritos. As larvas necessitam de ar para respiração, e o fazem através da presença de orifícios presentes no final do corpo, chamado de espiráculos, localizados em uma estrutura denominada sifão. O tempo necessário para a eclosão de um ovo de mosquitos do gênero *Aedes* é dependente das condições ambientais de onde o ovo está presente. Em condições ideais, a eclosão dos ovos pode ocorrer tão rápido quanto em um dia. Entretanto, sabe-se que ovos de mosquitos deste gênero podem manter-se viáveis por períodos prolongados de tempo, de até aproximadamente oito meses (SOARES-PINHEIRO et al., 2016). O tempo necessário para uma larva passar por todos os estágios larvais é dependente de parâmetros físicos, químicos, densidade populacional e de disponibilidade alimentar (HAWLEY, 1988). Em

condições ideais, os estágios larvais levam aproximadamente de 5 a 7 dias para serem cumpridos.

Ao final do quarto estágio larval, o animal se transforma em uma pupa, que é um estágio intermediário entre a fase larval e adulta do animal. Neste estágio o animal não mais se alimenta, e passa por metamorfose completa, desenvolvendo asas, pernas e um aparelho alimentar especializado. Ao final do estágio de pupa, um mosquito adulto emerge. O tempo necessário para a metamorfose no estágio pupal é de aproximadamente 2 a 3 dias.

Uma vez eclodido, o animal permanece na superfície da água até que suas asas e corpo sequem. Após isto, o animal voa em busca de alimento e de um parceiro para reprodução. Mosquitos machos se alimentam exclusivamente de seiva de plantas, de onde obtém os nutrientes necessários para sobrevivência. Mosquitos fêmeas também se alimentam de seiva de plantas, mas para efetuarem a ovoposição necessitam de proteínas adicionais, que são obtidas por meio da alimentação com sangue de outros animais. Diferentes espécies de mosquitos tem diferentes preferências alimentares. É durante a alimentação de mosquitos fêmeas que a transmissão de diferentes arboviroses ocorre.

1.3.3 Distribuição espacial de Dengue

O conhecimento do padrão de distribuição de dengue é importante para o entendimento dos determinantes de transmissão da doença e no auxílio a escolha de locais para intervenção. O entendimento a respeito da distribuição da doença é limitado em parte devido à complexidade na identificação de casos da doença: muitas vezes apenas são estudados os casos que são reportados aos sistemas de vigilância, o que traz um viés de notificação para a distribuição dos casos. Adicionalmente, a ocorrência da dengue aparenta ser melhor entendida quando a mesma é pensada como um produto de inúmeros agentes: o vírus (agente etiológico, sem o qual não há a doença), o vetor (mosquito, elemento necessário mas não suficiente para a ocorrência da doença) e o indivíduo suscetível (ser humano não antes infectado) (ADAMS et al., 2006; WEARING; ROHANI, 2006), sendo que estes três elementos estão distribuídos de forma desigual pelo espaço.

O vírus da dengue possui quatro sorotipos (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4), mas nem todos os lugares tem os quatro sorotipos da dengue circulantes, e no evento de introdução de um novo sorotipo, a população daquele local pode se comportar como uma população completamente suscetível ao novo sorotipo. Após a introdução de um sorotipo e a ocorrência de casos (e possivelmente, epidemias), parte da população se torna imune à este sorotipo. Desta forma, a distribuição espacial da doença nos anos subsequentes pode se alterar em função dos locais onde a epidemia ocorreu anteriormente. De forma análoga, é observada uma mudança na incidência da doença para faixas etárias mais novas (HALSTEAD, 2006; TEIXEIRA et al., 2008), explicada pela imunidade acumulada ao longo da vida que pessoas com mais idade tendem a ter.

Trabalhos sugerem que a distribuição espacial de pessoas previamente infectadas por dengue pode auxiliar a determinar áreas de ocorrência de epidemias no evento de introdução de um novo sorotipo da doença (LIEBMAN et al., 2012). O racional reside no fato de que a distribuição espacial de pessoas previamente infectadas age como um *proxy* do risco acumulado da ocorrência de dengue. Entretanto, os autores notam que o movimento humano pode alterar a dinâmica de distribuição destas populações. Adicionalmente, em cenários em que uma grande parcela da população já foi infectada por diferentes sorotipos da dengue, pode ser difícil encontrar áreas com diferentes prevalências de infecções acumuladas.

Situações em que a dengue ocorreu de forma aglomerada espacialmente são abundantes na literatura. A ocorrência de dengue em Bangladesh entre 2000 e 2009 aparenta ter ocorrido de forma aglomerada em Dhaka, a capital do país, em três momentos (BANU et al., 2012). De forma similar, um estudo no Vietnam encontrou uma aglomeração de casos ao redor de Hanoi (TOAN et al., 2013). Embora esta informação seja útil ao guiar a eleição de áreas onde deve-se concentrar recursos, é possível que estas áreas tenham apresentado um maior número de casos devido à maior população ou um melhor sistema de identificação de casos. Um estudo na China também encontrou áreas com maior risco para a ocorrência da dengue, e justificou o achado com base em características entomológicas e climáticas da mesma região (LIU et al., 2014).

Além disso, estudos que utilizam diferentes escalas geográficas são capazes de identificar diferentes achados. Do ponto de vista nacional, uma revisão de artigos publicados sobre dengue na região da Ásia/Pacífico entre os anos de 1955 a 2004 identificou que países como a Tailândia, Vietnã, Laos, Singapura e Malásia são os mais prováveis clusters de dengue nesta região de globo (BANU et al., 2014). Outros estudos, porém, chegaram a conclusão que existem “casas fonte” de mosquitos, ao redor das quais a proporção de pessoas infectadas diminui conforme aumenta a distância em relação à “casa fonte” (YOON et al., 2012). Embora interessante, este estudo foi realizado em comunidades rurais da Tailândia, onde a densidade domiciliar é menor do que a observada em comunidades urbanas com infra-estrutura precária no Brasil. Na Argentina, autores não encontraram associação entre a ocorrência de casos de dengue reportados durante uma epidemia com os índices de infestação por *Aedes aegypti* (ESTALLO et al., 2014), entretanto, é possível que nem todos os casos de dengue tenham sido reportados, estando a distribuição espacial de casos sujeita a algum viés de notificação.

No Brasil, áreas com maior incidência de dengue estavam associadas negativamente à proporção de domicílios ligados à rede sanitária e à densidade populacional por área (ALMEIDA; MEDRONHO; VALENCIA, 2009), que por sua vez estão distribuídos de forma desigual nas cidades. Outro trabalho reporta que condições sócio-econômicas precárias estão associadas com uma maior ocorrência de dengue (KIKUTI et al., 2015). Adicionalmente, foi identificado que a distância entre a região de residência e a unidade de saúde onde pacientes febris buscavam atendimento médico foi a variável mais fortemente associada com a ocorrência de dengue (e de outras doenças febris agudas), sugerindo que indivíduos que residam mais próximos de unidades de atendimento de saúde tenham uma maior probabilidade de buscar atendimento, e por consequência, serem diagnosticados e reportados com dengue. Caso este fenômeno seja observado em outros locais que não o estudado, trabalhos que utilizem dados secundários ou de fontes passivas de identificação de casos podem estar sujeitos a este viés de busca por atendimento.

A descrição do padrão de expansão da primeira epidemia de dengue em Salvador identificou seu epicentro, de onde ondas sucessivas de expansão emanaram (BARRETO et al., 2008). Os autores notam que a maior concentração

de casos da doença ocorreu em áreas com alta densidade populacional e em áreas com predominância de ocupação horizontal do espaço (em detrimento da ocupação vertical).

1.3.4 Características entomológicas associadas à ocorrência de dengue e outras arboviroses

Uma forma didática de se expressar a possibilidade de transmissão de doenças infecciosas a hospedeiros é por meio da tríade epidemiológica. Este modelo elenca três elementos que precisam estar presentes para a ocorrência de uma doença infecciosa: o agente infeccioso, um ambiente apropriado e um hospedeiro susceptível. No caso específicos das arboviroses, o método de transmissão de um vírus se dá por meio de um vetor artrópode. Um dos pilares de combate às arboviroses reside no fato de que se pudermos intervir nos elementos que compõe a tríade epidemiológica de arboviroses de forma a inviabilizar (ou dificultar) que todos os agentes necessários estejam presentes, então a transmissão destas doenças será diminuída. Assim, diversos autores tentaram (e tentam) buscar características entomológicas associadas à ocorrência de dengue e outras arboviroses.

A dengue é transmitida a seres humanos por picadas de mosquitos fêmeas do gênero *Aedes*, principalmente pela espécie *Aedes aegypti*, bastante adaptada a ambientes urbanos, e em menor escala pela espécie *Aedes albopictus* (BRADY et al., 2012). As fêmeas destas espécies de mosquitos tem hábitos alimentares hematófagos, em especial durante o momento de maturação dos ovos (GEISER et al., 2003). A existência de mosquitos destas espécies é condição necessária para a transmissão de arboviroses, então é razoável aceitar que o monitoramento da quantidade de mosquitos em um determinado local seja usado como espécie de *proxy* para o risco de transmissão destas doenças. Esta atividade recebe um nome genérico de “vigilância vetorial”. A vigilância vetorial é uma atividade recomendada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009) que tem como finalidade predizer e prevenir a ocorrência de casos e surtos de doenças, além de propiciar uma ferramenta para intervir e avaliar as ações de controle destas doenças. Baseado nestas recomendações, atividades de vigilância vetorial voltadas para estimação da população de mosquitos do gênero

Aedes são rotineiramente executadas em vários países, entre eles o Brasil (FUNASA, 2002).

Tradicionalmente, as atividades de vigilância vetorial são efetuadas utilizando metodologias que visam mensurar a presença absoluta e relativa de larvas e pupas em determinada área, sendo os índices mais utilizados o índice de infestação predial (percentual de casas com presença de larvas ou pupas de insetos), o índice de containeres (percentual de containeres com água que possuem larvas ou pupas de insetos) e o índice de Breteau (número de containeres com larvas ou pupas de insetos a cada 100 casas inspecionadas) (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014). O Brasil utiliza o conjunto das informações de índice de infestação predial e do índice de Breteau para conduzir o Levantamento Rápido do Índice de *Aedes aegypti*, o LIRAA (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Entretanto, um problema inerente a estes índices reside em variações na execução dos protocolos que podem resultar em diferenças na metodologia de mensuração desses índices. Por exemplo, criadouros crípticos (buracos, bocas-de-lobo), raramente são mencionados como potenciais criadouros, o que pode levar a uma não busca por insetos nestes locais, levando a uma subestimação do indicador entomológico usado nesta área. Outra crítica à utilização de metodologias que se baseiam na identificação de larvas e pupas para vigilância vetorial é de que, surpreendentemente, estes índices não tem uma boa correlação com o número de mosquitos adultos identificados nas mesmas áreas (FOCKS, 2004), sendo que são os mosquitos adultos que fazem repasto sanguíneo e por isso transmitem as doenças.

Apesar de dúvidas a respeito da validade de índices entomológicos que mensurem animais em fases larvárias ou pupais enquanto indicadores de risco de transmissão de doenças, estes continuam sendo utilizados. Pontos de corte indicando situações de risco foram desenvolvidos, embora eles tenham restrita generalização, tendo estes pontos de corte uma maior validade local (SANCHEZ et al., 2010). Sugere-se que a utilização de índices que identifiquem animais adultos, preferencialmente fêmeas, tenham uma maior probabilidade de adequadamente mensurar risco de infecção por dengue e outras arboviroses (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014; VAZQUEZ-PROKOPEC et al., 2009).

1.4 Objetivos de pesquisa

1.4.1 Objetivo Geral

1. Descrever características eco-epidemiológicas da circulação de arboviroses em Salvador.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Descrever (temporal e clinicamente) a ocorrência do surto de Zika em Salvador e;
2. Identificar associações temporais entre o surto de Zika, o surto de Síndrome de Guilláin-Barré e o surto de microcefalia identificados em Salvador;
3. Descrever a distribuição espaço temporal de dengue em uma comunidade com infra-estrutura precária;
4. Identificar características ambientais e entomológicas domiciliares e peri-domiciliares que estejam associadas à ocorrência de arboviroses;
5. Descrever a existência de potenciais criadouros de mosquitos que não são objeto de controle entomológico.

1.5 Relevância social e científica

O autor desta tese de doutorado entende que toda pesquisa científica, em especial aquelas desenvolvidas sob tutela de uma instituição pública, com financiamento público e recebimento de bolsas de pós-graduação de origem pública, são em última análise um empreendimento que a sociedade, na figura do governo e suas instituições, decidiu realizar. Desta forma, a sociedade espera uma contribuição da pesquisa não apenas na área técnica a qual a pesquisa se insere, mas para a sociedade como um todo.

A dengue e outras arboviroses emergentes trazem um grande peso ao sistema de saúde brasileiro. Grandes epidemias de dengue foram identificadas no Brasil nos últimos 20 anos (BARRETO et al., 2008; COELHO et al., 2008; PONTES; RUFFINO-NETTO, 1994; SCHATZMAYR; NOGUEIRA; ROSA, 1986; TEIXEIRA et al., 2001; VASCONCELOS et al., 1995). O número e a incidência de casos de dengue reportados no Brasil são elevados, ultrapassando em alguns

anos a casa de um milhão de casos reportados (com incidência associada de aproximadamente 0,7% da população brasileira), como pode ser visto na Figura 1.

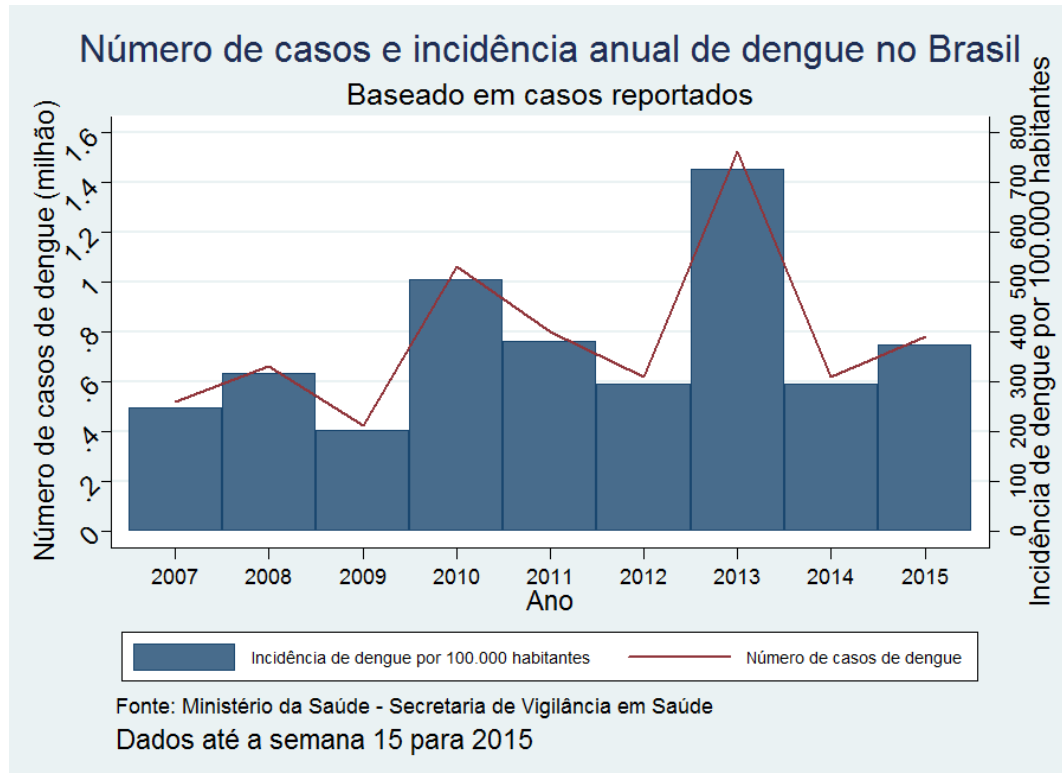


Figura 1. Número de casos e incidência anual de Dengue no Brasil, entre 2007 e 2015. Dados do Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde.

Outras arboviroses, como a Zika e o chikungunya, também afetaram o Brasil recentemente. Em 2014, surtos de chikungunya foram identificados na Bahia (TEIXEIRA et al., 2015) e Amapá, com incidência de indivíduos notificados estimada de aproximadamente 0,2% na população de Feira de Santana, o principal município atingido. Um surto de doença exantemática não esclarecida começou no Brasil no final do ano de 2014, tendo sido o agente causador identificado em 2015 como o vírus Zika (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015). Poucos meses após a ocorrência do surto de Zika, foi identificado um súbito aumento no número de casos de indivíduos com Síndrome de Guilláin-Barré em Salvador (PAPLOSKI et al., 2016). Esta é uma síndrome

paralítica de origem auto-imune frequentemente iniciada após um evento de infecção, e supõe-se que a introdução dos vírus Zika e chikungunya podem ter influenciado este aumento no número de casos de Síndrome de Guilláin-Barré. Por volta do final do ano de 2015, casos de microcefalia em recém-nascidos começaram a ser reportados no estado de Pernambuco (PROMED-MAIL, 2015), logo também sendo identificados no município de Salvador (PAPLOSKI et al., 2016). Evidências de possível associação entre a infecção pelo vírus Zika e a ocorrência de malformações congênitas foram encontradas (DE PAULA FREITAS et al., 2016; SARNO et al., 2016), o que lança uma nova dimensão para o possível impacto que infecções por arbovírus podem ter. Entretanto, apesar da magnitude e dos impactos diretos e indiretos à população brasileira, ainda há uma carência na literatura a respeito de informações que descrevam a ocorrência destes eventos na população de Salvador, em especial explorando a distribuição espacial destas doenças, a ocorrência de infecções por arbovírus recentemente introduzidos na população, e que identifiquem características ecológicas associadas à ocorrência de mosquitos ou de infecções por estes arbovírus.

Desta forma, a descrição da ocorrência dos casos de Zika em Salvador, e a investigação da associação temporal com os surtos de Síndrome de Guilláin-Barré e microcefalia são etapas cruciais na descrição destes eventos em Salvador. Conhecer a magnitude, população mais afetada e características clínicas mais frequentes em indivíduos suspeitos de infecção por Zika pode auxiliar a melhor estabelecer critérios na identificação desta infecção. Por sua vez, identificar associações temporais entre a ocorrência de Zika, Síndrome de Guilláin-Barré e microcefalia possibilita um melhor entendimento da origem destes eventos, facilita o entendimento da epidemiologia destes eventos na população e permite a elaboração de novas hipóteses para pesquisa científica.

Por sua vez, descrever a distribuição espacial de casos de dengue, investigando a ocorrência dos casos em momentos de alta e baixa transmissão, em diferentes anos, devido à circulação de diferentes sorotipos virais, pode auxiliar a identificar padrões de ocorrência da doença dentro de um centro urbano, além de possivelmente possibilitar prever locais para ocorrência de dengue ou mesmo de outras arboviroses que venham a ser introduzidas em Salvador.

A investigação de características entomológicas associadas com a ocorrência de dengue, Zika e chikungunya, coletadas diretamente dos indivíduos febris e por meio de visitas domiciliares com instalação de armadilhas entomológicas, pode auxiliar a esclarecer a relação entre diferentes formas de mensurar risco entomológico e a ocorrência de dengue e outras arboviroses.

Por fim, a descrição de novos criadouros de mosquitos, que estão presentes em toda cidade, que podem potencialmente acumular um volume de água grande e que muitas vezes passam despercebidos durante as ações de combate ao *Aedes aegypti* pode fornecer oportunidades para o combate do mosquito, e potencialmente auxiliando no controle da ocorrência destas doenças.

1.6 Referências Bibliográficas

- ADAMS, B. et al. Cross-protective immunity can account for the alternating epidemic pattern of dengue virus serotypes circulating in Bangkok. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 38, p. 14234–14239, 2006.
- ALMEIDA, A. S. DE; MEDRONHO, R. DE A.; VALENCIA, L. I. O. **Análise espacial da dengue e o contexto socioeconômico no município do Rio de Janeiro**, *RJRevista de Saúde Pública*, 2009.
- ALTHOUSE, B. M. et al. Potential for Zika Virus to Establish a Sylvatic Transmission Cycle in the Americas. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 12, p. e0005055, 15 dez. 2016.
- ANDERSON, C. R. et al. Oropouche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 10, p. 574–578, 1961.
- BANU, S. et al. Space-time clusters of dengue fever in Bangladesh. **Tropical medicine & international health : TM & IH**, v. 17, n. 9, p. 1086–91, set. 2012.
- BANU, S. et al. Dynamic spatiotemporal trends of dengue transmission in the Asia-Pacific region, 1955-2004. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e89440, jan. 2014.
- BARRETO, F. R. et al. Spread pattern of the first dengue epidemic in the city of Salvador, Brazil. **BMC public health**, v. 8, p. 51, jan. 2008.
- BARRETO, M. L. Epidemiologists and causation in an intricate world. **Emerging Themes in Epidemiology**, v. 2, n. 1, p. 3, 2005.
- BENNETT, D. **Explanation in medical geography: Evidence and epistemology**. Social Science and Medicine. **Anais...**1991
- BENTLEY, M. D.; DAY, J. F. Chemical Ecology and Behavioral Aspects of Mosquito Oviposition. **Annual Review of Entomology**, v. 34, n. 1, p. 401–421, jan. 1989.
- BHATT, S. et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504–507, 2013.
- BOWMAN, L. R.; RUNGE-RANZINGER, S.; MCCALL, P. J. Assessing the relationship between vector indices and dengue transmission: a systematic review of the evidence. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2848, maio 2014.
- BRADY, O. J. et al. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, 2012.
- BRAVO, J. R.; GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. P. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? I. Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 5, p. 816–820, set. 1987.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, out. 2015.
- CAPRARA, A. et al. Irregular water supply, household usage and dengue: a bio-social study in the Brazilian Northeast. **Cadernos de saude publica /**

Ministerio da Saude, Fundacao Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saude Publica, v. 25 Suppl 1, p. S125–S136, 2009.

CARDOSO, I. M. et al. Dengue : clinical forms and risk groups in a high incidence city in the southeastern region of Brazil Dengue : formas clínicas e grupos de risco em município de alta incidência do sudeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 4, p. 430–435, 2011.

CASSADOU, S. et al. Emergence of chikungunya fever on the French side of Saint Martin island, October to December 2013. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 13, 2014.

COELHO, G. E. et al. Dynamics of the 2006/2007 dengue outbreak in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 6, p. 535–539, 2008.

COIMBRA, T. L. M. et al. Mayaro virus: Imported cases of human infection in São Paulo state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007.

COLTON, Y. M.; CHADEE, D. D.; SEVERSON, D. W. Natural skip oviposition of the mosquito *Aedes aegypti* indicated by codominant genetic markers. **Medical and veterinary entomology**, v. 17, n. 2, p. 195–204, jun. 2003.

DE PAULA FREITAS, B. et al. Ocular Findings in Infants With Microcephaly Associated With Presumed Zika Virus Congenital Infection in Salvador, Brazil. **JAMA Ophthalmology**, 9 fev. 2016.

DIALLO, D. et al. Landscape Ecology of Sylvatic Chikungunya Virus and Mosquito Vectors in Southeastern Senegal. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 6, p. e1649, 12 jun. 2012.

DIALLO, M. et al. Vectors of Chikungunya virus in Senegal: Current data and transmission cycles. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 2, p. 281–286, 1999.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509–520, 1952.

DICK, O. B. et al. **Review: The history of dengue outbreaks in the Americas** **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 2012.

DUFFY, M. R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England journal of medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536–2543, 2009.

ESTALLO, E. L. et al. Spatio-temporal dynamics of dengue 2009 outbreak in Córdoba City, Argentina. **Acta tropica**, v. 136, p. 129–36, ago. 2014.

FOCKS, D. A. **A review of Entomologica Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors**. Gainsville: UNICEF/UNDP/WORLD BANK/WHO, 2004.

FUNASA. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

GEISER, D. L. et al. *Aedes aegypti* ferritin. **European journal of biochemistry**, v. 270, n. 18, p. 3667–3674, 2003.

GUBLER, D. J. How Effectively is Epidemiological Surveillance Used for Dengue Programme Planning and Epidemic Response ? **Dengue Bulletin**, v.

26, 2002a.

GUBLER, D. J. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. **Archives of Medical Research**, v. 33, n. 4, p. 330–342, 2002b.

HALSTEAD, S. B. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? **Revista panamericana de salud pública = Pan American journal of public health**, v. 20, n. 6, p. 407–15, dez. 2006.

HALSTEAD, S. B. Dengue. **Lancet**, v. 370, n. 9599, p. 1644–52, 10 nov. 2007.

HARVEY, D. Revolutionary and Counter Revolutionary Theory in Geography and the Problem of Ghetto Formation. **Antipode**, v. 4, p. 1–13, 1972.

HAWLEY, W. A. The biology of *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association. Supplement**, v. 1, p. 1–39, dez. 1988.

HILL, A. B. THE ENVIRONMENT AND DISEASE: ASSOCIATION OR CAUSATION? **Proceedings of the Royal Society of Medicine**, v. 58, p. 295–300, 1965.

KEISER, J. et al. Effect of irrigation and large dams on the burden of malaria on a global and regional scale. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 72, n. 4, p. 392–406, 2005a.

KEISER, J. et al. Effect of irrigated rice agriculture on Japanese encephalitis, including challenges and opportunities for integrated vector management. **Acta Tropica**, v. 95, n. 1, p. 40–57, 2005b.

KIKUTI, M. et al. Spatial Distribution of Dengue in a Brazilian Urban Slum Setting: Role of Socioeconomic Gradient in Disease Risk. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 7, p. e0003937, 21 jul. 2015.

KRIEGER, N. Epidemiology and the web of causation: Has anyone seen the spider? **Social Science and Medicine**, v. 39, n. 7, p. 887–903, 1994.

LAM, S. K.; CHUA, K. B. Nipah Virus Encephalitis Outbreak in Malaysia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, n. S2, p. S48–S51, maio 2002.

LIEBMAN, K. A et al. Spatial dimensions of dengue virus transmission across interepidemic and epidemic periods in Iquitos, Peru (1999-2003). **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 2, p. e1472, jan. 2012.

LIU, C. et al. Spatial analysis of dengue fever in Guangdong Province, China, 2001-2006. **Asia-Pacific journal of public health**, v. 26, n. 1, p. 58–66, jan. 2014.

LONG, K. C. et al. Experimental Transmission of Mayaro Virus by *Aedes aegypti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 4, p. 750–757, 1 out. 2011.

LUM, L. C. S. et al. Risk factors for hemorrhage in severe dengue infections. **The Journal of Pediatrics**, v. 140, n. 5, p. 629–631, maio 2002.

MARCHETTE, N. J.; GARCIA, R.; RUDNICK, A. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 18, n. 3, p. 411–5, maio 1969.

MESSINA, J. P. et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. **Trends in microbiology**, v. 22, n. 3, p. 138–46, mar. 2014.

- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diagnóstico Rápido nos Municípios para Vigilância Entomológica do Aedes aegypti no Brasil - LIRAA**. Brasília: Secretária de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://www.dengue.pr.gov.br/arquivos/File/profissionais/manual_dengue_liraa2.pdf>.
- MITCHELL, C. J.; FORATTINI, O. P.; MILLER, B. R. Vector competence experiments with Rocio virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 20, n. 3, p. 171–177, 1986.
- MORRISON, T. E. Re-emergence of chikungunya virus. **Journal of virology**, n. July, 2014.
- MORSE, S. S. Factors in the emergence of infectious diseases. **Emerging Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 7–15, 1995.
- MOURÃO, M. P. G. et al. Mayaro Fever in the City of Manaus, Brazil, 2007–2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 42–46, 2012.
- MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. 359–61, 2015.
- N'GORAN, E. K. et al. Changes in human schistosomiasis levels after the construction of two large hydroelectric dams in central Cote d'Ivoire. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 75, n. 6, p. 541–545, 1997.
- ODHIAMBO, C. et al. Vector Competence of Selected Mosquito Species in Kenya for Ngari and Bunyamwera Viruses. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 6, p. 1248–1253, 2014.
- OMETTO, T. et al. West Nile virus surveillance, Brazil, 2008–2010. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 107, n. 11, p. 723–730, 2013.
- OOI, E.-E.; GUBLER, D. J. Dengue in Southeast Asia: epidemiological characteristics and strategic challenges in disease prevention. **Cadernos de saude publica / Ministerio da Saude, Fundacao Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saude Publica**, v. 25 Suppl 1, p. S115–S124, 2009.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Nosso Planeta, Nossa Saúde, Nosso Futuro**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.paho.org/bra/images/stories/Documentos2/nosso_planeta.pdf>.
- PAPLOSKI, I. et al. Time lags between exanthematous illness attributed to Zika virus, Guillain-Barré syndrome, and microcephaly, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, 2016.
- PIALOUX, G. et al. **Chikungunya, an epidemic arbovirolosis** *Lancet Infectious Diseases*, 2007.
- PONTES, R. J.; RUFFINO-NETTO, A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Revista de Saude Publica**, v. 28, n. 3, p. 218–227, 1994.
- POPPER, K. **Logik der Forschung**. 1a. ed. Vienna, Austria: Verlag von Julius Springer, 1935.
- PROMED-MAIL. **Zika Virus - Brazil (16): (Pernambuco) Microcephaly cause undetermined**. Disponível em: <<http://www.promedmail.org/>>. Acesso em: 7 abr. 2016.

- QUARTILHO, M. **Cultura, Medicina e Psiquiatria: do sintoma à experiência**. Coimbra: Quarteto, 2001.
- REICH, N. G. et al. Interactions between serotypes of dengue highlight epidemiological impact of cross-immunity. **Journal of The Royal Society Interface**, v. 10, n. 86, p. 20130414–20130414, 3 jul. 2013.
- ROBINSON, T. P. Geographic information systems and the selection of priority areas for control of Tsetse-transmitted Trypanosomiasis in Africa. **Parasitology Today**, v. 14, n. 11, p. 457–461, 1998.
- ROSA, A. P. A. T. et al. Epidemia de febre do Oropouche em Serra Pelada, município de Curionópolis, Pará, 1994. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 6, p. 537–541, 1996.
- ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S. Causation and causal inference in epidemiology. **American Journal of Public Health**, v. 95, n. SUPPL. 1, 2005.
- ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S.; LASH, T. L. **Modern Epidemiology**. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2008.
- SANCHEZ, L. et al. Breteau Index threshold levels indicating risk for dengue transmission in areas with low Aedes infestation. **Tropical Medicine and International Health**, v. 15, n. 2, p. 173–175, 2010.
- SANTOS, M. Reformulando a sociedade e o espaço. **Vozes**, v. 74, n. 4, p. 37 – 48, 1974.
- SANTOS, M. **Relações espaço temporais no mundo subdesenvolvido**, 1976.
- SANTOS, M. Sociedade e espaço: a formação social como teoria e como método. **Boletim Paulista de Geografia**, v. 54, p. 81–100, 1977.
- SANTOS, M. **As formas da pobreza e da dívida social**. Brasília: Momento Nacional, 1999.
- SANTOS, M. **A natureza do espaço**. São Paulo: EdUSP, 2002.
- SAQUET, M.; SILVA, S. Milton Santos: concepções de geografia, espaço e território. **Geo UERJ**, v. 2, n. 18, p. 24–42, 2008.
- SARNO, M. et al. Zika Virus Infection and Stillbirths: A Case of Hydrops Fetalis, Hydranencephaly and Fetal Demise. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004517, 25 fev. 2016.
- SCHATZMAYR, H. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; ROSA, A. P. A. T. DA. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro - 1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 2, p. 245–246, 1986.
- SCHMIDT, K. A.; OSTFELD, R. S. Biodiversity and the Dilution Effect in Disease Ecology. **Ecology**, v. 82, n. 3, p. 609–619, mar. 2001.
- SCHMIDT, W.-P. et al. Population density, water supply, and the risk of dengue Fever in Vietnam: cohort study and spatial analysis. **PLoS medicine**, v. 8, n. 8, 2011.
- SCOTT, T. W.; MORRISON, A. C. Aedes aegypti density and the risk of dengue-virus transmission. **Wageningen UR Frontis Series**, p. 187–206, 2006.
- SHARP, P. M.; HAHN, B. H. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. **Cold**

- Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 1, n. 1, p. a006841–a006841, 1 set. 2011.
- SILVA, L. H. P. DA. **Memórias Subversivas de um Cientista**. 1a. ed. Rio de Janeiro: Vieira e Lent, 2012.
- SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 1, p. 48 – 53, 2005.
- SNOW, J. **On the Mode of Communication of Cholera**. 2nd. ed. Londres: [s.n.].
- SOARES-PINHEIRO, V. C. et al. Eggs viability of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) under different environmental and storage conditions in Manaus, Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 2016.
- SOUZA, C.; NETO, J. Geografia da saúde e climatologia médica: ensaios sobre a relação clima e vulnerabilidade. **Hygeia**, v. 4, n. 6, 2008.
- SUTHERST, R. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Clinical microbiology reviews**, v. 17, n. 1, p. 136–173, 2004.
- TEIXEIRA, M. D. G. et al. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. **Tropical medicine & international health**, v. 7, n. 9, p. 757–62, set. 2002.
- TEIXEIRA, M. G. et al. Epidemiologia do dengue em Salvador - Bahia, 1995-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 269–274, 2001.
- TEIXEIRA, M. G. et al. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 10, p. 1663, out. 2008.
- TEIXEIRA, M. G. et al. Epidemiological trends of dengue disease in Brazil (2000-2010): a systematic literature search and analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 12, p. e2520, jan. 2013.
- TEIXEIRA, M. G. et al. East/Central/South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 5, 2015.
- THEIN, S. et al. Risk factors in dengue shock syndrome. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 56, n. 5, p. 566–572, 1997.
- TOAN, D. T. T. et al. Hot spot detection and spatio-temporal dispersion of dengue fever in Hanoi, Vietnam. **Global health action**, v. 6, p. 18632, jan. 2013.
- TRAN, A. et al. Mapping disease incidence in Suburban areas using remotely sensed data. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 7, p. 662–668, 2002.
- TRAN, A. et al. Dengue Spatial and Temporal Patterns, French Guiana, 2001. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 615–621, 2004.
- TUN-LIN, W.; KAY, B. H.; BARNES, A. Understanding productivity, a key to *Aedes aegypti* surveillance. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 6, p. 595–601, 1995.
- VASCONCELOS, P. F. et al. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará State, Brazil, 1994. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, n. 3, p. 253–255, 1995.

- VASILAKIS, N. et al. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. **Nature reviews. Microbiology**, v. 9, n. 7, p. 532–41, jul. 2011.
- VASILAKIS, N.; TESH, R. B. Insect-specific viruses and their potential impact on arbovirus transmission. **Current Opinion in Virology**, v. 15, p. 69–74, dez. 2015.
- VAZQUEZ-PROKOPEC, G. M. et al. A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. **Journal of medical entomology**, v. 46, n. 6, p. 1256–1259, 2009.
- VITTOR, A. Y. et al. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of falciparum malaria in the Peruvian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 1, p. 3–11, 2006.
- WEARING, H. J.; ROHANI, P. Ecological and immunological determinants of dengue epidemics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 31, p. 11802–11807, 2006.
- WEAVER, S. C.; BARRETT, A. D. T. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. **Nature reviews. Microbiology**, v. 2, n. 10, p. 789–801, 2004.
- WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and Future Arboviral Threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 1–36, 2010.
- WHO. **Ecosystems and Human Well-being**. Geneva: World Health Organization, 2005. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43354/1/9241563095.pdf>>.
- WHO. **Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control**. Geneva: World Health Organization, 2009.
- WOLFE, N. et al. Deforestation, hunting and the ecology of microbial emergence. **Global Change & Human Health**, v. 1, n. 1, p. 10–25, 2000.
- YANOVIK, S. P. et al. Deforestation alter phytotelm habitat availability and mosquito production in the Peruvian Amazon. **Ecological Applications**, v. 16, n. 5, p. 1854–1864, out. 2006.
- YOON, I.-K. et al. Fine scale spatiotemporal clustering of dengue virus transmission in children and *Aedes aegypti* in rural Thai villages. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 7, p. e1730, jan. 2012.
- ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569–572, jun. 2015.
- ZUCHI, N. et al. Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2014.

2. Artigo 1 - Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil

Publicado em: Cardoso CW, Paploski I, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva M, Campos GS, et al. Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(12):2274-2276. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2112.151167>

Cristiane W. Cardoso¹, **Igor A.D. Paploski¹**, Mariana Kikuti, Moreno S. Rodrigues, Monaise M.O. Silva, Gubio S. Campos, Silvia I. Sardi, Uriel Kitron, Mitermayer G. Reis, and Guilherme S. Ribeiro

¹These authors contributed equally to this article.

Author affiliations: Secretaria Municipal de Saúde de Salvador, Salvador, Brazil (C.W. Cardoso); Fundação Oswaldo Cruz, Salvador (I.A.D. Paploski, M. Kikuti, M.S. Rodrigues, M.M.O. Silva, U. Kitron, M.G. Reis, G.S. Ribeiro); Universidade Federal da Bahia, Salvador (I.A.D. Paploski, M. Kikuti, G.S. Campos, S.I. Sardi, M.G. Reis, G.S. Ribeiro); Emory University, Atlanta, Georgia, USA (U. Kitron)

To the Editor: Zika virus (ZIKV) has been recognized as an emerging mosquito-borne flavivirus since outbreaks were reported from Yap Island in 2007 (1), French Polynesia in 2013 (2), and Cook Island and New Caledonia in 2014 (3). It has joined dengue virus (DENV) and chikungunya virus (CHIKV) as global public health threats (4). ZIKV infection typically causes a self-limited dengue-like illness characterized by exanthema, low-grade fever, conjunctivitis, and arthralgia, and an increase in rates of Guillain-Barré syndrome have been observed during ZIKV outbreaks (5).

In Brazil, clusters of cases of acute exanthematous illness have been reported from various regions since late 2014, and in April 2015, ZIKV was identified as the etiologic agent (6). In May 2015, the Brazilian Ministry of Health recognized circulation of ZIKV

in Brazil. We report epidemiologic findings for an ongoing outbreak of acute exanthematous illness in the population of Salvador, the third largest city in Brazil.

The Salvador Epidemiologic Surveillance Office (ESO) was first alerted to cases of an acute exanthematous illness early in 2015. Reporting of cases increased during March, and in April the ESO established 10 public emergency health centers in Salvador as sentinel units for systematic surveillance of patients with acute exanthematous illness of unknown cause. The units searched retrospectively for suspected cases by review of medical charts of patients treated since February 15, continued with prospective case detection, and submitted weekly reports of identified cases to the ESO.

During February 15–June 25, a total of 14,835 cases of an indeterminate acute exanthematous illness were reported from the 12 sanitary districts in Salvador. The overall attack rate was 5.5 cases/1,000 persons (4.6 cases/1,000 men and 6.3 cases/1,000 women, 8.2 cases/1,000 children <15 years of age, 5.4 cases/1,000 persons 15–39 years of age, and 3.8 cases/1,000 adults \geq 40 years of age).

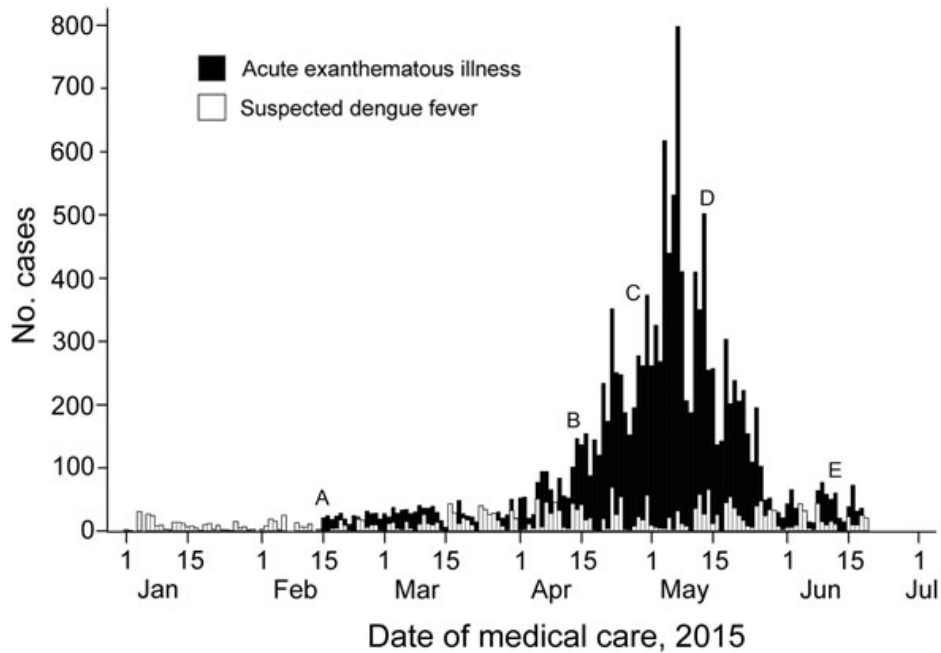


Figure. Reported cases of indeterminate acute exanthematous illness and suspected dengue fever in Salvador, Brazil, by date of medical care, February 15–June 25, 2015. Letters indicate specific events. **A)** February 15: systematic reporting of cases of acute exanthematous illness of unknown cause begins in Salvador. **B)** April 13: Salvador Epidemiologic Surveillance Office releases its first epidemiologic alert about the outbreak in Salvador. **C)** April 29: Zika virus is confirmed in 8 samples from patients residing ≈ 50 km from Salvador (<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados-dengue-2>) and media coverage of the outbreak intensifies (<http://www.correio24horas.com.br/detalhe/noticia/doenca-misteriosa-que-atinge-cidades-baianas-e-identificada-como-zika-virus/?cHash=74792c41f3128395ba0ffa5e1ed9dbbe>). **D)** May 14: Brazilian Ministry of Health announces circulation of Zika virus in Brazil (<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/operacional/ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/17702-confirmacao-do-zika-virus-no-brasil>). **E)** June 11: Brazilian press announces that cases of Zika virus infection have been confirmed in 8 states in Brazil (<http://www1.folha.uol.com.br/cotidiano/2015/06/1640752-virus-primo-da-dengue-zika-ja-tem-casos-confirmados-em-oito-estados.shtml>).

The epidemic curve peaked in the first week of May, which was 1 week after molecular diagnosis of ZIKV in 8 patients residing ≈50 km from Salvador and during a period of intense media coverage of the outbreak (Figure) (6). Reporting of suspected dengue cases in Salvador did not vary substantially from that in other years and was >5 times lower: 2,630 cases, of which 165/366 (45.1%) were positive for dengue IgM, 20/590 (3.4%) positive for dengue virus nonstructural protein 1, and 1/11 (9.1%) positive for dengue virus by reverse transcription PCR (Figure). During the same period, 58 cases of suspected chikungunya were reported and 24 patients with suspected Guillain-Barré syndrome were hospitalized.

The median age of case-patients was 26 years (interquartile range 11–39 years), but all age groups were affected, which is a pattern typical of spread of new microorganisms (or subtypes) in a susceptible population. Median duration of symptoms at time of medical attention was 1 day (interquartile range 0–3 days). All patients had exanthema and most (12,711/14,093 [90.2%]) had pruritus. Fever (4,841/13,786, 35.1%), arthralgia (278/1,048 [26.5%]), headache (3,446/13,503 [25.6%]), and myalgia (223/1,033 [21.6%]) were less common.

Serum samples from some patients were examined for rubella IgM (2/200, 1.0% positive), rubella IgG (15/18, 83.3% positive), measles IgM (0/11, 0% positive), dengue nonstructural protein 1 (3/185, 1.6% positive), dengue IgM (17/80, 21.3% positive), parvovirus B19 IgM (0/1, 0% positive), and parvovirus B19 IgG (1/1, 100% positive). Reverse transcription PCR was performed on 58 serum samples stored at –20°C and confirmed ZIKV in 3 (5.2%) samples, CHIKV in 3 (5.2%) samples, DENV type 3 in 1 (1.7%) sample, and DENV type 4 in 1 (1.7%) sample.

Identification of ZIKV, CHIKV and DENV as etiologic agents of acute exanthematous illness suggests that these 3 *Aedes* spp. mosquito-transmitted viruses were co-circulating in Salvador and highlights the challenge in clinically differentiating these infections during outbreaks. Although we were not able to determine the specific incidence of each virus, the low frequency of fever and arthralgia, which are indicators of dengue and chikungunya, point to ZIKV as the probable cause of several of the reported cases. Furthermore, laboratory-confirmed cases of infection with ZIKV were simultaneously identified in other cities within metropolitan Salvador (6,7) and in other

states in Brazil (8). Low diagnosis of ZIKV infection is likely because viremia levels among infected patients appear to be low (9).

The spread of ZIKV represents an additional challenge for public health systems, particularly because of the risk for concurrent transmission of DENV and CHIKV by the same vectors, *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes, which are abundant throughout tropical and subtropical regions. To date, the largest outbreak of chikungunya in Brazil occurred in 2014 in Feira de Santana, Bahia, ≈100 km from Salvador, where dengue is also prevalent (10).

This report illustrates the potential for explosive simultaneous outbreaks of ZIKV, CHIKV, and DENV in the Western Hemisphere and the increasing public health effects of *Aedes* spp. mosquitoes as vectors. The apparent increase in reports of Guillain-Barré syndrome during the outbreak deserves further investigation to elucidate whether this syndrome is associated with ZIKV infection. Public health authorities in Brazil and neighboring countries should plan accordingly.

Acknowledgments

We thank the health professionals of the Municipal Health Secretariat of Salvador, particularly those working in surveillance activities, for invaluable assistance in case reporting and outbreak investigation; and the municipal laboratory staff for assistance.

This study was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq grant 400830/2013-2 and CNPq scholarships to I.A.D.P., M.S.R., U.K., M.G.R., and G.S.R.), the Bahia Foundation for Research Support (grant PNX0010/2011), and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, Brazilian Ministry of Education (CAPES scholarship to M.K.).

References

1. Duffy MR, Chen T-H, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536–43. [DOI PubMed](#)

2. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1085–6. [DOI PubMed](#)
3. Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections—an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific, 2012–2014. *Euro Surveill.* 2014;19:20929 . [DOI PubMed](#)
4. Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? *Lancet.* 2015;386:243–4. [DOI PubMed](#)
5. Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau V-M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:O595–6. [DOI PubMed](#)
6. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:1885–6. [DOI PubMed](#)
7. Zammarchi L, Tappe D, Fortuna C, Remoli ME, Günther S, Venturi G, Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. *Euro Surveill.* 2015;20:21153 . [DOI PubMed](#)
8. Zanluca C, De Melo VC, Mosimann AL, Dos Santos GI, Dos Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:569–72 . [DOI PubMed](#)
9. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1232–9 . [DOI PubMed](#)
10. Teixeira MG, Andrade AM, Costa MC, Castro JN, Oliveira FL, Goes CS, East/Central/South African genotype chikungunya virus, Brazil, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:906–7 . [DOI PubMed](#)

3. Artigo 2 - Time Lags between Exanthematous Illness Attributed to Zika Virus, Guillain-Barré Syndrome, and Microcephaly, Salvador, Brazil

Publicado em: Paploski I, Prates A, Cardoso CW, Kikuti M, Silva M, Waller LA, et al. Time Lags between Exanthematous Illness Attributed to Zika Virus, Guillain-Barré Syndrome, and Microcephaly, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(8):1438-1444. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2208.160496>

Igor A.D. Paploski¹, Ana Paula P.B. Prates¹, Cristiane W. Cardoso, Mariana Kikuti, Monaise M. O. Silva, Lance A. Waller, Mitermayer G. Reis, Uriel Kitron¹, and Guilherme S. Ribeiro¹

¹These authors contributed equally to this article.

Author affiliations: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, Brazil (I.A.D. Paploski, M. Kikuti, M.M.O. Silva, M.G. Reis, U. Kitron, G.S. Ribeiro); Universidade Federal da Bahia, Salvador (I.A.D. Paploski, M. Kikuti, M.G. Reis, G.S. Ribeiro); Secretaria Municipal de Saúde de Salvador, Salvador (A.P.P.B. Prates, C.W. Cardoso); Emory University, Atlanta, Georgia, USA (L.A. Waller, U. Kitron)

Abstract

Zika virus infection emerged as a public health emergency after increasing evidence for its association with neurologic disorders and congenital malformations. In Salvador, Brazil, outbreaks of acute exanthematous illness (AEI) attributed to Zika virus, Guillain-Barré syndrome (GBS), and microcephaly occurred in 2015. We investigated temporal correlations and time lags between these outbreaks to identify a common link between them by using epidemic curves and time series cross-correlations. Number of GBS cases peaked after a lag of 5–9 weeks from the AEI peak. Number of suspected cases of microcephaly peaked after a lag of 30–33 weeks from the AEI peak, which corresponded to time of potential infections of pregnant mothers during the first trimester. These findings support the association of GBS and microcephaly with Zika

virus infection and provide evidence for a temporal relationship between timing of arboviral infection of pregnant women during the first trimester and birth outcome.

In late 2014, cases of acute exanthematous illness (AEI), involving widespread rash of unclear etiology, were reported in several municipalities in northeastern Brazil. By April 2015, Zika virus was identified in patients from the states of Bahia (1) and Rio Grande do Norte, Brazil (2). In Salvador, the capital of Bahia, during February–June 2015, ≈15,000 cases of indeterminate AEI were reported (3). Reverse transcription PCR performed on 58 serum samples from AEI outbreak case-patients identified Zika virus in 3 (5.2%) of them. (3). Although chikungunya and dengue viruses were also detected at similar frequencies, the low frequency of fever (35.1%) and arthralgia (26.5%) among AEI patients suggested that Zika virus was the likeliest etiology for the outbreak (3).

The virus has continued to spread, and by the end of 2015, laboratory-confirmed autochthonous Zika virus cases have been identified in all 5 regions of Brazil; the Brazilian Ministry of Health estimated that 500,000–1.5 million persons were infected (4). Zika virus has since spread to other regions of the Americas and resulted in large epidemics (5).

Studies conducted during a Yap Island (Federated States of Micronesia) outbreak found that ≈20% of Zika virus infections showed clinical symptoms (6). For most patients in whom symptoms develop, the disease is self-limited and clinical manifestations (exanthema [rash], arthralgia, fever, and conjunctivitis) are mild (6). However, during the outbreak in French Polynesia, a 20-fold increase in the incidence of GBS was observed (7), and concerns about an association between Zika virus infection and GBS were first raised. A case–control study subsequently identified strong associations of GBS with positive Zika virus seroneutralization and Zika virus IgM or IgG (8). Since 2015, an increase in GBS rates has also been observed in Brazil, Colombia, El Salvador, Suriname, and Venezuela (9).

The increase in newborns with microcephaly in northeastern Brazil in late 2015 called global attention to Zika virus as a major public health threat to pregnant women and their newborns (10). Even without a conclusive association between a prenatal Zika virus infection and neurologic disorders in the offspring, the Brazilian Ministry of Health

and World Health Organization declared a public health emergency ([11](#)). Since then, clinical evidence increasingly supports an association of prenatal Zika virus infection with birth of babies with microcephaly, and other neurologic and ophthalmologic complications, as well as miscarriages and stillbirths ([12–17](#)).

Salvador, the largest city in northeastern Brazil (2015 population of 2.9 million persons) has been one of the main epicenters for epidemics of Zika virus infection, GBS, and microcephaly. Using raw and smoothed temporal data collected during these outbreaks, we investigated the temporal associations and determined the time lags between epidemiologic curves of the suspected Zika virus infection outbreak, reported cases of GBS, and reported suspected cases of microcephaly.

Methods

Data Collection and Case Definitions

In April 2015, the Centers for Information and Epidemiologic Surveillance of Salvador (CIES) established 10 public emergency health centers as sentinel units for systematic surveillance of patients with AEI of unknown cause in Salvador. A case-patient was defined as a resident of Salvador who had a rash, with or without fever, and whose clinical and epidemiologic characteristics did not satisfy the criteria for dengue, chikungunya, measles, or rubella ([18](#)). The public health units searched retrospectively for suspected cases by review of medical charts of patients treated starting on February 15, 2015; continued with prospective case detection; and submitted weekly reports of identified cases to CIES. On May 25, 2015, because of the sharp decrease in the number of outbreak cases, CIES reduced the number of sentinel health units to the 3 that reported the most cases, although several of the other units continued to report AEI cases voluntarily. For our analyses, we used the reported number of cases for February 15–December 31, 2015.

After neurologic syndrome cases in adults potentially associated with a previous Zika virus infection were first reported in Salvador in late May, CIES initiated surveillance for hospitalizations caused by neurologic manifestations that might be linked to Zika. Cases were identified retrospectively during April–May and followed by prospective case detection. CIES regularly contacted all city hospital epidemiologic services and investigated all suspected case-patients who resided in Salvador. Surveillance personnel, supported by infectious disease physicians and neurologists, ruled out

cases for which clinical and laboratory manifestations indicated other diagnoses, and only included cases of GBS and its variants (e.g., Miller-Fisher syndrome). For our analyses, we used the number of hospitalized patients with GBS or GBS variants identified in Salvador during 2015.

After the increase in number of cases of microcephaly in newborns first noticed in Pernambuco State in September 2015, and the request from the Brazilian Ministry of Health that all suspected cases of microcephaly in newborns be reported, CIES established a reporting system in October 2015. Since then, CIES has requested and received reports of all newborns with suspected neurologic impairments and has been investigating all potential cases of microcephaly.

Suspected cases of microcephaly in newborns were reported on the basis of a reduced occipitofrontal perimeter at birth. The initial criteria for reporting was newborns delivered after ≥ 37 gestational weeks with an occipitofrontal perimeter ≤ 33 cm, or newborns delivered before 37 gestational weeks with a perimeter less than the third percentile of the Fenton curve ([19](#)). In December, 2015, the Brazilian Ministry of Health changed the first criterion to an occipitofrontal perimeter < 32 cm ([20](#)).

For our analyses, we only included suspected microcephaly case-patients that fulfilled these latest criteria. The first such case-patient was born on July 11, 2015, and a search of the national information system on live births from Salvador for the AEI outbreak period produced no additional cases of congenital malformation fulfilling these criteria. We included all of suspected cases of microcephaly up to March 10, 2016 (the 10th epidemiologic week of 2016); and data for the last case-patient was updated on March 17, 2016.

We opted to analyze all reported suspected cases of microcephaly, instead of only those investigated and confirmed, because only 27.7% of the reported cases had been investigated. Limiting analysis to only confirmed cases could potentially introduce bias because cases that were reported earlier during the outbreak were more likely to have had the investigation concluded. In contrast, including all reported cases might introduce some false-positive diagnoses. Because both inclusion criteria are not free of a potential bias, we analyzed all reported suspected cases of microcephaly.

CIES served as the repository of all AEI, GBS, and suspected microcephaly data from all contributing sources. CIES evaluated and integrated data, including merging of

different reporting spreadsheets, and removed duplicate information (on the basis of name, age, date of reporting, and sanitary districts of residence) and nonsense data (e.g., all missing information). Numbers of cases of AEI, GBS, and suspected microcephaly per epidemiologic week were then tabulated.

Data Analysis

We analyzed case-patients with AEI, GBS, and suspected microcephaly by date of medical care, date of hospitalization, and date of birth, respectively. We used the documented date of medical care or hospitalization, rather than the presumed day when symptoms began, to avoid recall error and reduce missing information.

We constructed epidemiologic curves by week and with 3-week and 5-week moving averages by using Stata software ([21](#)). We smoothed data by using 3-week and 5-week moving averages to reduce week-to-week variation, wherein the count of events for a given week was averaged with values of the previous and following weeks (3 weeks) or with the 2 previous and 2 following weeks (5 weeks). Because the weekly increase in cases during the outbreak was much larger than the observed weekly variation, there was little difference between crude and smoothed data.

We assessed temporal correlations between our time series by using standard estimation of lagged time-series cross-correlations ([22](#)) to identify lag times showing the highest correlations between weekly numbers of AEI and ensuing weekly numbers of 1) GBS cases and 2) suspected cases of microcephaly. Although one could evaluate statistical significance by comparing cross-correlations to those expected under a null hypothesis of no association ([22](#)), our primary focus was to estimate lags with the strongest correlation (i.e., at what lags do the strongest correlations occur?), not a strict evaluation of whether any correlations occurred. Because both time series showed single large increases, our goal was to identify time lags between these series. Specifically, we examined lag times of 0–40 weeks and compared the AEI time series to those for GBS and suspected microcephaly to cover the full pregnancy period. Because of observed timing of initial epidemic curves, we present only results for positive time lags (i.e., AEI preceding GBS or suspected microcephaly). We also assessed cross-correlations for raw and 3-week and 5-week smoothed data.

Results

During the study, CIES recorded 17,503 reported cases of AEI (5.99 cases/1,000 persons during 2015), 51 hospitalizations of persons with of GBS (1.74 cases/100,000 persons during 2015), and 367 newborns with suspected microcephaly (15.6 cases/1,000 newborns during July 2015–February 2016, which peaked at 31.4 cases/1,000 newborns in December) (Table). Raw and smoothed data (3-week and 5-week moving averages) had a clear initiation, peak, and reduction of cases, and followed a classic epidemic time series of incidence for AEI, GBS, and suspected microcephaly (Figure 1).

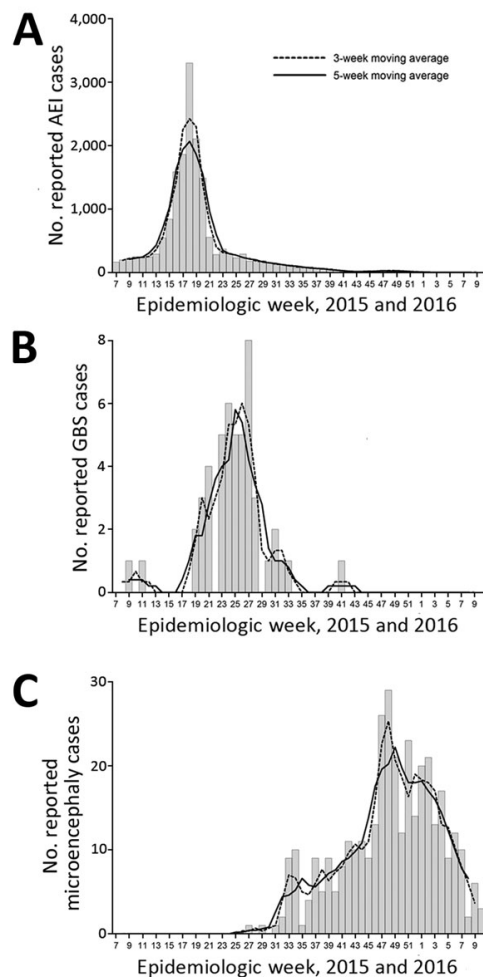


Figure 1. Epidemiologic curves of weekly cases and moving averages of 3 weeks and 5 weeks for A) acute exanthematous illness (AEI), B) Guillain-Barré syndrome, and C) suspected microcephaly, Salvador, Brazil, 2015–2016. The specific starting date during week 7 was February 15, 2105.

Table. Cases of reported acute exanthematous illness, Guillain-Barré syndrome, and microcephaly per epidemiologic week, Salvador, Bahia, Brazil, 2015–2016*

Epidemiologic week†	Year	Acute exanthematous illness	Guillain-Barré syndrome	Reported microcephaly
7	2015	161	0	0
8	2015	195	0	0
9	2015	216	1	0
10	2015	245	0	0
11	2015	228	1	0
12	2015	242	0	0
13	2015	288	0	0
14	2015	543	0	0
15	2015	840	0	0
16	2015	1,585	0	0
17	2015	1,861	0	0
18	2015	3,301	0	0
19	2015	2,105	2	0
20	2015	1,486	3	0
21	2015	551	4	0
22	2015	279	0	0
23	2015	366	5	0
24	2015	294	6	0
25	2015	229	5	0
26	2015	289	5	0
27	2015	177	8	1
28	2015	179	3	0
29	2015	181	0	1
30	2015	150	1	0
31	2015	118	2	1
32	2015	127	1	2
33	2015	121	1	9
34	2015	72	0	10
35	2015	77	0	1
36	2015	86	0	4
37	2015	54	0	9
38	2015	50	0	5
39	2015	55	0	9
40	2015	43	0	5
41	2015	12	1	8
42	2015	10	0	11
43	2015	2	0	10
44	2015	14	0	11
45	2015	21	0	9
46	2015	16	0	13
47	2015	17	0	26
48	2015	31	0	29
49	2015	35	0	21
50	2015	4	0	12
51	2015	21	0	23
52	2015/2016	9	0	14
1	2016	NA	0	20
2	2016	NA	0	21
3	2016	NA	0	13
4	2016	NA	0	17
5	2016	NA	0	9
6	2016	NA	0	12
7	2016	NA	0	10
8	2016	NA	0	2
9	2016	NA	0	6
10	2016	NA	0	3

*NA, not available.

†The specific starting date during week 7 was February 15, 2015.

Number of AEI cases with available data for date of medical care (16,986 [97.1%]) ([Figure 1](#), panel A) peaked during week 18 (May 3–9, 2015), as reported ([3](#)). The peak during week 18 was confirmed by 3-week and 5-week moving averages. During weeks 16–20 (April 19–May 23, 2015), >1,000 AEI cases/week were reported.

Number of GBS cases with a known date of hospitalization (49 [96.1%]) ([Figure 1](#), panel B) peaked during weeks 23–27 (June 7–July 11, 2015). Using the 5-week moving average, we found that ≥ 4 cases were reported during weeks 23–27. The 5-week and 3-week moving averages provided a clearer picture of the GBS epidemic curve, which was susceptible to higher variability, given the relatively low number of cases per week.

Suspected cases of microcephaly that satisfied our criteria and included a date of birth (357 [97.3%]) ([Figure 1](#), panel C) peaked during weeks 47–49 (November 22–December 12, 2015), during which there were >20 cases/week. Moving averages helped smooth the epidemiologic curve, which is susceptible to uneven time lags between a potential prenatal infection and outcome (i.e., a mother could have been infected at any time during the first trimester or even later). The 18-week period of increase in the number of suspected cases of microcephaly (weeks 31–48) corresponds to a 12-week increase in number of AEI cases (weeks 7–18), and is probably longer because pregnant women throughout the first trimester might have been infected at the onset of the AEI outbreak. For 328 (91.9%) of 357 suspected cases of microcephaly for which data on gestational age at birth were available, the median gestational week was 39 weeks (range 34–41 weeks), which coincided with the first trimester of pregnancy when the AEI outbreak peaked.

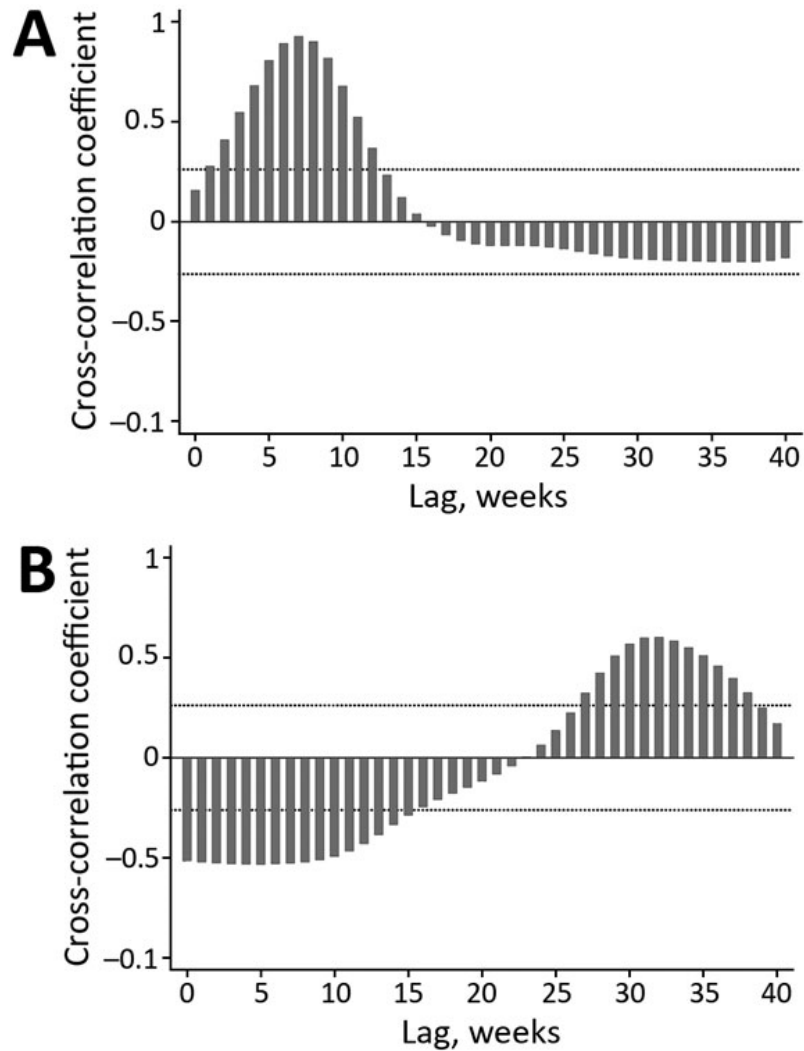


Figure 2. Cross-correlation of acute exanthematous illness with A) Guillain-Barré syndrome and B) suspected microcephaly, Salvador, Brazil, 2015–2016, for a 5-week moving average. Dotted horizontal lines indicate 95% tolerance intervals for a null model of no association. Negative correlations observed at early lag periods are a function of large numbers of acute exanthematous illness cases that occurred early in the study period when there were no suspected cases of microcephaly.

Cross-correlation analyses ([Figure 2](#)) confirmed the patterns shown in [Figure 1](#) (i.e., a strong positive correlation between temporally lagged time series driven by observed time lags between peaks in case numbers). Findings were consistent for results based on the raw time series and either the 3-week or 5-week moving averages, and peak

correlations differed by ≤ 1 week. Number of GBS cases peaked after a lag of 5–9 weeks from the peak in AEI cases (Figure 2, panel A), thus providing strong support for a direct association of the GBS outbreak with the AEI outbreak 1–2 months earlier.

The number of suspected cases of microcephaly peaked after a lag of 30–33 weeks from the peak in AEI cases (Figure 2, panel B), which corresponded to potential infections of mothers during the first trimester of gestation (7–8 months before giving birth). Negative correlations observed at early lag periods were a function of the fact that most AEI cases occurred early in the study period when there were no suspected cases of microcephaly.

Discussion

Our analyses showed clear and strong cross-correlations for GBS and suspected cases of microcephaly with the original AEI outbreak in Salvador during 2015. These correlations were particularly noteworthy, given delays in case reporting, challenges with diagnosis, and ongoing investigations. Correlations were particularly clear-cut for GBS when a lag of 5–9 weeks from AEI was considered. These results complement a recent case–control study (8), which reported an association of GBS with Zika virus in French Polynesia.

Of even more public health interest might be the strong association between outbreaks of AEI and children born with suspected microcephaly (30–33 weeks apart), which demonstrated a strong temporal association between potential exanthematous disease in the first trimester of pregnancy and birth outcome. These results also complement results of studies that linked febrile rash illness suggestive of Zika virus infection during the first trimester of pregnancy and an increased incidence of microcephaly in newborns (23,24). The ongoing decrease in number of suspected cases of microcephaly in 2016, which has occurred despite continuing and increasing public health and media attention to this serious pregnancy outcome, is particularly noteworthy and matches the reduction in number of cases of microcephaly predicted for Salvador in early 2016 (25,26).

Recent statements by researchers in Brazil and elsewhere and reports in the media have raised doubts about the actual baseline number of cases of microcephaly in Brazil and questioned the number of cases associated with exposure to Zika virus, given limited baseline data and greatly increased recognition and attention to this

phenomenon (27). Our results support the link between births of children suspected of having microcephaly and exposure of a pregnant woman to an AEI putatively caused by Zika virus during the first trimester of pregnancy. This link was based on the time-lagged correlation between these 2 factors and the decrease in incidence of congenital manifestations since mid-December 2015.

Although such temporal associations do not prove causation, their strength and pattern makes a major contribution to the growing body of data supporting the association of GBS and congenital malformations with previous exposure to Zika virus (or, at least, an AEI). Furthermore, estimated time lags provide insight into the high-risk exposure period that might lead to these complications and, consequently, help public health and vector control authorities target control and protection efforts more effectively. Additional individual and population level investigations, both clinical and epidemiologic (case–control and cohort studies) are needed, as are increased resources for surveillance, vector control, and diagnostic capabilities to make definitive connections. With emerging infectious diseases increasing worldwide (28), investing in public health surveillance on the city, state, national, and global levels is one of the most cost effective way to help address these ongoing and increasing challenges (29).

As an epidemiologic investigation relying on population-level analyses, this study had several limitations. Our data were collected by CIES from different sources, diagnoses were not always definitive, and case definition criteria and case ascertainment were prone to changes, as is common during initial outbreak investigations of novel events. This limitation is particularly true for the AEI outbreak, for which cases were not subjected to an extensive laboratory investigation. In a previous study, we showed that Zika virus, chikungunya virus (CHIKV), and dengue virus were circulating and associated with AEI cases during the outbreak (3). On the basis of clinical manifestations for reported AEI case-patients and epidemiologic evidence for the spread of Zika virus in Brazil and to the rest of the Americas, and given the challenges in identifying Zika virus in serum samples, this virus was probably the main arbovirus involved in the AEI outbreak in Salvador during our study. Furthermore, although dengue (30,31) and chikungunya (32,33) have been associated with GBS, dengue epidemics have occurred for decades without any associated outbreaks of microcephaly or other severe congenital malformations, and CHIKV infections that

occur in pregnant women before the peripartum period do not appear to pose congenital risks (34,35).

In French Polynesia, during the chikungunya outbreak in 2014–2015, an increase in GBS cases was observed (33). Thus, Zika virus and CHIKV might have played a role in emergence of GBS cases in Salvador. Unfortunately, our study design (because of limited available diagnostic data) precluded determining the frequency of each circulating arbovirus during the AEI outbreak. These data are needed to determine whether different arboviral infections peaked at the same time or whether the AEI peak represented the junction of distinct epidemic curves for sequential arbovirus outbreaks.

The presence of 2 infectious triggers, whose temporal distribution might not have coincided at the AEI peak, might partly explain why we observed GBS cases peaking 5–9 weeks after the peak of AEI cases, while in French Polynesia, the lag between peaks of GBS and cases of Zika virus infection was only 3 weeks (8). Use of date of medical care for AEI and date of hospitalization for GBS, rather than the presumed day when symptoms began, also might have contributed to the difference in observed time lags. For case-patients for whom data were available, the median interval between AEI symptoms onset and medical care was 1 day, and the median interval between onset of GBS symptoms and hospitalization was 5 days. In addition, patients with AEI might have been less likely to seek medical care for their symptoms, once the community perceived Zika virus infection as benign, making the AEI epidemic curve shorter. Therefore, actual time lags might be shorter than what we observed.

Another limitation was the change in case ascertainment for AEI from retrospective to prospective, and then from using 10 health units to using the 3 units that reported most cases (although several of the other units continued to report AEI cases voluntarily). Retrospective data collection is the common method for detecting a baseline level and initiating an outbreak investigation, and reduction of the number of health units was made after the large decrease in AEI cases. Thus, the effect of these changes on the shape of the epidemic curve is small.

As another limitation, the epidemiologic curve for suspected cases of microcephaly potentially overestimated the actual number of cases. Ongoing investigation of the 5,909 reported suspected cases of microcephaly and other central nervous system

impairments in newborns, stillbirths, and abortions in Brazil was completed for 1,687 cases by mid-February 2016. Of these cases, 641 (38.0%) were confirmed (36). In Salvador, CIES investigated 99 reported cases of Zika virus congenital syndrome, of which 43 (43.4%) were confirmed.

On the basis of the reported number of suspected cases of microcephaly and the number of births in Salvador during the study, 3.1% of newborns were reported as having suspected cases of microcephaly during the peak month of December 2015. However, if we consider that in December only 20 (58%) of the 34 investigated cases were confirmed, a more realistic estimation for the suspected microcephaly risk in that period is 1.8 cases/100 newborns. We believe that the temporal distribution of reported cases parallels that of actual cases. Also, by analyzing all reported cases, we reduced a major source of observation bias (i.e., investigations of cases reported earlier were more likely to have been completed). The consistent shape and mode of the epidemiologic curves, with or without smoothing, support the robustness of our data and findings.

Our case ascertainment of suspected cases of microcephaly were also potentially influenced by spontaneous and nonspontaneous abortions. Although spontaneous abortions could have occurred because of virus effects during embryogenesis, nonspontaneous abortions might have increased after intense media coverage of the microcephaly outbreak. Abortion is prohibited in Brazil (except for a few situations, such as rape, anencephaly, or risk for death of the mother), but it is commonly performed illegally, and 16.4% of women reported having had ≥ 1 abortion (37). Unfortunately, no official data are available to help understand the likely effect of abortions on the outbreak of congenital Zika virus syndrome. In addition, the database for suspected microcephaly is restricted to live births, and data on stillbirths and abortions are not available.

Finally, we focused on cross-correlation between the time series because we did not have individual links between GBS cases and earlier AEI in the same person or between suspected microcephaly and prior AEI of the mother. Retrospective studies indicate a recall of AEI by women who have given birth to microcephalic babies, but there are few direct demonstrations of virus transfer (17). Use of aggregate data enabled us to test for a temporal association between AEI, GBS, and suspected

microcephaly, taking advantage of the establishment in Salvador of a surveillance system for detecting and recording AEI cases early during the outbreak. Consequently, Salvador recorded 17,503 of the 72,062 suspected cases of Zika virus infection in Brazil by February 25, 2016 (38).

After the AEI outbreak in Salvador, attention was given to the increased number of cases of microcephaly. However, it is becoming clear that newborns also manifest other congenital malformations (12,16), and that microcephaly might be the most extreme outcome of arboviral infection of the mother. The recently proposed term congenital Zika syndrome (39) might better capture the spectrum of possible clinical manifestation of newborns exposed to Zika virus during gestation. The Brazilian Ministry of Health is now conducting surveillance of microcephaly or changes in the central nervous system (36). As neonatal outcomes are likely to be observed in other countries, attention must be given to the full range of potential congenital malformations.

Dr. Paploski is a veterinarian and public health doctoral candidate at the Federal University of Bahia, Salvador, Brazil. His primary research interests are epidemiology of arboviruses and infectious diseases that disproportionately affect neglected populations.

Acknowledgments

We thank health professionals in Salvador, Brazil, especially those working in surveillance activities, and municipal laboratory staff for providing assistance; Gubio Soares Campos for detecting arboviruses involved in the AEI outbreak; and Isadora Cristina de Siqueira for assisting in identification of Guillain-Barré syndrome.

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (grant 400830/2013-2 and scholarships to I.A.D.P., U.K., M.G.R., and G.S.R); the Bahia Foundation for Research Support (scholarship to M.M.O.S.); and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel—Brazilian Ministry of Education (scholarship to M.K.).

References

1. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:1885–6. [DOI PubMed](#)

2. Zanluca C, de Melo VC, Mosimann AL, dos Santos GI, dos Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:569–72. [DOI PubMed](#)
3. Cardoso CW, Paploski IA, Kikuti M, Rodrigues MA, Silva MM, Campos GS, Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, chikungunya, and dengue viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:2274–6. [DOI PubMed](#)
4. Ribeiro GS, Kitron U. Zika virus pandemic: a human and public health crisis [in Portuguese]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49:1–3. [DOI](#)
5. Weaver SC, Costa F, Garcia-Blanco MA, Ko AI, Ribeiro GS, Saade G, Zika virus: history, emergence, biology, and prospects for control. *Antiviral Res.* 2016;130:69–80. [DOI PubMed](#)
6. Duffy MR, Chen T-H, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536–43. [DOI PubMed](#)
7. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparc-Goffart I, Lastere S, Valour F, Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome—case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014;19:20720. [DOI PubMed](#)
8. Cao-Lormeau V-M, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case–control study. *Lancet.* 2016;387:1531–9. [PubMed](#)
9. World Health Organization. Zika situation report, February 26, 2016 [cited 2016 Mar 2]. <http://who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/26-february-2016/en/>
10. Zika virus—Brazil (16): (Pernambuco) Microcephaly cause undetermined. ProMED-mail [cited 2016 Apr 27]. [http://www.promedmail.org/archive no./20151118.3799192](http://www.promedmail.org/archive/no./20151118.3799192)
11. World Health Organization. WHO Director-General summarizes the outcome of the emergency committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome, 2016 [cited 2016 Mar 2]. <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2016/emergency-committee-zika-microcephaly/en/>
12. Sarno M, Sacramento GA, Khouri R, do Rosário MS, Costa F, Archanio G, Zika virus infection and stillbirths: a case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10:e0004517. [DOI PubMed](#)

13. Schuler-

- Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, Possible association between Zika virus infection and microcephaly—Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:59–62. [DOI PubMed](#)
14. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Priateli M, Mraz J, Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med.* 2016;374:951–8. [DOI PubMed](#)
15. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis.* 2016;Feb 17;pii: S1473-3099(16)00095-5.
16. de Paula Freitas B, de Oliveira Dias JR, Prazeres J, Sacramento GA, Ko AI, Maia M, Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in Salvador, Brazil. *JAMA Ophthalmol.* 2016 Feb 9.
17. Brasil P, Pereira JP Jr, Raja Gabaglia C, Damasceno L, Wakimoto M, Ribeiro Nogueira RM, Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro—preliminary report. [Epub ahead of print]. *N Engl J Med.* 2016.
18. Government of the State of Bahia. Alert for indeterminate and exanthema disease transmission risk of epidemics of dengue and chikungunya fever in the State of Bahia, June 4, 2015. Technical note [in Portuguese] [cited 2016 Mar 2]. http://www.suvisa.ba.gov.br/sites/default/files/doenca_transmissao_vetorial/arquivo/2015/05/14/NOTA_T%C3%89CNICA_02-2015_Doen%C3%A7a_Exantem%C3%A1tica_Indeterminada.pdf
19. Ministry of Health of Brazil. Information note N01/2015. COES microcephaly, 2015 [in Portuguese] [cited 2016 May 2]. <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/18/microcefalia-nota-informativa-17nov2015-c.pdf>
20. Ministry of Health of Brazil. Surveillance and response protocol for occurrence of microcephaly, 2016 [in Portuguese] [cited 2016 May 2]. <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/22/microcefalia-protocolo-de-vigilancia-e-resposta-v1-3-22jan2016.pdf>
21. Stata statistical software: release 14. College Station (TX): StataCorp LP; 2015 [cited 2016 Apr 27]. <http://www.stata.com/>
22. Diggle P. Time series: a biostatistical introduction. New York: Oxford University Press; 1990.

23. Kleber de Oliveira W, Cortez-Escalante J, De Oliveira WT, do Carmo GM, Henriques CM, Coelho GE, Increase in reported prevalence of microcephaly in infants born to women living in areas with confirmed Zika virus transmission during the first trimester of pregnancy—Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:242–7. [DOI PubMed](#)
24. Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Evrolle-Guignot D, Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–15: a retrospective study. *Lancet.* 2016;Mar 15:pil: S0104-6736(16)00651-6.
25. Reefhuis J, Gilboa SM, Johansson MA, Valencia D, Simeone RM, Hills SL, Projecting month of birth for at-risk infants after Zika virus disease outbreaks. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:828–32. [DOI PubMed](#)
26. Nah K, Mizumoto K, Miyamatsu Y, Yasuda Y, Kinoshita R, Nishiura H. Estimating risks of importation and local transmission of Zika virus infection. *PeerJ.* 2016;4:e1904.
27. Butler D. Zika virus: Brazil's surge in small-headed babies questioned by report. *Nature.* 2016;530:13–4. [DOI PubMed](#)
28. Cutler SJ, Fooks AR, van der Poel WH. Public health threat of new, reemerging, and neglected zoonoses in the industrialized world. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:1–7. [DOI PubMed](#)
29. Vazquez-Prokopec GM, Chaves LF, Ritchie SA, Davis J, Kitron U. Unforeseen costs of cutting mosquito surveillance budgets. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e858. [DOI PubMed](#)
30. Esack A, Teelucksingh S, Singh N. The Guillain-Barré syndrome following dengue fever. *West Indian Med J.* 1999;48:36–7. [PubMed](#)
31. Santos NQ, Azoubel AC, Lopes AA, Costa G, Bacellar A. Guillain-Barré syndrome in the course of dengue: case report. *Arq Neuropsiquiatr.* 2004;62:144–6. [DOI PubMed](#)
32. Lebrun G, Chadda K, Reboux A-H, Martinet O, Gaüzère B-A. Guillain-Barré syndrome after chikungunya infection. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:495–6. [DOI PubMed](#)
33. Oehler E, Fournier E, Leparco-Goffart I, Larre P, Cubizolle S, Sookhareea C, Increase in cases of Guillain-Barré

- syndrome during a chikungunya outbreak, French Polynesia, 2014 to 2015. *Euro Surveill.* 2015;20:30079. [DOI PubMed](#)
34. Gérardin P, Sampéris S, Ramful D, Boumahni B, Bintner M, Alessandri JL, Neuro cognitive outcome of children exposed to perinatal mother-to-child chikungunya virus infection: the CHIMERE cohort study on Reunion Island. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2996. [DOI PubMed](#)
 35. Fritel X, Rollot O, Gérardin P, Gauzere BA, Bideault J, Lagarde L, Chikungunya virus infection during pregnancy, Réunion, France, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:418–25. [DOI PubMed](#)
 36. Ministry of Health of Brazil. Epidemiological report N15. Epidemiological week (IF) 8/2016 (21 to 2/27/2016) monitoring cases of microcephaly in Brazil, 2016 [in Portuguese] [cited 2016 Mar 3]. <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/01/coes-microcefalia-informe-epid15-se08-2016-01mar2016.pdf>
 37. Cecatti JG, Guerra GVQL, Sousa MH, Menezes GM. Abortion in Brazil: a demographic approach [in Portuguese]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010;32:105–11. [DOI PubMed](#)
 38. Pan American Health Organization/World Health Organization. Cumulative Zika suspected and confirmed cases reported by countries and territories in the Americas, 2015–2016, Updated as of February 25, 2016, with data received by February 24, 2016 [cited 2016 Mar 2]. http://ais.paho.org/hip/viz/ed_zika_cases.asp
 39. Costa F, Sarno M, Khouri R, de Paulo Freitas B, Siqueira I, Ribeiro GS, Emergence of congenital Zika syndrome: viewpoint from the front lines. *Ann Intern Med.* 2016 Feb 24;

4. Artigo 3 - Distribuição espacial de dengue em uma comunidade urbana Salvador, 2009-2013

Paploski IAD¹, Rodrigues MS^{2,3}, Kikuti M¹, Kasper AM⁴, Queiroz TL¹, Lima HCAV², Silva MM², Cruz JS², Tavares AS², Ko AI⁵, Cunha GM⁶, Clennon JA⁷, Reis MG^{2,8}, Kitron U⁹, Ribeiro GS^{1,2}

1 – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Brasil; 2 – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil; 3 – Universidade Federal de Rondônia, Brasil; 4 – Centers for Disease Control and Prevention, Estados Unidos da América; 5 – Yale School of Public Health, Estados Unidos da América; 6 – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil; 7 – Rollins School of Public Health, Emory University, Estados Unidos da América; 8 – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Brasil; 9 – Department of Environmental Sciences, Emory University, Estados Unidos da América.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A dengue, a Zika e a chikungunya são arboviroses que tem o potencial de produzir grandes epidemias em ambientes urbanos. Apenas em 2015, mais de 1,5 milhão de casos de dengue foram notificados no país. A introdução de novos sorotipos virais da dengue ou de um novo vírus de tenha um modo de transmissão similar ao da dengue representam um desafio para a saúde pública. Apesar disso, não está claro se indivíduos residentes em áreas com grande ocorrência de casos de dengue no passado apresentam maior risco para a doença no caso da introdução de um novo sorotipo viral. **MÉTODOS:** Entre janeiro de 2009 e setembro de 2013, indivíduos com síndrome febril aguda assistidos em uma unidade de saúde e residentes no bairro de Pau da Lima foram recrutados e laboratorialmente testados para dengue por meio dos métodos ELISA NS1, ELISA IgM de amostra de fase aguda e convalescente da doença e RT-PCR. O local de residência dos participantes do estudo foi georreferenciado por meio de visitas domiciliares. A frequência de ocorrência de dengue dentre os indivíduos recrutados foi calculada para

cada mês da série temporal, sendo esta dividida em períodos de alta e baixa ocorrência de casos de dengue. O índice de auto correlação de Moran foi calculado para investigar por dependência espacial em escala global dos pontos de residência dos casos em cada um dos períodos do estudo. A incidência de dengue em cada período foi calculada usando como base populacional o número de residentes em cada setor censitário da área. A técnica de Getis G foi utilizada para identificar clusteres de setores censitários de alta ou baixa incidência. A técnica de Kulldorf foi utilizada para identificar clusteres espaço-temporais dos pontos de casos de dengue.

RESULTADOS: Foram incluídos no estudo 6.741 indivíduos com síndrome febril aguda, dos quais foram georreferenciados um total 5.504. Destes, 1.333 (24,2%) apresentaram evidência laboratorial de dengue. Foram identificados 7 períodos distintos de ocorrência de dengue, 3 de alta e 4 de baixa transmissão. O índice de Moran apenas identificou aglomerações globais em um período. O índice de Getis G identificou aglomerações locais de setores censitários com alta ou baixa incidência em todos os períodos. A análise de Kulldorf encontrou três aglomerações espaço-temporais de casos, duas em um momento de alta ocorrência de dengue causada pelo sorotipo 2, que estava em circulação há anos em Salvador, e a terceira aglomeração em um momento de alta ocorrência de dengue causada pelo sorotipo 4, que havia sido recentemente introduzido na cidade. Estes três clusteres ocorreram em locais distintos da área de estudo.

CONCLUSÕES: Em uma epidemia de dengue causada por um sorotipo recém introduzido, o risco da doença parece se distribuir de forma mais homogênea no espaço, enquanto que durante uma epidemia de dengue causada por um sorotipo já circulante, o risco da doença parece ser maior em áreas específicas do bairro. A susceptibilidade populacional à infecção pelos diferentes sorotipos, determinada pela intensidade de transmissão prévia do vírus na população de Salvador e diferenças na distribuição do mosquito vetor em diferentes períodos podem auxiliar a explicar este achado. Com a contínua ameaça de introdução de novos arbovírus no país, entender os determinantes da sua distribuição no ambiente urbano pode fornecer oportunidades para planejar e implementar medidas de controle.

INTRODUÇÃO

Os vírus da dengue, Zika e chikungunya são vírus que tem o potencial de produzir grandes epidemias em ambientes urbanos. Os ambientes urbanos são complexos, e sua formação é afetada por características históricas, políticas, econômicas e ambientais, muitas vezes tornando de difícil execução as intervenções necessárias para prevenir estas epidemias. Aliada à grande carga da doença nos países afetados, que sobrecarregam o sistema de saúde, além de causar danos às pessoas infectadas, é natural que estas doenças sejam consideradas prioridades de saúde pública nos países em que ocorrem.

Foi postulado que avanços científicos e tecnológicos conseguiriam controlar a ocorrência de doenças infecciosas (BURNET, 1962). Enquanto para diversas doenças a incidência de fato diminuiu, para outras, como a dengue e outras arboviroses, a incidência não apenas aumentou como a distribuição geográfica de ocorrência da doença se ampliou. A dengue é considerada como uma doença negligenciada, por receber investimentos insuficientes para seu controle, em parte devido às populações por ela afetadas serem marginalizadas dentro do contexto global (HORSTICK; TOZAN; WILDER-SMITH, 2015). Aliado à organização urbana, que produz aglomerações humanas periféricas, sem condições de infraestrutura sanitária apropriadas, surge um cenário favorável para a proliferação do principal mosquito vetor da dengue, o *Aedes aegypti*. Neste contexto, estudos epidemiológicos que visem descrever a ocorrência destas doenças nas populações mais afetadas são importantes, pois podem permitir identificar oportunidades de intervenção nem sempre óbvias.

No Brasil, o combate às arboviroses é feito primariamente por meio do Programa Nacional de Controle da Dengue, cujos objetivos envolvem efetuar o controle do *Aedes aegypti* por meio do fortalecimento da vigilância epidemiológica e entomológica, ao mesmo tempo em que aumenta a responsabilização de proprietários de residência pela manutenção do ambiente domiciliar livre de potenciais criadouros de mosquitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Uma das principais ações, a de combate a potenciais criadouros de mosquitos, é feita baseada na inspeção regular de residências e outras estruturas urbanas em busca de criadouros de

mosquitos. Quando identificados, estes são tratados ou eliminados, a depender do tipo de criadouro. Estas ações foram desenvolvidas baseadas no sucesso da campanha de combate à Febre Amarela, desenvolvida nas décadas de 1960 e 1970 (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014), cuja transmissão também se dá (entre outros) pelo mosquito *Aedes aegypti*. Porém, a realidade urbana brasileira se modificou nos últimos 30 anos, favorecendo o ciclo de vida deste mosquito no ambiente urbano.

Estas mudanças podem ser exemplificadas pelo aumento da densidade demográfica urbana, pela produção em massa de bens descartáveis que são eliminados no ambiente e à grande mobilidade populacional dentro e entre países, o que facilita a circulação e eventual introdução de diferentes sorotipos virais, ou mesmo de vírus novos (BARRETO et al., 2008). Como consequência, a partir da introdução do sorotipo 1 da dengue no Brasil, em 1986 (BRAGA; VALLE, 2007), todos os demais sorotipos foram introduzidos e se disseminaram por todo o país. O mesmo foi observado com outras arboviroses, como a Zika e a chikungunya (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2016).

A distribuição espacial de dengue já foi estudada em outros países do mundo. No Vietnã, identificou-se que áreas rurais podem contribuir tanto quanto zonas urbanas na disseminação da dengue no país (SCHMIDT et al., 2011). Em uma escala mais fina, um trabalho executado em Hanoi, Vietnã, identificou clusteres de casos de dengue que eram limitados à um raio de 1,000 metros, sugerindo que a ocorrência de dengue mesmo em um ambiente urbano é focal (TOAN et al., 2013). Ainda no Vietnã, um trabalho foi capaz de identificar agrupamento de casos de dengue ao redor de casas mesmo para infecções assintomáticas de dengue (THAI et al., 2010). Mesmo em Salvador, identificou-se que durante o ano de 1995, praticamente toda a cidade havia sido afetada por uma epidemia de dengue, mas que houve uma concentração de casos em porções com alta densidade populacional e habitações horizontais, em detrimento de áreas com grande número de habitações verticais (BARRETO et al., 2008). A distribuição espacial de dengue em uma cidade pode ser alterada em função do período de transmissão viral, é possível que em momentos de baixa transmissão o vírus seja mantido em lugares da cidade em que as condições sejam excepcionalmente favoráveis. Adicionalmente, a introdução de novos sorotipos virais pode alterar a distribuição espacial de dengue, pois a imunidade de grupo pode

ser menor a um novo sorotipo, alterando aonde estão localizados indivíduos suscetíveis à infecção. Apesar disso, estudos que explorem a distribuição espacial de dengue em fina escala no ambiente urbano brasileiro, indicando qual o tamanho destes clusteres e como se dá a variação dos mesmos em períodos de alta e baixa transmissão ainda são escassos.

Desta forma, a execução de estudos descritivos sobre a transmissão da dengue no ambiente urbano em fina escala é importante para produzir informações sobre que áreas são mais afetadas, sobre a variabilidade destas áreas em diferentes epidemias e entre momentos epidêmicos e não epidêmicos. Esse conhecimento pode ajudar no desenho de ações de intervenção que visem reduzir a ocorrência desta doença. Assim, o objetivo deste estudo é o de descrever a distribuição espacial de dengue em uma comunidade urbana carente de Salvador ao longo de 4 anos e meio, com foco especial na comparação da distribuição espacial dos casos de dengue entre duas epidemias subsequentes causadas por sorotipos distintos.

MÉTODOS

Indivíduos que buscaram atendimento médico no Centro de Saúde de São Marcos, em Pau da Lima, Salvador, entre janeiro de 2009 e setembro de 2013 por uma síndrome febril aguda, foram convidados a participar do estudo. O bairro de Pau da Lima compreende uma área onde residem aproximadamente 120.000 habitantes. Este apresentou um forte crescimento populacional a partir da década de 1960, sendo que este crescimento ocorreu de forma desordenada, propiciando a precária infraestrutura urbana existente no bairro. O bairro é caracterizado geograficamente por possuir vales com mais de 50 metros de diferença de profundidade em relação ao topo, sendo servido por poucas avenidas principais (cuja ocupação é majoritariamente comercial) das quais se desprendem diversas ruas e becos (cuja ocupação é majoritariamente residencial). Poucas construções são providas de sistema fechado de esgotamento sanitário, sendo os esgotos a céu aberto a principal forma de condução de resíduos sanitários para fora do bairro. Aproximadamente 70% da população residente no bairro possui renda igual ou menor ao salário mínimo brasileiro (IBGE, 2011). O bairro é servido por uma única unidade pública de pronto-atendimento médico, o Centro de Emergência de São Marcos.

Durante o período de estudo, todos os indivíduos com idade maior ou igual 5 anos de idade que buscaram atendimento por síndrome febril aguda em horário comercial (segunda a sexta-feira, das 07:30 às 16:30), e que residiam dentro uma área pré-determinada do bairro foram convidados a participar do estudo. Esta área foi delimitada com base em limites naturais do bairro (grandes avenidas e área inabitadas), e foi criada com a finalidade de restringir a vigilância da síndrome febril para residentes de uma região específica na qual nossa equipe teria maior probabilidade de executar satisfatoriamente o protocolo de pesquisa completo.

No momento de inclusão dos participantes, foi efetuada uma coleta de sangue na fase aguda da doença e foi pedido a todos os participantes que retornassem à unidade de saúde cerca de 15 dias após o recrutamento para coleta de uma amostra de sangue na fase convalescente. Caso o indivíduo não retornasse à unidade de saúde, a coleta de sangue da fase convalescente era realizada em visitas domiciliares às casas dos participantes. As amostras de sangue de fase aguda da doença foram testadas para dengue utilizando-se os métodos de ELISA IgM, ELISA NS1 e RT-PCR convencional para dengue. As amostras de sangue de fase convalescente da doença foram testadas para dengue utilizando-se o método do ELISA IgM. Foram considerados como casos de dengue os indivíduos que apresentaram resultado positivo em qualquer um dos testes realizados.

Foi tentado georreferenciar o ponto de residência de todos os indivíduos que foram recrutados para o estudo por meio de visitas domiciliares para obtenção das coordenadas geográficas utilizando-se um aparelho de posicionamento global (GPS). As análises espaciais foram executadas apenas para os indivíduos em que se conseguiu efetuar o georreferenciamento.

Curvas epidemiológicas foram construídas para investigar a ocorrência de agregação temporal dos casos de dengue. Baseado na mediana mensal de frequência de dengue entre os participantes do estudo, a série temporal foi dividida em períodos sequenciais de baixa e alta transmissão de dengue. Estes períodos foram classificados como epidêmicos se possuísem mais de 300 casos de dengue por 100.000 habitantes por ano e possuísem um formato de sino (aumento, pico e diminuição na frequência de casos de dengue nos meses de cada período) (BRADY et al., 2015; RIGAU-PÉREZ et al., 1999). Para identificar se havia auto correlação

espacial na distribuição de casos de dengue em cada um dos períodos de alta e baixa transmissão, o índice de auto correlação de Moran para diferentes distâncias (de 10 a 200 metros, em incrementos de 10 metros) foram calculados. A incidência de dengue por período de transmissão foi então calculada, usando como base populacional o número de residentes em cada setor censitário que compunha a área de estudo. A técnica de Getis G foi utilizada para identificar quais conjuntos de setores censitários continham uma incidência de dengue elevada ou diminuída em cada um dos períodos. Em seguida, a técnica de Kulldorf para busca de clusteres espaço temporais de pontos de casos de dengue foi utilizada. Foram construídos mapas de densidade de Kernel de casos de dengue pertencentes aos clusteres identificados pela técnica de Kulldorf.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo um total 6.741 indivíduos, dos quais 5.504 foram georreferenciados. Deste grupo, 1.333 (24,2%) apresentaram evidência laboratorial de dengue. A mediana mensal de frequência de dengue entre os indivíduos recrutados foi de 22%. Aplicando este ponto de corte para a classificação de períodos de alta e baixa transmissão da dengue, foram obtidos 7 períodos (4 de baixa e 3 de alta transmissão) (Figura 1A). A frequência de confirmação para dengue dentre recrutados e georreferenciados por período está exibido na Tabela 1. Dois destes períodos de alta transmissão de dengue foram classificados como epidemias de dengue: uma epidemia no ano de 2010, em que 94% dos casos de dengue identificados pertenciam ao sorotipo 2; e uma epidemia no ano de 2011, em que 90% dos casos de dengue identificados pertenciam ao sorotipo 4 (Figura 1B). Os períodos de alta transmissão de dengue coincidem com o verão/outono, período em que tradicionalmente se identificam mais casos de dengue no Brasil. Nos períodos de alta transmissão, 36% dos indivíduos recrutados tiveram evidência laboratorial de infecção pelo vírus da dengue, enquanto que esta frequência foi de 12% nos períodos de baixa transmissão.

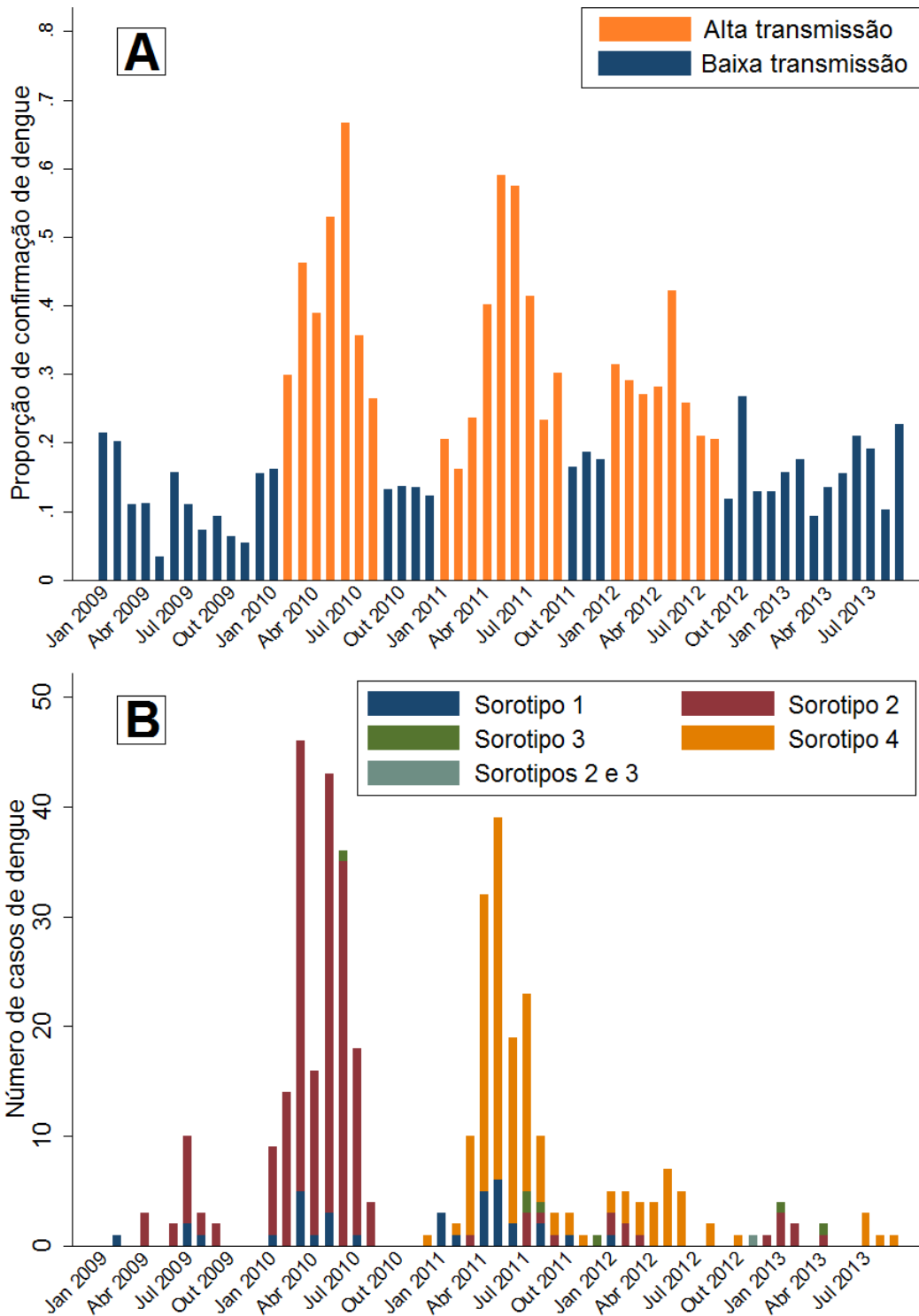


Figura 1A. Proporção de confirmação de dengue por mês. Em laranja, meses considerados de alta transmissão da doença. Em azul, meses considerados de baixa transmissão da doença. **Figura 1B.** Número de casos de dengue por sorotipo em cada mês do estudo.

O índice de auto correlação de Moran identificou aglomerações globais significativas para o momento epidêmico ocorrido no ano de 2010, independente das classes de distância para as quais o índice foi calculado. Nos demais períodos, o índice de auto correlação de Moran não conseguiu identificar aglomerações globais significativas. O índice de Getis G, que busca identificar aglomerações locais, foi capaz de identificar aglomerações de setores censitários com incidência de dengue elevada ou diminuída em todos os períodos (Figura 2). Entretanto, como a separação temporal do período de estudo foi feito em função da frequência de ocorrência de dengue entre os indivíduos recrutados, aglomerações de setores censitários com alta ou baixa incidência de dengue em diferentes períodos representam diferentes valores absolutos de incidência de dengue. Os achados do índice de Getis indicam que em determinadas áreas do bairro (que mudam de acordo com o período que se observa), alguns setores censitários tendem a ter como vizinhos setores censitários com incidência de dengue semelhante, formando assim bolsões de setores censitários com incidência elevada ou diminuída.

Tabela 1. Frequência de confirmação para dengue entre indivíduos recrutados e confirmados, por período.

Período	Recrutados	Confirmados para dengue (%)	Georreferenciados	Confirmados para dengue (%)
1	1.602	174 (10,9)	1.214	131 (10,8)
2	969	425 (43,9)	797	360 (45,2)
3	391	52 (13,3)	328	42 (12,8)
4	1.166	420 (36,0)	994	374 (37,6)
5	392	69 (17,6)	327	54 (16,5)
6	822	226 (27,5)	719	195 (27,1)
7	1.399	225 (16,1)	1.125	177 (15,7)
TOTAL	6.741	1.591 (23,6)	5.504	1.333 (24,2)

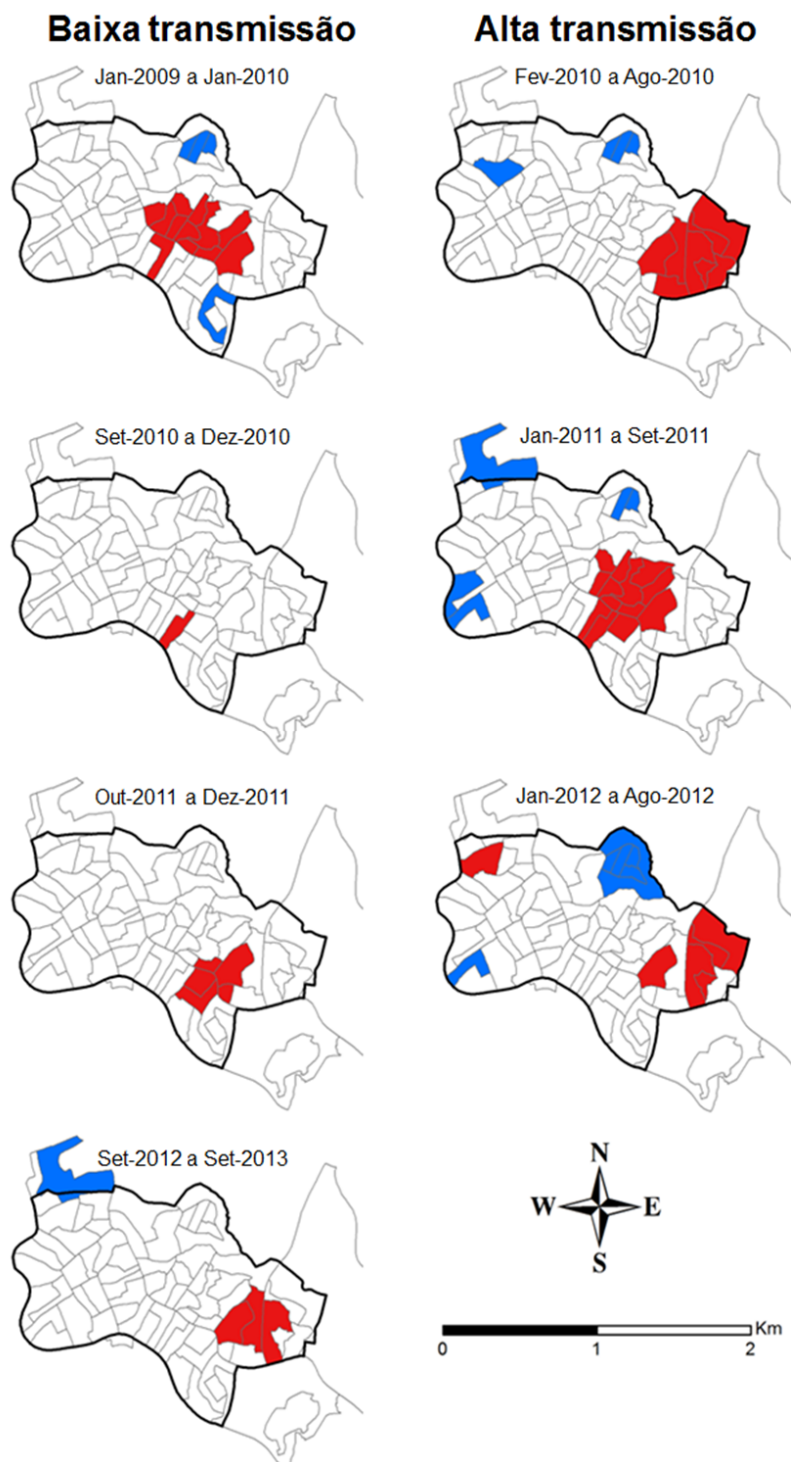


Figura 2. Setores censitários em cada período de transmissão de acordo o índice de Getis. Em vermelho, setores censitários cujos vizinhos em até 250 metros tem valores elevados de incidência de dengue; em azul, setores censitários cujos vizinhos em até 250 metros tem valores reduzidos de incidência de dengue (quando comparados com a área de vigilância inteira).

Na análise de Kulldorf, aglomerações espaço-temporais foram encontradas em três períodos distintos (Figura 3A). A primeira aglomeração ocorreu no período de 04 de dezembro de 2009 até 23 de fevereiro de 2010, onde um número excessivo de casos de dengue foi identificado na porção centro-oeste da área da vigilância, em uma área circular com diâmetro aproximado de 250 metros (Figura 3B). O período em que este cluster ocorreu corresponde ao início da epidemia de dengue pelo sorotipo 2 identificado na vigilância (Figura 1B). A segunda aglomeração ocorreu no período de 02 de março de 2010 até 05 de agosto de 2010 em uma área circular com diâmetro aproximado de 120 metros no leste da área de vigilância (Figura 3C). Este período corresponde ao pico e diminuição da epidemia de dengue pelo sorotipo 2 identificado na área da vigilância (Figura 1B). Por fim, a terceira aglomeração de casos ocorreu no período de 03 de março de 2011 até 11 de maio de 2011, na região central da área da vigilância (Figura 3D). Esta aglomeração foi a maior do ponto de vista de número de casos e de área em que a aglomeração foi identificada (um círculo com diâmetro aproximado de 500 metros). Este período corresponde ao pico da epidemia de dengue do sorotipo 4, ocorrida no ano de 2011 em Salvador (Figura 1B). O diferente tamanho dos clusteres identificados pela análise de Kulldorf sugere que as ações de intervenção possivelmente não devem necessariamente serem restritas a áreas com raios pré-determinados e que um acompanhamento de onde casos da doença estão ocorrendo pode fornecer informações úteis na eleição de áreas para execução de ações de intervenção.

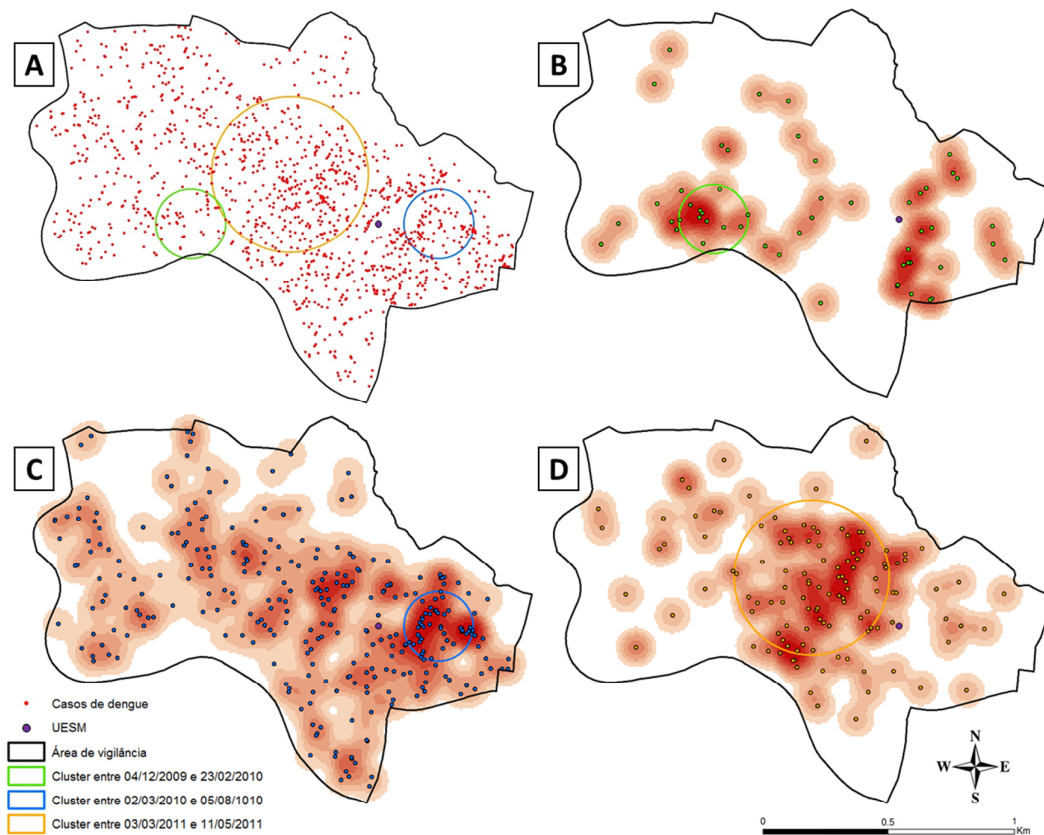


Figura 3 A. Clusters espaço-temporais da ocorrência de dengue em Pau da Lima, Salvador, entre 2009-2013, **B** cluster ocorrido entre 04/12/2009 e 23/02/2010, durante este período 10/54 (19%) casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster; **C** cluster ocorrido entre 02/03/2010 e 05/08/2010, durante este período 45/310 (15%) casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster; **D** cluster ocorrido entre 03/03/2011 e 11/05/2011, durante este período 66/123 (54%) dos casos de dengue ocorreram dentro da área do cluster.

DISCUSSÃO

Neste trabalho demonstramos que a distribuição espacial de casos de dengue em um bairro de Salvador não ocorre de forma completamente aleatória, já que foi possível detectar aglomerações espaço-temporais. Observamos que estas aglomerações espaço-temporais não ocorreram nos mesmos locais de um bairro em diferentes epidemias. Estes achados demonstram que a predição das áreas de uma cidade onde ocorrerão epidemias no futuro é complexa e que apenas observar onde

epidemias já ocorreram pode ser insuficiente. Ao mesmo tempo, este achado permite a elaboração de hipóteses que permitam melhor explorar a ocorrência desta doença, como por exemplo, quais determinantes espaciais alteram a distribuição espacial de casos de dengue? Qual o papel da imunidade de grupo para diferentes sorotipos de dengue em relação à que áreas da cidade serão epidêmicas no futuro? Outras arboviroses, como o Zika e a chikungunya, tem distribuição espacial similar à um sorotipo de dengue recém introduzido em uma determinada área?

Utilizando a técnica de Kulldorf ou de Getis G, encontramos aglomerações de casos ou de incidência de dengue na área sob vigilância mais próxima à unidade de saúde que utilizamos para identificar indivíduos com dengue. É possível que a mensuração da ocorrência de dengue baseada na testagem de indivíduos que voluntariamente busquem atendimento por uma síndrome febril esteja enviesada pela facilidade em buscar atendimento na unidade de saúde. A distância de deslocamento é um dos principais facilitadores na busca por atendimento em uma unidade de saúde (RAMOS; LIMA, 2003). Assim, é razoável supor que indivíduos residentes em locais próximos à unidade tenham maior probabilidade de buscar atendimento do que indivíduos residentes em locais mais distantes e por isso acabem sendo mais frequentemente diagnosticados com dengue, criando clusteres de caso em áreas próximas da unidade de saúde. Apesar disto, a observação de diferentes áreas classificadas como clusteres de casos próximas à emergência em diferentes momentos indica que mesmo em áreas com oportunidades de detecção a princípio similares (devido à proximidade com a unidade de saúde), a ocorrência de dengue não ocorre de forma simultânea, sugerindo que a observação dos clusteres de casos não seja um artefato da maior probabilidade de detecção dos casos lá residentes.

Os determinantes da distribuição de dengue no espaço são complexos, envolvendo características climáticas, vetoriais e também socioeconômicas ligadas à urbanização de um determinado local (LI; TAO; XU, 2013; VANWAMBEKE et al., 2006). O bairro em que realizamos este estudo, Pau da Lima, é um bairro periférico de Salvador e que possui limitações de infraestrutura geral, sendo a infraestrutura sanitária marcadamente precária. O fornecimento de água é irregular, o que obriga as pessoas a efetuarem armazenamento de água em casa (utilizando caixas de água, e menos frequentemente, barris e tonéis). O escoamento da água pluvial se dá por meio de vias de acesso que ligam a porção elevada ao fundo dos vales. A coleta de

lixo é feita apenas nas ruas principais do bairro, que correm na porção elevada do mesmo. Lixo e resíduos domésticos, mesmo quando conduzidos à parte elevada do bairro, acabam eventualmente acumulados nas porções baixas do mesmo, de onde não são retirados. O acúmulo de água em recipientes nas casas das pessoas, a ausência de coleta de lixo e o constante fluxo de água vindo das casas propicia inúmeras oportunidades para a proliferação de mosquitos adaptados ao ambiente urbano modificado pelo ser humano, favorecendo a transmissão de dengue e outras arboviroses.

Artigos que relatam uma maior ocorrência de dengue em locais com piores condições socioeconômicas são abundantes (COSTA; DONALISIO; SILVEIRA, 2013; KIKUTI et al., 2015; MONDINI; NETO, 2007, 2008), mas também há artigos que relatam maior ocorrência de dengue em locais com renda elevada (BARCELLOS et al., 2005). Essa aparente discrepância entre os achados pode ser devido a diferenças de definição entre o que é considerado como “condições socioeconômicas” por diferentes autores e a forma de detecção de casos de dengue em diferentes estudos. Embora as condições socioeconômicas de um determinado local possam servir como *proxy* para o risco da dengue, outras características, como a imunidade de grupo, características de deslocamento populacional e a abundância vetorial e a execução de atividades para seu controle podem alterar este risco. Características climáticas de um determinado local também podem alterar a disponibilidade de criadouros, inclusive a viabilidade dos mesmos, podendo influenciar a distribuição vetorial e consequente ocorrência da doença.

É possível que locais que recentemente foram afetados por uma epidemia de dengue apresentem uma população com menor proporção de indivíduos suscetíveis, o que pode dificultar a ocorrência de epidemias naquela localidade até que uma nova coorte de indivíduos suscetíveis seja formada (BARBOSA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2001). Este aspecto é de especial interesse para uma possível antecipação de locais onde a dengue pode ocorrer de forma mais intensa, pois caso não haja uma introdução de um novo sorotipo nem grandes mudanças populacionais, áreas que sofreram epidemias há pouco tempo devem ter um risco reduzido para novas epidemias. Infelizmente, a determinação da proporção da população residente em uma determinada área que é imune à dengue é pouco viável.

No que tange o deslocamento populacional, a dengue é tradicionalmente conhecida como uma doença cuja transmissão se dá no ambiente domiciliar ou em suas proximidades. Esta informação tem origem na limitação da distância com que mosquitos *Aedes aegypti* conseguem voar, frequentemente abaixo de 100 metros a partir do ponto em que eclodiram (GETIS et al., 2003; HARRINGTON et al., 2005; MUIR; KAY, 1998), e na presença de criadouros deste mosquito em ambientes domiciliares (EDILLO; ROBLE; OTERO, 2012; GETACHEW et al., 2015). Essas características podem ajudar a explicar a ocorrência de clusters de casos de dengue, mas não a dispersão em uma escala maior do vírus (como em uma cidade, estado ou país). Um estudo executado em Iquitos, Peru, demonstrou que a incidência de dengue é maior em casas que são visitadas por pessoas infectadas por dengue, sugerindo que a transmissão de dengue é modelada pelas conexões sociais das pessoas, especialmente por aquelas infectadas (STODDARD et al., 2013), incluindo possivelmente transmissões que ocorram em locais que pessoas visitem com frequência, como escolas, igrejas ou mesmo o trabalho. Isto pode auxiliar a entender como se dá a dispersão do vírus em uma escala maior, e como é possível que hajam clusters de casos em locais distintos ao longo do tempo. Adicionalmente, apesar de a distribuição de mosquitos *Aedes aegypti* ser altamente espacialmente limitada, ela sofre grandes variações temporais (LACON et al., 2014), o que pode se refletir em uma variação no risco de picadas de mosquitos (e conseqüentemente, de oportunidades de transmissão) em um determinado local ao longo do tempo. Estas características podem auxiliar a explicar a presença de clusters de casos de dengue que são variáveis no espaço e no tempo, como os identificados neste trabalho.

As ações preconizadas para estimativa da população vetorial em determinado ambiente no Brasil se referem à identificação da presença de criadouros por imóvel (FUNASA, 2002). Esta abordagem, porém, pode sofrer limitações relativas à variação na execução dos protocolos amostrais, conduzindo a uma maior variabilidade destes índices (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014). A busca por criadouros pode ser feita de forma mais extensiva em áreas internas ou externas das casas ou mesmo criadouros em áreas públicas podem sistematicamente não ser identificados (PAPLOSKI et al., 2016), potencialmente inserindo diversos tipos de vieses nestes índices. Adicionalmente, estes índices mensuram o estágio larval do mosquito, que não necessariamente funcionam como um bom estimador da população adulta de

mosquitos em um local (FOCKS, 2004). Estas características tornam estes índices limitados na mensuração do risco de ocorrência de dengue, e dificultam entender o quanto estas características influenciam a distribuição espaço temporal dos casos de dengue.

Por fim, é importante ressaltar que estes índices de abundância vetorial são coletados no Brasil com finalidade de acompanhamento das ações de controle, resultando em limitações na utilização dos mesmos para fins acadêmicos posteriores. A resolução da informação por vezes é grosseira, os limites geográficos utilizados para a execução das ações frequentemente são mal definidos e não correspondem a outros limitadores geográficos amplamente utilizados (setores censitários, por exemplo). Há uma necessidade urgente de se implantar uma lógica mais apropriada de coleta e organização destes dados para permitir uma melhor avaliação dos programas de controle ao mesmo tempo em que facilite a utilização destes dados para finalidades acadêmicas.

Neste trabalho, foram utilizados dados sobre a ocorrência de dengue obtidos a partir de um sistema de vigilância para síndrome febril aguda, na qual os indivíduos recrutados foram sistematicamente testados para dengue. Esta estratégia permite uma identificação de um número maior de casos de dengue do que se fossem utilizados apenas os indivíduos que são reportados como dengue por critérios clínicos, além de permitir um maior rigor na definição de caso utilizada. Em um trabalho realizado na mesma área, estimou-se que o número de casos de dengue identificados por este sistema de vigilância é cerca de 12 vezes maior do que pelos métodos de notificação de casos preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil (SILVA et al., 2016). A melhor detecção de casos possibilita também que sejam detectadas nuances de aglomeração de casos, tanto no espaço quanto no tempo. Trabalhos baseados em um sistema de vigilância como o que realizamos são importantes pois eles permitem uma melhor coleta dos dados e um maior refinamento analítico.

Durante a execução deste trabalho, conseguimos acompanhar a ocorrência de duas epidemias de dengue em Salvador, uma no ano de 2010, causada por um sorotipo já circulante na cidade (DENV2) e outra no ano de 2011, causada por um sorotipo recentemente introduzido no Brasil e em Salvador (DENV4). Enquanto que

a distribuição espacial dos casos de indivíduos infectados pelo DENV2 pode potencialmente ter sido impactada pela imunidade de grupo contra este sorotipo que se formou na população ao longo dos anos em que ele circulou na cidade, a distribuição espacial dos casos de DENV4 possivelmente foi menos impactada por uma imunidade pregressa na população. Desta forma, as observações feitas durante a epidemia de DENV4 possivelmente podem se repetir caso haja a introdução de novas arboviroses na cidade de Salvador. Os vírus Zika e chikungunya foram introduzidos na cidade de Salvador no ano de 2015 e estudos que reportem a distribuição espacial dos indivíduos infectados por estes vírus podem ser de grande valia quando comparados aos estudos da distribuição espacial de dengue, devido à similaridade de fatores de risco ambientais envolvidos na infecção por estes agentes. Adicionalmente, a ameaça de introdução de diferentes vírus continua (WEAVER; REISEN, 2010), e lições aprendidas com os eventos que já afetaram a cidade de Salvador podem ser de grande valia para a preparação e controle à futuras epidemias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, G. L. et al. Spatial Distribution of the Risk of Dengue and the Entomological Indicators in Sumaré, State of São Paulo, Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2873, 15 maio 2014.
- BARCELLOS, C. et al. Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento Identification of places with potential transmission of dengue fever in Porto Alegre using Geographical Information Systems. v. 38, n. 3, p. 246–250, 2005.
- BARRETO, F. R. et al. Spread pattern of the first dengue epidemic in the city of Salvador, Brazil. **BMC public health**, v. 8, p. 51, jan. 2008.
- BOWMAN, L. R.; RUNGE-RANZINGER, S.; MCCALL, P. J. Assessing the relationship between vector indices and dengue transmission: a systematic review of the evidence. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2848, maio 2014.
- BRADY, O. J. et al. Dengue disease outbreak definitions are implicitly variable. **Epidemics**, v. 11, p. 92–102, jun. 2015.

- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 133–118, 2007.
- BURNET, M. **Natural history of infectious disease**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1962.
- COSTA, J. V.; DONALISIO, M. R.; SILVEIRA, L. V. DE A. Spatial distribution of dengue incidence and socio-environmental conditions in Campinas, São Paulo State, Brazil, 2007. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, n. 8, p. 1522–1532, ago. 2013.
- EDILLO, F. E.; ROBLE, N. D.; OTERO, N. D. The key breeding sites by pupal survey for dengue mosquito vectors, *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse), in Guba, Cebu City, Philippines. **The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 43, n. 6, p. 1365–74, nov. 2012.
- FOCKS, D. A. **A review of Entomologica Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors**. Gainesville: UNICEF/UNDP/WORLD BANK/WHO, 2004.
- FUNASA. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- GETACHEW, D. et al. Breeding Sites of *Aedes aegypti* : Potential Dengue Vectors in Dire Dawa, East Ethiopia. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2015, p. 1–8, 2015.
- GETIS, A. et al. Characteristics of the spatial pattern of the dengue vector, *Aedes aegypti*, in Iquitos, Peru. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 69, n. 5, p. 494–505, nov. 2003.
- HARRINGTON, L. C. et al. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 72, n. 2, p. 209–20, fev. 2005.
- HORSTICK, O.; TOZAN, Y.; WILDER-SMITH, A. Reviewing Dengue: Still a Neglected Tropical Disease? **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 4, p. e0003632, 30 abr. 2015.
- IBGE. **Censo Demográfico 2010. Características da população e dos domicílios: resultados do universo**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de

Geografia e Estatística, 2011. Disponível em:

<http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm>.

KIKUTI, M. et al. Spatial Distribution of Dengue in a Brazilian Urban Slum Setting: Role of Socioeconomic Gradient in Disease Risk. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 7, p. e0003937, 21 jul. 2015.

LACON, G. et al. Shifting Patterns of Aedes aegypti Fine Scale Spatial Clustering in Iquitos, Peru. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, p. e3038, 7 ago. 2014.

LI, S.; TAO, H.; XU, Y. Abiotic determinants to the spatial dynamics of dengue fever in Guangzhou. **Asia-Pacific journal of public health**, v. 25, n. 3, p. 239–47, maio 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Levantamento Rápido de Índices para Aedes aegypti – LIRAA – para Vigilância Entomológica de Aedes aegypti no Brasil** Brasília - DF, Brazil Ministério da Saúde, , 2013. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_liraa_2013.pdf>

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Boletim Epidemiológico - Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016**. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<http://combateaedes.saude.gov.br/images/boletins-epidemiologicos/2016-Dengue_Zika_Chikungunya-SE52.pdf>.

MONDINI, A.; NETO, F. C. Variáveis socioeconômicas e a transmissão de dengue. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 6, p. 923–930, dez. 2007.

MONDINI, A.; NETO, F. C. Spatial correlation of incidence of dengue with socioeconomic, demographic and environmental variables in a Brazilian city. **The Science of the total environment**, v. 393, n. 2-3, p. 241–8, 15 abr. 2008.

MUIR, L. E.; KAY, B. H. Aedes aegypti survival and dispersal estimated by mark-release-recapture in northern Australia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 58, n. 3, p. 277–82, mar. 1998.

PAPLOSKI, I. A. D. et al. Storm drains as larval development and adult resting sites for Aedes aegypti and Aedes albopictus in Salvador, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 419, 27 dez. 2016.

RAMOS, D. D.; LIMA, M. A. D. DA S. Acesso e acolhimento aos usuários em uma unidade de saúde de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 27–34, fev. 2003.

RIGAU-PÉREZ, J. G. et al. A deviation bar chart for detecting dengue outbreaks in Puerto Rico. **American journal of public health**, v. 89, n. 3, p. 374–8, mar. 1999.

SCHMIDT, W.-P. et al. Population density, water supply, and the risk of dengue Fever in Vietnam: cohort study and spatial analysis. **PLoS medicine**, v. 8, n. 8, p. e1001082, ago. 2011.

SILVA, M. M. O. et al. Accuracy of Dengue Reporting by National Surveillance System, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 2, p. 336–339, fev. 2016.

STODDARD, S. T. et al. House-to-house human movement drives dengue virus transmission. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 3, p. 994–9, 15 jan. 2013.

TEIXEIRA, M. G. et al. Epidemiologia do dengue em Salvador - Bahia, 1995-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 269–274, 2001.

THAI, K. T. D. et al. Geographical heterogeneity of dengue transmission in two villages in southern Vietnam. **Epidemiology and Infection**, v. 138, n. 04, p. 585, 5 abr. 2010.

TOAN, D. T. T. et al. Hot spot detection and spatio-temporal dispersion of dengue fever in Hanoi, Vietnam. **Global health action**, v. 6, p. 18632, jan. 2013.

VANWAMBEKE, S. O. et al. Multi-level analyses of spatial and temporal determinants of dengue infection. **International Journal of Health Geographics**, v. 5, n. 1, p. 5, 2006.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and Future Arboviral Threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 1–36, 2010.

5. Artigo 4 - Associação entre características do ambiente domiciliar e a ocorrência de arboviroses em Salvador: um estudo de caso controle

Paploski IAD¹, Rodrigues MS²³, Mugabe VA¹, Souza RL², Kikuti M¹, Tauro LB²,
Moreira PSS⁴¹, Nascimento LCJ⁴¹, Roundy CM⁵, Weaver SC⁵, Kitron U⁶, Reis
MG²⁷, Ribeiro GS¹²

1 – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Brasil; 2 – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Brasil; 3 – Universidade Federal de Rondônia, Brasil; 4 – Faculdade de Biotecnologia, Universidade Federal da Bahia, Brasil; 5 – University of Texas Medical Branch, Estados Unidos da América; 6 – Department of Environmental Sciences, Emory University, Estados Unidos da América; 7 – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Brasil.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Diversas arboviroses são consideradas problemas de saúde pública no Brasil. A dengue, desde a década de 1980, e mais recentemente, em 2014 e 2015, chikungunya e Zika foram introduzidos em território nacional. Apesar de afetarem uma proporção considerável da população e de desfechos graves estarem associados à infecção por estes vírus, o controle das arboviroses permanece insuficiente. Uma melhor compreensão dos determinantes para a ocorrência destas doenças pode guiar a identificação de intervenções eficazes. O objetivo deste artigo é comparar características ambientais e indicadores entomológicos encontrados em casas de indivíduos com evidência laboratorial de infecção por dengue, Zika e chikungunya e em casas de indivíduos controle. **MÉTODOS:** Indivíduos com Síndrome Febril Aguda que buscaram atendimento em uma unidade de saúde da cidade de Salvador entre agosto de 2015 e julho de 2016 foram consecutivamente recrutados e testados para estas três arboviroses. Indivíduos com evidência laboratorial (via Teste Rápido para dengue) ou com artralgia ou exantema foram considerados como casos e tiveram suas casas visitadas em no máximo dois dias após a busca pelo atendimento. Uma entrevista domiciliar foi feita, além da busca por criadouros de mosquitos e instalação de armadilhas para captura de mosquitos. O mesmo protocolo foi executado em uma casa controle, localizada a até 50 metros da casa índice. As casas controle deveriam ter ausência de moradores com febre,

exantema, artralgia ou diagnóstico de dengue, Zika ou chikungunya nos 30 dias anteriores à visita. RESULTADOS: Foram recrutados 52 indivíduos casos, dos quais 19 (37%) receberam diagnóstico laboratorial de chikungunya e 20 (38%) de dengue. Nenhum indivíduo caso foi diagnosticado com Zika. A frequência com que foram encontradas indicadores entomológicos nas casas de indivíduos casos com diagnóstico de chikungunya ou dengue não foi estatisticamente diferente comparada às casas dos controles para nenhum dos indicadores estudado, embora *Aedes aegypti* tenham sido capturados mais frequentemente em casas de indivíduo com chikungunya (13/19, 68%) do que em seus controles (11/20, 55%). Do total de casas pesquisadas (104), mosquitos adultos da espécie *Aedes albopictus* foram encontrados dentro de apenas duas (2%) casas, contrastando com 51 (49%) casas em que foram encontrados mosquitos adultos *Aedes aegypti*. Foi tentado o isolamento viral de todos indivíduos diagnosticados com chikungunya ou dengue, sendo obtido apenas um isolamento do vírus chikungunya. Adicionalmente, foi tentado o isolamento viral dos mosquitos capturados nas casas, dos quais se obteve um isolado do vírus chikungunya de um mosquito *Aedes aegypti* fêmea capturado na casa de um indivíduo com confirmação de infecção por chikungunya, não havendo nenhum isolamento dos vírus da dengue ou Zika em mosquitos. Do total de casas investigadas, foram encontrados criadouros de *Aedes* spp. em cerca de 10% delas, enquanto *Aedes* spp. adultos foram encontradas em aproximadamente 50% das mesmas. Isso demonstra uma limitação de técnicas voltadas apenas para busca de larvas para mensuração do risco de transmissão de arboviroses. Os achados deste estudo sugerem que a espécie de mosquito provavelmente envolvida na transmissão destas três arboviroses em Salvador é a *Aedes aegypti*.

INTRODUÇÃO

As arboviroses são doenças transmitidas aos seres humanos por meio de vetores artrópodes. Mundialmente, estas doenças apresentam grande morbidade e mortalidade (VASILAKIS; TESH, 2015), sendo que várias destas são reportadas no Brasil, especialmente a dengue, que foi reintroduzida no Brasil na década de 1980. Mais recentemente, surtos de chikungunya (TEIXEIRA et al., 2015) e Zika (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015) foram identificados no Brasil.

A dengue, chikungunya e Zika são doenças transmitidas a seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*, primariamente pela espécie *Ae. aegypti*, altamente

adaptada ao ambiente urbano, e de forma secundária pela espécie *Ae. albopictus* (WEAVER; BARRETT, 2004). Os mosquitos da espécie *Ae. aegypti* se reproduzem de forma especialmente bem sucedida em ambientes urbanos onde o armazenamento de água para fins de consumo humano é rotineiro, a infraestrutura sanitária é precária e onde ocorre oferta de recipientes não biodegradáveis que permitem o acúmulo de água (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014).

O controle da dengue no Brasil é feito baseado na premissa de que índices de infestação vetorial (mensurados por métodos como o Índice de Breteau, o Índice de Infestação Predial, ou indicadores como o LIRAA) são capazes de prever a ocorrência de casos da doença e que casos podem ser prevenidos se ações de controle vetorial forem intensificadas nas áreas com altos índices de infestação. Entretanto, existem argumentos de que estes índices não são capazes de adequadamente identificar o risco de transmissão de arboviroses. Um trabalho executado na Austrália investigou 1.349 casas, das quais aproximadamente 5% tinham três ou mais contêineres com formas imaturas de *Aedes aegypti*. Isso representa pelo menos 200 criadouros existentes. Entretanto, apenas dois criadouros eram responsáveis por 28% das formas imaturas de insetos identificadas no estudo, levando os autores a proporem o conceito de “criadouro chave” (TUN-LIN; KAY; BARNES, 1995). Entretanto, os índices usados no Brasil desconsideram a existência destes tipos de “criadouro chave”. Além disso, estes índices não possuem mecanismos para corrigir a estimativa de risco para a ocorrência de arboviroses em função da imunidade de grupo ou de eventos climáticos extremos (como o El Niño, por exemplo) (FOCKS, 2004). De forma surpreendente, não existe uma relação matemática clara entre estes índices e a intensidade de transmissão de arboviroses (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014).

Assim, apesar destas doenças afetarem uma proporção considerável da população brasileira, e da possibilidade de ocorrência de desfechos graves, tais como hemorragias e óbitos por dengue (LUM et al., 2002), artralgias crônica devido à infecção por chikungunya (PIALOUX et al., 2007) e mesmo más-formações congênitas associadas à infecção pelo vírus Zika (COSTA et al., 2016; MLAKAR et al., 2016), o controle destas arboviroses continua insuficiente. A não compreensão de fatores determinantes para a ocorrência destas doenças dificulta a identificação de oportunidades para realização de intervenções eficazes, e em última análise, dificulta e limita o seu controle.

OBJETIVO

Comparar características ambientais e indicadores entomológicos encontrados em casas de indivíduos com evidência laboratorial de infecção por dengue, Zika e chikungunya com aquelas encontradas em casas de indivíduos controle.

MÉTODOS

SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES: Indivíduos que buscaram atendimento por síndrome febril aguda no Centro de Saúde de São Marcos, em Pau da Lima, em Salvador, foram convidados a participar do estudo. O bairro de Pau da Lima compreende uma área onde residem aproximadamente 120.000 habitantes. Este apresentou um forte crescimento populacional a partir da década de 1960, sendo que este crescimento ocorreu de forma desordenada, gerando uma precária infraestrutura urbana no bairro. O bairro é caracterizado geograficamente por possuir vales com mais de 50 metros de diferença de profundidade em relação ao topo, sendo servido por poucas avenidas principais (cuja ocupação é majoritariamente comercial) das quais se desprendem diversas ruas e becos (cuja ocupação é majoritariamente residencial). Poucas construções são providas de esgotamento sanitário adequado, sendo esgotos a céu aberto a principal forma de condução destes resíduos para fora do bairro. Aproximadamente 70% da população residente no bairro possui renda igual ou menor ao salário mínimo brasileiro (IBGE, 2011). O bairro é servido por uma única unidade de emergência médica pública no atendimento à saúde, o Centro de Emergência de São Marcos (CESM).

Entre os períodos de agosto de 2015 e julho de 2016, todos os indivíduos com idade maior ou igual a 6 meses que buscaram atendimento no CESM em horário comercial (segunda a sexta-feira, das 07:30 às 16:30) apresentando uma doença febril aguda foram convidados a participar do estudo.

DEFINIÇÃO DE CASO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS: Os indivíduos participantes deste estudo foram testados no momento da inclusão por um teste rápido para dengue (Standard Diagnostics BIOLINE Dengue Duo®), que executa testes NS1, IgM e IgG, por meio de reação imunocromatográfica em uma fita, sendo que o teste leva aproximadamente 15 minutos entre sua execução e leitura. Este teste permite a identificação de indivíduos com dengue no momento da inclusão.

Foram considerados como casos de dengue aqueles que testaram positivo para NS1 ou IgM no teste rápido no momento do atendimento. Adicionalmente, indivíduos que apresentavam síndrome exantemática não esclarecida foram considerados como indivíduos possivelmente infectados pelo vírus Zika. Por fim, indivíduos que apresentavam queixas de artralgia, edema de articulações ou artrite foram considerados como indivíduos possivelmente infectados pelo vírus chikungunya. Os indivíduos destes três grupos (teste rápido positivo para dengue, manifestação clínica compatível com Zika e manifestação clínica compatível com chikungunya) formaram um grupo de casos para um estudo de caso-controle. Todos os indivíduos que preenchiam estes critérios eram elencados para visita em um único dia, sendo incluídas apenas às casas dos indivíduos que se conseguiam localizar e até a conclusão das atividades diárias.

COLETA DE SANGUE PARA CONFIRMAÇÃO DIAGNÓSTICA

Os indivíduos que concordaram em participar do estudo foram incluídos e tiveram uma amostra de sangue da fase aguda da síndrome febril coletada para ser testada para dengue, Zika e chikungunya. Foi requisitado a todos os participantes do estudo que retornassem ao Centro de Emergência de São Marcos após 14 dias para coleta de amostra de sangue da fase convalescente da doença. Aqueles indivíduos que não retornaram ao Centro de Emergência foram visitados em suas casas para coleta de amostra da fase convalescente da doença.

CONFIRMAÇÃO DIAGNÓSTICA DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS: Além do uso de teste rápido para o diagnóstico de dengue nas amostras de sangue coletadas na fase aguda da doença, tais amostras foram testadas para dengue por meio dos testes ELISA NS1 e ELISA IgM, ambos fabricados pela empresa PanBio, e RT-PCR convencional (LANCIOTTI et al., 1992). Além disso, a mesma amostra de sangue também foi testada para chikungunya por meio de testes de ELISA IgM fabricado pela empresa EUROIMMUN e RT-PCR convencional (EDWARDS et al., 2007); e para Zika, por meio do teste de RT-PCR convencional (BALM et al., 2012). As amostras de sangue de fase convalescente da doença foram testadas apenas por ELISA IgM, tanto para dengue quanto para chikungunya.

Os componentes IgM e NS1 do teste rápido para dengue foram utilizados como um critério para seleção de indivíduos para execução do estudo de caso controle e

também como um critério de confirmação para dengue. Adicionalmente, também compuseram a definição de dengue aqueles que testaram positivo para ELISA NS1, ELISA IgM ou RT-PCR para dengue em qualquer uma das amostras de sangue de fase aguda ou convalescente da doença. Foram definidos como casos confirmados de chikungunya os indivíduos que testaram positivo no RT-PCR para chikungunya ou no ELISA IgM para chikungunya em qualquer uma das amostras de sangue de fase aguda ou convalescente da doença. Por fim, foram definidos como casos confirmados de Zika os indivíduos que testaram positivo no RT-PCR para Zika na amostra de fase aguda da doença.

SELEÇÃO DE CONTROLES PARA INQUÉRITO AMBIENTAL: Os indivíduos pertencentes ao grupo de casos suspeitos de arboviroses tiveram suas casas visitadas em até dois dias após sua inclusão no estudo para a realização de investigação ambiental e entomológica. Para cada caso, independente da doença suspeita, foi selecionada uma casa na vizinhança das casas dos casos suspeitos de infecção por arbovírus para servir como uma casa controle. A distância entre cada casa controle em relação à respectiva casa de caso deveria estar entre 15 metros e 50 metros. Adicionalmente, foram considerados como critérios de inclusão de casas de controle no estudo a ausência de moradores com queixa de febre, exantema ou artralgia no último mês; a existência de moradores da mesma faixa etária do que os residentes na casa do indivíduo caso (devendo existir moradores de 6 meses a 15 anos e maior de 15 anos na casa controle caso a casa do indivíduo caso possuísse residentes nestas faixas etárias) e o número de moradores similar à casa onde reside o indivíduo caso (um a dois, três a cinco, e seis ou mais moradores).

A inclusão dos primeiros três critérios teve como intuito diminuir a probabilidade de algum indivíduo residente em uma casa controle ter tido dengue, Zika ou chikungunya recentemente (ou, em outras palavras, para diminuir a probabilidade de algum residente de uma casa controle ser de fato um caso). A inclusão dos últimos dois critérios (relativos à idade e número de moradores na casa controle, respectivamente) se deveu ao fato de que a faixa etária afeta a probabilidade de infecção de um indivíduo (indivíduos jovens têm menor probabilidade de terem se infectado anteriormente e por isso estão sob maior risco de infecções do que pessoas com mais idade). De forma similar, a probabilidade de ocorrência de uma doença cuja transmissão se dá principalmente na área domiciliar em uma determinada pessoa é

função de diversas características, entre elas o número de moradores que residem na mesma casa (quanto mais moradores, maior o número de oportunidades de infecções). Assim, a inclusão destes dois critérios visa tornar as casas de caso e de controle comparáveis em características que influenciam a ocorrência de arboviroses, mas que não são objetos de estudo neste trabalho. Ao final, formou-se um grupo de casas de controle, que estavam pareadas no tempo e espaço às respectivas casas de indivíduos caso.

INQUÉRITO AMBIENTAL E ENTOMOLÓGICO: Uma investigação ambiental em busca de criadouros de mosquitos foi efetuada nas residências do grupo suspeito de caso e respectivas residências controle. Criadouros de mosquitos foram buscados visualmente no domicílio e peri-domicílio das residências. Foram registrados o número e tipo de potenciais criadouros de mosquitos (recipientes que propiciem o acúmulo de água), o número e tipo de recipientes com água e o número e tipo de recipientes que possuíam larvas de mosquitos em seu interior. As larvas encontradas nos criadouros foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Entomologia do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/BA para desenvolvimento à fase adulta e posterior identificação. A captura de mosquitos adultos no interior da casa foi efetuada utilizando um aspirador entomológico do tipo Prokopack (VAZQUEZ-PROKOPEC et al., 2009). Todos os cômodos das casas foram aspirados, totalizando aproximadamente 15 minutos de aspiração por casa. Todas as ações de captura de mosquitos foram executadas no período matutino. Os animais adultos capturados foram imediatamente refrigerados em caixa de transporte com gelo reciclável e foram enviados para o Laboratório de Entomologia da FIOCRUZ/BA para identificação, separação por espécie e sexo e congelamento a -80 graus Celsius. Por fim, armadilhas do tipo Ovitampa foram instaladas em todas as casas, em local sombreado e ao abrigo da chuva. Esta armadilha contém um atrativo natural de insetos em seu interior e uma superfície (palheta de madeira) que permite a ovoposição de insetos, em especial aqueles do gênero *Aedes*. Sete dias após a inclusão, todas as casas (tanto as de casos como de controles) foram revisitadas para remoção da Ovitampa. Este período para a remoção das armadilhas foi escolhido por ser menor do que o tempo necessário para eclosão de adultos em criadouros (LOPES et al., 2014), além de ser o prazo recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil quando da utilização destas armadilhas (BRASIL, 2001). Foram contabilizados

o número de ovos na palheta e o número de larvas presentes na água da armadilha, sendo as larvas de insetos encaminhadas ao laboratório entomológico da FIOCRUZ para desenvolvimento e eclosão dos mosquitos em sua forma adulta e congelamento. Todas as variáveis entomológicas coletadas durante a visita domiciliar (sejam observacionais ou obtidas através da utilização de armadilhas) foram utilizadas como variáveis de exposição nas análises deste estudo.

ISOLAMENTO VIRAL EM MOSQUITOS: Os mosquitos coletados em cada casa participante foram separados de acordo com seu sexo e espécie, sendo congelados a -80° Celsius. Os mosquitos foram então macerados e centrifugados, sendo o sobrenadante inoculado em células Vero e postos em cultura em estufa com umidade e temperatura controladas. A presença de vírus nas amostras foi avaliada através da observação de efeito citopático nas células Vero a partir do terceiro dia após a inoculação (ARMSTRONG et al., 2011). Em caso de observação de efeito citopático, o crescimento viral foi confirmado por meio da realização da técnica de RT-PCR.

ISOLAMENTO VIRAL EM AMOSTRAS DE SANGUE: Em caso de obtenção de algum resultado positivo no teste de RT-PCR convencional para qualquer um dos vírus, a amostra de sangue do indivíduo foi encaminhada para cultura viral em células de mosquito da linhagem C6/36. Alíquotas de soro foram inoculadas em garrafas com cultura, sendo então a garrafa incubada em estufa por 7 dias a 28 graus Celsius, sendo este processo chamado de “passagem celular”. Neste tipo de cultura celular não é possível observar efeito citopatogênico, sendo portanto o julgamento da presença viral no meio de cultura feito por meio da técnica de RT-PCR efetuada na terceira passagem celular.

PLANO DE ANÁLISE DOS DADOS: Os indivíduos recrutados no estudo foram descritos utilizando-se características demográficas, clínicas e laboratoriais calculando-se frequências absolutas e relativas. Para variáveis contínuas, os indivíduos foram descritos calculando-se a mediana e intervalo interquartílicos. As mesmas descrições foram feitas para o grupo de indivíduos positivos para chikungunya e para dengue, além dos indivíduos suspeitos de arboviroses, mas com investigação laboratorial negativa.

A frequência absoluta e relativa, ou mediana e intervalo interquartílicos, dos indicadores entomológicos também foram calculadas, para o grupo de indivíduos confirmados como casos de chikungunya e seus respectivos controles; e para o grupo de indivíduos confirmados como casos de dengue e seus respectivos controles. Estas frequências ou medianas foram comparadas entre os grupos de casos e controles utilizando-se o teste de qui-quadrado ou Kruskal-Wallis, conforme apropriado. Foi adotado como nível de significância o valor de $\alpha=0,05$.

RESULTADOS

CARACTERIZAÇÃO DOS CASOS: Durante o período de agosto de 2015 a julho de 2016, foram recrutados 382 indivíduos com síndrome febril aguda, dos quais 328 preenchem o critério de casos suspeitos de arboviroses. Destes, 52 foram incluídos no estudo, sendo 21 (40%) destes do sexo masculino. A idade mediana foi de 36,5 anos. Indivíduos que se identificavam como sendo das cores preta e parda compuseram 83% dos casos suspeitos. Frequências similares destas características foram encontradas comparando os grupos com e sem confirmação laboratorial, bem como para os indivíduos com dengue, chikungunya ou sem nenhuma evidência laboratorial de infecção. A distância média aproximada entre as casas de casos suspeitos e seus respectivos controle foi de 30 metros.

Dos 52 casos suspeitos de arboviroses, 19 (37%) tiveram um diagnóstico de chikungunya confirmado, sendo 6 devido à detecção viral por RT-PCR e 13 pela presença de anticorpos do tipo IgM nas amostras de sangue de fase aguda ou convalescente. Vinte indivíduos (38%) tiveram um diagnóstico de dengue confirmado, 3 por RT-PCR, 1 por detecção do antígeno NS1 por meio do teste rápido e os demais pela detecção de anticorpos IgM, detectados pelo teste rápido ou pelo teste ELISA. Nenhum dos casos suspeitos foi diagnosticado laboratorialmente como tendo infecção pelo vírus Zika. Em 22 indivíduos não conseguimos encontrar evidências de infecções recentes pelos arbovírus pesquisados.

Dentre o grupo classificado como casos confirmados de chikungunya, 9 (47%) indivíduos também apresentaram evidências de infecção por dengue. Um destes nove indivíduos apresentou RT-PCR positivo para dengue, os 8 demais indivíduos apresentaram evidências apenas sorológicas para infecção por dengue. Por sua vez, dentre o grupo classificado como casos confirmados de dengue, 9 (45%) indivíduos também apresentaram evidências de infecção por chikungunya. Em três destes

indivíduos a evidência de chikungunya encontrada foi o RT-PCR positivo, enquanto nos seis demais, esta evidência de infecção por chikungunya era apenas sorológica. A caracterização demográfica, clínica e laboratorial dos casos suspeitos de arboviroses, de acordo com a confirmação laboratorial está expressa na Tabela 1.

Cerca de 90% dos indivíduos recrutados apresentaram queixas de cefaleia, mialgia, artralgia e prostração no momento do recrutamento. A frequência de artralgia entre os indivíduos diagnosticados como tendo chikungunya foi de 100%. Nenhuma característica clínica esteve presente de forma marcante entre os indivíduos com dengue, enquanto que a frequência de indivíduos com exantema foi de 16% e 20% dentre os casos confirmados de chikungunya e dengue, respectivamente, porém de 50% entre os indivíduos sem diagnóstico laboratorial de arbovirose. Dos 52 indivíduos recrutados, 14 (29%) tinham queixas de artralgia e exantema simultaneamente e apenas 2 (4%) não tinham queixas nem de artralgia ou exantema. Entretanto, estes dois indivíduos sem queixa de artralgia ou exantema foram positivos no teste rápido de IgM para dengue.

Devido a não detecção de infecções causadas pelo vírus Zika nos indivíduos recrutados neste estudo, as análises subsequentes foram realizadas apenas para os indivíduos que foram diagnosticados como tendo uma infecção laboratorialmente confirmada pelos vírus chikungunya e dengue (e seus respectivos controles).

Tabela 1. Caracterização demográfica, clínica e laboratorial dos indivíduos caso recrutados no estudo, estratificados de acordo com o status laboratorial.

Características	Casos suspeitos de arboviroses (n=52)	Casos suspeitos de arbovirose		
		Com confirmação de chikungunya (n=19)	Com confirmação de dengue (n=20)	Sem confirmação laboratorial (n=22)
n (%) ou mediana (IIQ)				
Demográficas				
Sexo masculino	21 (40)	7 (37)	9 (45)	9 (40.9)
Idade (anos)	36.5 (21 - 44)	36 (19 - 47)	39.5 (27 - 58)	28.5 (20 - 40)
Cor preta ou parda	43 (83)	17 (89)	17 (85)	17 (77)
Última série completa				
Até 4a série do ensino fundamental	6 (12)	2 (11)	4 (20)	2 (10)
Até 8a série do ensino fundamental	15 (29)	9 (47)	8 (40)	2 (10)
Ensino médio	28 (55)	7 (37)	8 (40)	16 (76)
Ensino superior (incompleto)	2 (4)	1 (5)	0 (0)	1 (5)
Trabalho remunerado	33 (63)	13 (68)	11 (55)	14 (63)
Renda domiciliar mensal <i>per capita</i>	375 (247 - 533)	333 (220 - 500)	333 (225 - 446)	405 (249 - 533)
Clínicas				
Mialgia	48 (92)	18 (95)	19 (95)	20 (91)
Artralgia	48 (92)	19 (100)	18 (90)	20 (91)
Prostração	48 (92)	17 (89)	16 (80)	22 (100)
Cefaleia	46 (90)	17 (89)	17 (85)	20/21 (95)
Dor retro orbital	38 (75)	14 (74)	12/19 (63)	18 (82)
Exantema	16 (31)	3 (16)	4 (20)	11 (50)
Êmese	15 (29)	4 (21)	3 (15)	10 (45)
Laboratoriais				
Teste rápido dengue IgM positivo	11 (21)	3 (16)	11 (55)	0 (0)
Teste rápido dengue NS1 positivo	1 (2)	1 (5)	1 (5)	0 (0)
ELISA dengue IgM amostra aguda positivo	7/49 (14)	4/18 (22)	7 (35)	0/20 (0)
ELISA dengue IgM amostra convalescente positivo	5/27 (19)	3/12 (25)	5/13 (38)	0/10 (0)
ELISA dengue NS1 amostra aguda positivo	0/49 (0)	0/18 (0)	0 (0)	0/20 (0)
RT-PCR convencional dengue positivo	3/49 (6)	1/18 (6)	3 (15)	0/20 (0)
Definição de dengue*	20 (38)	9 (47)	20 (100)	0 (0)
ELISA chikungunya IgM amostra aguda positivo	8/50 (16)	8 (42)	3 (15)	0/20 (0)
ELISA chikungunya IgM amostra convalescente positivo	8/24 (33)	8/8 (100)	5/11 (45)	0/10 (0)
RT-PCR convencional chikungunya positivo	6/49 (12)	6/18 (33)	3 (15)	0/20 (0)
Definição de chikungunya**	19 (37)	19 (100)	9 (45)	0 (0)
RT-PCR convencional Zika positivo	0/49 (0)	0/18 (0)	0 (0)	0/20 (0)

*Teste rápido ou ELISA dengue NS1; teste rápido ou ELISA dengue IgM (amostra aguda ou convalescente); ou RT-PCR convencional positivo para dengue.

** ELISA+A1:E36 chikungunya IgM (amostra aguda ou convalescente) ou RT-PCR convencional positivo para Chikungunya

INQUÉRITO AMBIENTAL E ENTOMOLÓGICO: Devido à inclusão de 52 casos suspeitos de arboviroses, foram também incluídas 52 casas controles. A relação entre casos e controles foi de 1:1 em 50 conjuntos, 1:2 em um conjunto, e 1:0 em um conjunto. A investigação entomológica, com aspiração da casa por meio do aspirador tipo Prokopack e a busca por criadouros de mosquitos foi efetuada em todas as casas incluídas no estudo (52 casas de caso e 52 casas controle). As armadilhas do tipo Ovitampa foram instaladas em todas as casas, mas em apenas 84 delas (sendo 33 pares de casas casos e controle), a armadilha foi recuperada de forma intacta.

A frequência (e distribuições) dos indicadores entomológicos não foram estatisticamente diferentes entre os grupos de casos e controles, seja os casos sido diagnosticados com chikungunya ou com dengue (Tabela 2). Entretanto, a frequência com que foram capturados mosquitos adultos da espécie *Aedes aegypti* e a frequência com que os moradores relataram terem visto mosquitos em casa na última semana aparentou uma tendência de ser maior entre casos de chikungunya (68%) do que entre seus controles (55%). A frequência com que foram encontrados mosquitos do gênero *Culex* sp. foi menor nas casas dos indivíduos diagnosticados como casos de chikungunya ou dengue do que entre seus controles, embora essas diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. Em relação à composição de espécies de mosquitos do gênero *Aedes* encontrados dentro das casas dos indivíduos participantes do estudo, mosquitos da espécie *Aedes aegypti* foram encontrados em 51 casas no total (49% das casas investigadas), sendo esta frequência de 52% (27/52) entre as casas de indivíduos suspeitos de arboviroses e de 46% (24/52) entre as casas controle. Mosquitos da espécie *Aedes albopictus* foram encontrados apenas em duas casas. Na maioria das casas de indivíduo caso, sejam estes indivíduos tendo sido diagnosticados com chikungunya ou com dengue, a espécie de mosquito mais frequentemente encontrada dentro do gênero *Aedes* foi a *Aedes aegypti*.

Do total de casas onde a investigação entomológica foi realizada, foram encontrados criadouros com larvas de *Aedes* spp. em 10 (9,6%) casas. Dentre as casas de indivíduos suspeitos de arboviroses, foram encontrados criadouros com larvas de *Aedes* spp. em 7 (13,5%), e dentre as casas controles, foram encontrados criadouros com larvas de *Aedes* spp. em 3 (5,7%). Não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,18$) entre a presença de criadouros com larvas de *Aedes* spp. e o fato da casa ser caso ou controle.

Tabela 2. Comparação das características entomológicas domiciliares nos grupos de indivíduos casos que foram diagnosticados com chikungunya ou dengue e de seus respectivos controles.

Características entomológicas	19 casos de CHIKV	20 controles de CHIKV	Valor de p*	20 casos de DENV	20 controles de DENV	Valor de p*
	n (%) ou mediana (IIQ)			n (%) ou mediana (IIQ)		
Obtidas por meio de inspeção ambiental						
Número de recipientes com potencial para acúmulo de água	1 (0 - 3)	1 (0 - 2.5)	0.76	1 (0 - 2)	1.5 (0 - 4)	0.70
Número de recipientes com água	1 (0 - 2)	1 (0 - 2.5)	0.94	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	0.85
Número de recipientes com água e larvas	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0.94	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0.79
Obtidas por captura de adultos por aspiração						
Presença de <i>Aedes</i> spp. adultos	13 (68)	11 (55)	0.39	12 (60)	11 (55)	0.75
Presença de <i>Aedes aegypti</i> adultos	13 (68)	10 (50)	0.24	12 (60)	10 (50)	0.53
Presença de <i>Aedes albopictus</i> adultos	0 (0)	1 (5)	0.32	0 (0)	1 (5)	0.31
Presença de <i>Culex</i> spp.	8 (42)	11 (55)	0.42	8 (40)	12 (60)	0.21
Número de <i>Aedes</i> spp. adultos	1 (0 - 3)	1 (0 - 2.5)	0.51	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	0.90
Número de <i>Aedes aegypti</i>	1 (0 - 3)	0.5 (0 - 2.5)	0.34	1 (0 - 2)	0.5 (0 - 2)	0.67
Obtidas por meio de Ovitampas						
Presença de ovos	14/16 (88)	15/17 (88)	0.95	11/14 (78)	13/15 (87)	0.56
Presença de imaturos	14/16 (88)	15/17 (88)	0.95	12/14 (86)	14/15 (93)	0.50
Número de ovos	48 (9 - 107)	68 (9 - 142)	0.79	37.5 (1 - 85)	76 (6 - 174)	0.17
Número de imaturos	50 (21 - 116)	70 (20 - 153)	0.65	42.5 (3 - 88)	100 (8 - 221)	0.17
Obtidas por entrevista						
Caixa de água em casa	14 (74)	17 (85)	0.38	14 (70)	15 (75)	0.72
Acúmulo de água em vasos de plantas	0 (0)	0 (0)	-	1 (5)	0 (0)	0.31
Lixo no entorno da casa	6 (32)	6/19 (32)	0.99	9 (45)	11/19 (57.9)	0.42
Bocas de lobo no entorno da casa	7 (37)	8 (40)	0.84	9 (45)	8 (40)	0.75
Presença de mosquitos em casa na última semana	14 (74)	11 (55)	0.22	12 (60)	14 (70)	0.51

* Qui-quadrado (comparação de frequências) ou Kruskal-Wallis (comparação de distribuições)

Nas casas dos 52 indivíduos suspeitos de arboviroses recrutados e seus respectivos controles, foram aspirados um total de 134 mosquitos do gênero *Aedes*. Destes, 126 eram da espécie *Aedes aegypti*. Destes, 70 foram encontrados em casas de indivíduos suspeitos de arboviroses e 56 em casas de controles. Por sua vez, foram aspirados 8 mosquitos da espécie *Aedes albopictus*, sendo 6 em uma de um indivíduo suspeito de arbovirose e 2 em uma casa controle. O isolamento viral de arbovírus foi tentado de todos os mosquitos adultos capturados, sendo os mosquitos processados em *pools* (grupos) de acordo com o sexo, espécie e casa em que foram capturados. Desta forma, foram processados 53 *pools* de mosquitos, com número médio de mosquitos de 1,9 por *pool*. O maior número de mosquitos em um único *pool* foi 8, sendo o menor 1. Foi obtido um único isolamento viral, sendo este um exemplar do vírus chikungunya. O mosquito do qual se obteve este isolado era uma fêmea da espécie *Aedes aegypti* que havia sido capturada em uma casa de um indivíduo confirmado como chikungunya por meio de soroconversão de IgM entre as amostras de sangue de momento agudo e convalescente, sendo o RT-PCR convencional negativo. Não houve isolamento dos vírus da dengue ou Zika de nenhum dos *pools* de mosquitos.

DISCUSSÃO

Com a introdução e dispersão de diversos arbovírus no Brasil, como os vírus da dengue, Zika e chikungunya, a busca por características que estejam associadas à ocorrência de infecções por estes vírus se torna importante para tentar identificar áreas ou populações sob maior risco de ocorrência destas doenças, propiciando potencialmente oportunidades de intervenção. Este trabalho partiu da hipótese de que existem diferenças em indicadores entomológicos entre casas em que um residente buscou auxílio médico com queixas compatíveis com alguma arbovirose e casas de controles comunitários, onde ninguém tenha tido alguma doença compatível com arbovirose recentemente.

Neste trabalho, buscamos identificar se indicadores entomológicos são mais frequentemente presentes em casas de indivíduos que buscaram atendimento por uma síndrome febril aguda e que receberam diagnóstico de dengue, Zika ou chikungunya do que em casas controles. Todos os indicadores entomológicos pesquisados estavam presentes em frequência similar entre as casas de indivíduos

suspeitos ou confirmados com infecções por arboviroses e seus controles. Estes achados indicam que a identificação de fatores associados à ocorrência de arboviroses na população do bairro de Pau da Lima pode ser de difícil quando o grupo controle é similar ao grupo de casos. Apesar disto, demonstramos que a abundância de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* é maior nas casas dos indivíduos recrutados do que a do mosquito *Aedes albopictus*. Adicionalmente, conseguimos um isolado do vírus chikungunya a partir de um mosquito adulto aspirado na casa de um indivíduo confirmado como caso de chikungunya, o que sugere que o mosquito vetor desta arbovirose em Salvador é de fato o mosquito *Aedes aegypti*.

O bairro de Pau da Lima é uma área frequentemente acometida por arboviroses, tendo epidemias de dengue ocorrido em anos progressos no bairro. No ano de 2015, Salvador foi acometida por epidemias de Zika (CARDOSO et al., 2015) e de chikungunya (CARDOSO et al., 2017). Adicionalmente, infecções por Zika podem desencadear reações cruzadas com os testes sorológicos de dengue, inclusive aqueles da empresa PanBio, utilizados neste trabalho (FELIX et al., 2017; PRIYAMVADA et al., 2016). Estes dois fatores podem auxiliar a explicar o aparente grande número de indivíduos diagnosticados simultaneamente como chikungunya e dengue. Infelizmente, não há forma simples de se separar infecções agudas por Zika das de dengue, em especial em um contexto epidemiológico em que a circulação de outros flavivírus é intensa (PRIYAMVADA et al., 2016; VOROU, 2016), o que limita a determinação de infecções por Zika nesta população.

O teste rápido utilizado neste estudo como critério de inclusão para indivíduos suspeitos de arboviroses e como critério de confirmação para dengue tem sensibilidade geral reportada de 75,5% - 97,5% e especificidade de 91,3% - 100% em estudos com pacientes com suspeita clínica de dengue (OSORIO et al., 2015; TRICOU et al., 2010; VICKERS et al., 2015). Além disso, a detecção da proteína NS1 por testes rápidos passou a ser considerada pelo Ministério da Saúde como um critério para a confirmação de casos de dengue (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2013). A inclusão no estudo de pacientes positivos no NS1 ou IgM no teste rápido se deu na tentativa de aumentar a sensibilidade no recrutamento de indivíduos suspeitos de arboviroses. Entretanto, a OMS recomenda que os resultados de testes rápidos sejam interpretados com cautela, visto que geralmente apresentam acurácia menor que os exames de referência (WHO; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). Uma vez que aproximadamente metade dos casos de dengue foram

identificados pelo teste rápido, análises adicionais foram realizadas excluindo estes indivíduos e nenhuma alteração nos achados foi encontrada.

Neste estudo, encontramos criadouros com larvas de *Aedes* spp. em 10 (9,6%) casas investigadas. O Programa Nacional de Controle da Dengue no Brasil, programa responsável pelo controle do mosquito *Aedes aegypti*, vetor das principais arboviroses urbanas do Brasil, utiliza uma estratégia de vigilância baseada na inspeção de premissas para a identificação de potenciais criadouros de *Aedes aegypti*, procedendo com a eliminação ou tratamento do criadouro, conforme apropriado (TAUIL, 2002). Desde o ano de 2002, para mensurar o risco de uma epidemia de dengue em uma determinada área, o Brasil utiliza o Levantamento do Índice Rápido do *Aedes aegypti* (FUNASA, 2002), também conhecido pelo acrônimo LIRAA. Este índice é expresso pela proporção de premissas (construções) com criadouros de mosquito dentre uma amostra das premissas de uma determinada área. Pontos de corte foram criados em uma tentativa de simplificar a comunicação dos achados do índice. Se em uma determinada área o índice for menor do 1%, diz-se que esta área tem baixo risco para epidemias de dengue, entre 1 e 4% diz-se que a área tem risco moderado para epidemias de dengue, e acima de 4% diz-se que a área tem risco iminente de epidemias de dengue. A simples comparação entre a frequência com que foram achados criadouros nas casas deste projeto com índices utilizados no país, com o LIRAA, não é adequada devido ao recrutamento das casas ter sido guiado em torno da ocorrência de casos de síndrome febril aguda compatível com infecções por arbovírus. Isto pode inflar a proporção das casas com criadouros, simplesmente por efetuarmos a busca em locais onde os mesmos têm maior probabilidade de estarem presentes.

Entretanto, chama a atenção que em apenas cerca de 10% das casas investigadas tenham sido encontrados criadouros de *Aedes* spp., enquanto que mosquitos adultos da espécie *Aedes aegypti* foram encontrados em aproximadamente 50% do total de casas investigadas. Esse achado ressalta uma limitação de métodos que buscam por criadouros de mosquitos: os mesmos por vezes são de difícil identificação e classificam de forma similar criadouros com potenciais distintos (uma caixa de água que pode produzir centenas de mosquitos adultos por dia e um copo que pode produzir uma dezena de mosquitos em uma semana acabam ambos por fazer uma premissa se tornar positiva). Além disso, larvas de mosquitos não são a forma do vetor que efetua a transmissão das doenças de interesse humano.

Do ponto de vista de intervenções, a busca e eliminação por criadouros é adequada, porém do ponto de vista de indicador de risco para transmissão, a utilização de métodos de captura de mosquitos adultos no interior das residências aparenta ser capaz de melhor representar a quantidade de mosquitos em uma determinada área, e assim, ser capaz de melhor correlacionar com risco para doenças (BOWMAN; RUNGE-RANZINGER; MCCALL, 2014). Adicionalmente, a existência de criadouros de mosquitos de difícil identificação (criadouros crípticos, por exemplo) ou em áreas que não são investigadas durante as atividades tradicionais (como áreas públicas) também representam um desafio na estimação de risco para ocorrência de doenças baseado na identificação de criadouros. Em Salvador, recentemente foi identificado que bocas-de-lobo podem servir como local de repouso e proliferação de mosquitos *Aedes aegypti* (PAPLOSKI et al., 2016).

É possível que a existência dos quatro sorotipos da dengue, do vírus chikungunya e do vírus Zika em praticamente todo o território nacional seja um reflexo da nossa incapacidade de identificar e agir de forma adequada sobre os mosquitos vetores destas doenças, propiciando aos vírus amplas condições para sua propagação. Desta forma, são necessários estudos que visem estabelecer uma forma de vigilância entomológica que permitam melhor identificar o risco de ocorrência de arboviroses enquanto propicie oportunidades úteis de intervenção.

O fato de terem sido encontrados mosquitos *Aedes aegypti* em quase 70% das casas de casos com confirmação laboratorial de chikungunya, comparado com a não identificação do mosquito *Aedes albopictus* nas mesmas casas serve como um indicador de que o provável vetor do vírus chikungunya em Salvador é a espécie *Aedes aegypti*. Esta importante informação epidemiológica ajuda a compreender melhor o ciclo de transmissão da chikungunya no meio urbano brasileiro, principalmente no que diz respeito ao seu potencial principal vetor. Em outros lugares do mundo, como no sudeste asiático e em ilhas do oceano Índico, mosquitos da espécie *Aedes albopictus* são tidos como os principais transmissores da chikungunya (DELATTE et al., 2009; REITER; FONTENILLE; PAUPY, 2006; VAZEILLE et al., 2007). A obtenção do isolamento viral do vírus chikungunya a partir de um mosquito *Aedes aegypti* reforça a suspeição de que a transmissão de chikungunya em Salvador se dá por meio desta espécie de mosquito. A contínua busca por mosquitos que estejam infectados é importante, pois é possível que diferentes variantes virais, adaptadas à transmissão por diferentes mosquitos, acabem por se desenvolver

(STAPLEFORD et al., 2014), alterando o ciclo de transmissão que podem requerer ajustes nos programas de controle. Mecanismos que permitem o desenvolvimento destas adaptações já foram propostos (GRUBAUGH et al., 2016), embora estas adaptações tenham um impacto difícil de antever (STAPLEFORD et al., 2014).

O recrutamento de indivíduos com síndrome febril aguda com manifestações clínicas compatíveis com alguma infecção por arbovirose é necessário para executar um estudo como o aqui efetuado. Entretanto, mesmo Salvador sendo uma cidade com frequentes epidemias de arboviroses (CARDOSO et al., 2015; SILVA et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2001), aumentando a probabilidade de que em um determinado momento haja casos de alguma destas arboviroses na população, a probabilidade de um determinado indivíduo ter alguma arbovirose por vezes é baixa. Esta probabilidade é alterada por fatores como o período do ano (alta ou baixa transmissão), idade do indivíduo (devido a exposições pregressas) ou à existência e magnitude de outras doenças na população (por exemplo, gripes). Ainda assim, devido à estratégia escolhida neste trabalho (de incluir no estudo caso-controle indivíduos sem confirmação laboratorial de infecção por alguma arbovirose), em 42% dos casos suspeitos de arboviroses não foi possível chegar a alguma conclusão diagnóstica de uma infecção por arbovírus. Como a seleção dos controles foi pareada no espaço e tempo, a utilização deste grupo (indivíduos sem diagnóstico laboratorial e seus respectivos controles) em análises subsequentes fica limitada. Entretanto, a exclusão dos indivíduos suspeitos de infecção por arbovírus que não tiveram confirmação laboratorial e seus respectivos controles traz problemas no que tange a questão de significância estatística do estudo. Este cenário poderia ser diferente caso existisse a possibilidade de se testar indivíduos com síndrome febril aguda antes da execução das inspeções domiciliares. Esta estratégia, porém, demanda grandes esforços laboratoriais para se executar os testes em um curto espaço de tempo, pois a execução da investigação entomológica deve ser o mais próxima no tempo possível do momento de busca de atendimento pelo caso. Se o tempo for excessivamente grande, é possível que os resultados das inspeções domiciliares não sejam representativos do momento da infecção.

Os indivíduos residentes nas casas controles não foram testados sistematicamente para arboviroses em circulação em Salvador. Desta forma, é possível que os critérios de exclusão de controles não tenham conseguido capturar alguns eventos de infecções por arboviroses, dado que estes critérios eram clínicos.

Sabe-se que uma grande fração de indivíduos que se infectam com os mais diferentes agentes infecciosos não manifestam sinais clínicos, sendo então denominados de indivíduos com infecções assintomáticas ou subclínicas. É possível que a adoção de critérios clínicos para exclusão de casas controle tenha permitido que casas controle em que infecções assintomáticas ou subclínicas ocorreram tenham sido recrutadas como controles, dificultando a identificação de associação entre os índices entomológicos e a ocorrência de infecções. A testagem de todos indivíduos residentes em casas casos e controles potencialmente poderia diminuir este problema. Outra vantagem de tal abordagem seria de fornecer informações a respeito da imunidade de grupo existente em cada ambiente, que pode potencialmente influenciar de forma significativa a transmissão de arboviroses em determinado local.

A ausência de identificação de associações estatísticas com as exposições pesquisadas neste estudo pode ter decorrido em função do tamanho amostral, como já descrito. Entretanto, é possível também que os indivíduos de casas controle tenham sido recrutados de locais excessivamente similares aquele de onde os casos vieram, e situações de pareamento por local de residência podem introduzir uma situação de super-pareamento (*over matching*) (WACHOLDER et al., 1992). Estas situações ocorrem quando indivíduos são pareados por características relacionadas à fatores de risco para o evento de interesse (BLOOM; SCHISTERMAN; HEDIGER, 2007; VANDENBROUCKE et al., 2007). Obtém-se então grupos artificialmente similares, e possíveis associações entre exposições e desfecho tornam-se difíceis de serem identificadas. Neste estudo, as casas controle foram selecionadas em até dois dias após a ocorrência da febre no indivíduo que deu origem à investigação na casa caso (pareamento temporal), em uma distância entre 15 e 50 metros a partir da casa caso (pareamento espacial), cuja composição etária e de número de moradores fosse similar entre as casas caso e controle (pareamento demográfico). Embora o racional para tais pareamentos fosse de garantir que as diferenças entomológicas eventualmente encontradas entre as casas participantes não estivessem confundidas por estas características, estas ações podem ter forçado uma similaridade excessiva entre as casas caso e controle.

A escolha de se efetuar a investigação entomológica nas casas recrutadas em no máximo 2 dias após o surgimento da febre no indivíduo suspeito de arbovirose visou capturar a realidade entomológica mais próxima possível do momento da febre. Este protocolo restringiu os indivíduos que puderam ser visitados a cada dia de

atividades, porém garantiu que não se inserisse variações temporais muito grandes quando da execução dos indicadores entomológicos.

Cerca de 70% dos mosquitos adultos do gênero *Aedes*, quando soltos em residências, são capturados a até cerca de 50 metros do ponto de soltura em quatro dias após a soltura (HARRINGTON et al., 2005). Um outro estudo encontrou que mosquitos da espécie *Aedes vexans* voaram em média 100 metros após o ponto em que eles se alimentaram de sangue (GREENBERG et al., 2012). Uma revisão bibliográfica, por sua vez, indica que a distância média de voo de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* mensurada em estudos de captura-recaptura é de cerca de 85 metros (VERDONSCHOT; BESSE-LOTOTSKAYA, 2014). Estes estudos indicam, de maneira consensual, que a distância média com que mosquitos do gênero *Aedes* são capazes de voar é reduzida. Aliado à existência dos “criadouros chaves” (contêineres específicos que são responsáveis por uma grande proporção dos mosquitos identificados em uma área) (TUN-LIN; KAY; BARNES, 1995), é razoável assumir que em uma área como a que foi executada este estudo, diversos criadouros existam e que estes influenciem a quantidade de mosquitos presentes em cerca de 50 a 100 metros a partir do criadouro. Apesar disso, o comportamento alimentar de mosquitos do gênero *Aedes*, especialmente da espécie *Aedes aegypti*, envolve efetuar a alimentação em diversos hospedeiros (HARRINGTON et al., 2014), no que se chama de “alimentação em saltos”, o que pode aumentar a frequência de exposição de indivíduos à eventos de infecção em uma área relativamente restrita de um bairro ou cidade.

A seleção de casas controles que estivessem localizadas a no máximo 50 metros a partir da casa caso visou tentar capturar um eventual decréscimo no número de mosquitos a partir da casa caso (assumindo que na casa caso existisse algum criadouro-chave) com o aumento da distância. Porém, em um cenário urbano como o da periferia de Salvador, o aumento da distância a partir de um determinado ponto representa um aumento no número de casas (e possivelmente, de criadouros) que também podem existir. Este equilíbrio entre recrutar uma casa controle longe o suficiente da casa caso para capturar o decréscimo no número de mosquitos (caso ele exista) sem, no entanto, incluir mosquitos oriundos de outros criadouros é difícil de alcançar. É possível que a distância máxima de 50 metros entre casas de casos e de controles tenha ocasionado que casas próximas demais fossem recrutadas, dificultando a observação da diminuição no número de mosquitos com o aumento da

distância a partir da casa caso. A utilização de controles espacialmente aleatorizados potencialmente diminuiria o problema de super-pareamento por proximidade excessiva entre casas de casos e controles. Entretanto, como comentado anteriormente, existe a possibilidade de que, em um cenário de grande abundância vetorial, como em Salvador, uma potencial casa controle esteja localizada próxima a outros criadouros de mosquito, dificultando a identificação de diferenças no número de mosquitos entre casas de casos e controles.

A proposta inicial deste projeto consistia em recrutar casas de controle em diferentes distâncias a partir da casa do caso (25, 50, 75 e 100 metros). Esse desenho permitiria visualizar um gradiente no decréscimo de mosquitos a partir da casa do caso com o aumento da distância, caso este decréscimo existisse. Infelizmente, o protocolo de investigação entomológica, aliado ao deslocamento, busca de indivíduos casos e seleção de controles consumiram um tempo maior do que o esperado quando do planejamento deste projeto. Em poucas ocasiões foi possível recrutar mais do que 2 duas casas (uma casa de um indivíduo suspeito de arbovirose e seu controle) em um único dia de atividades. O recrutamento de casas controles em diferentes distâncias a partir da casa caso não foi possível devido à logística, com o protocolo utilizado no presente estudo.

Por fim, é possível que indicadores entomológicos domiciliares estejam associados com a ocorrência de infecções por arboviroses de forma muito fugaz. A complexidade do ambiente urbano, o grande número de ambientes visitados pelas pessoas, o deslocamento populacional, fruto da necessidade de trabalho, educação e lazer, expõe as pessoas a inúmeros ambientes que potencialmente podem favorecer a ocorrência de infecções. Restringir a busca de associações entre infecções e indicadores entomológicos domiciliares pode ser uma simplificação excessiva desta relação, impossibilitando que se identifique associações. A inclusão de elementos que mensurem potenciais exposições sem ser no ambiente domiciliar como potenciais confundidores podem potencialmente auxiliar a elucidar a relação de indicadores entomológicos domiciliares com a ocorrência de infecções.

Neste trabalho, apenas foram aspiradas em busca de mosquitos as partes internas das casas, embora a busca por criadouros de mosquitos tenha sido estendida ao peri-domicílio. Diferentes espécies de mosquitos têm diferentes preferências ecológicas, e é possível que se encontre mais espécies de mosquitos na parte externa das casas do que na parte interna. Desta forma, sugere-se que até que

seja melhor esclarecido o papel das diferentes espécies de mosquitos urbanos na transmissão das arboviroses emergentes no Brasil, uma abordagem mais ampla, que vise coletar informações variadas e investigar diversas hipóteses seja adotada. Raciocínio similar pode ser feito para a instalação de armadilhas do tipo Ovitampa. Neste estudo, elas foram instaladas do lado externo das casas, sempre que possível. A razão para tal se deve ao odor desagradável que a armadilha exala. Entretanto, informações interessantes poderiam ter sido obtidas caso esta armadilha também houvesse sido instalada na parte interna das casas. Sugere-se que em trabalhos subsequentes a busca por mosquitos via aspiração e a instalação de armadilhas como a Ovitampa seja feita tanto na parte interna como externa das casas, com modificações no atrativo utilizado para evitar o mau odor característico desta armadilha.

REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG, P. M. et al. Detection of Infectious Virus from Field-collected Mosquitoes by Vero Cell Culture Assay. **Journal of Visualized Experiments**, n. 52, 9 jun. 2011.
- BALM, M. N. D. et al. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. **Journal of medical virology**, v. 84, n. 9, p. 1501–5, set. 2012.
- BLOOM, M. S.; SCHISTERMAN, E. F.; HEDIGER, M. L. The use and misuse of matching in case-control studies: the example of polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, v. 88, n. 3, p. 707–710, set. 2007.
- BOWMAN, L. R.; RUNGE-RANZINGER, S.; MCCALL, P. J. Assessing the relationship between vector indices and dengue transmission: a systematic review of the evidence. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 5, p. e2848, maio 2014.
- BRASIL. **Dengue: Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor - Manual de Normas Técnicas** Brasília Fundação Nacional de Saúde, , 2001. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf>
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, out. 2015.
- CARDOSO, C. W. et al. Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 12, p. 2274–2276, dez. 2015.
- CARDOSO, C. W. et al. Unrecognized Emergence of Chikungunya Virus during a

Zika Virus Outbreak in Salvador, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 1, p. e0005334, 23 jan. 2017.

COSTA, F. et al. Emergence of Congenital Zika Syndrome: Viewpoint From the Front Lines. **Annals of Internal Medicine**, 24 fev. 2016.

DELATTE, H. et al. Influence of Temperature on Immature Development, Survival, Longevity, Fecundity, and Gonotrophic Cycles of *Aedes albopictus*, Vector of Chikungunya and Dengue in the Indian Ocean. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 1, p. 33–41, 1 jan. 2009.

EDWARDS, C. J. et al. Molecular diagnosis and analysis of Chikungunya virus. **Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 39, n. 4, p. 271–5, ago. 2007.

FELIX, A. C. et al. Cross reactivity of commercial anti-dengue immunoassays in patients with acute Zika virus infection. **Journal of Medical Virology**, mar. 2017.

FOCKS, D. **A REVIEW OF ENTOMOLOGICAL SAMPLING METHODS AND INDICATORS FOR DENGUE VECTORS**. Gainsville: UNICEF/UNDP/WORLD

BANK/WHO, 2004. Disponível em:

<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68575/1/TDR_IDE_DEN_03.1.pdf>.

FUNASA. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

GREENBERG, J. A. et al. Analysis of post-blood meal flight distances in mosquitoes utilizing zoo animal blood meals. **Journal of Vector Ecology**, v. 37, n. 1, p. 83–89, jun. 2012.

GRUBAUGH, N. D. et al. Genetic Drift during Systemic Arbovirus Infection of Mosquito Vectors Leads to Decreased Relative Fitness during Host Switching. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 4, p. 481–492, abr. 2016.

HARRINGTON, L. C. et al. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 72, n. 2, p. 209–20, fev. 2005.

HARRINGTON, L. C. et al. Heterogeneous Feeding Patterns of the Dengue Vector, *Aedes aegypti*, on Individual Human Hosts in Rural Thailand. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, p. e3048, 7 ago. 2014.

IBGE. **Censo Demográfico 2010. Características da população e dos domicílios: resultados do universo**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. Disponível em:

<http://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm>.

LANCIOTTI, R. S. et al. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **Journal of clinical microbiology**, v. 30, n. 3, p. 545–51, mar. 1992.

LOPES, T. F. et al. Laboratory evaluation of the development of *Aedes aegypti* in two seasons: influence of different places and different densities. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 5, p. 369–374, set. 2014.

LUM, L. C. S. et al. Risk factors for hemorrhage in severe dengue infections. **The Journal of Pediatrics**, v. 140, n. 5, p. 629–631, maio 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Nova classificação de caso de dengue - OMSSINAN Dengue Online**. Disponível em:

<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/novo/Download/Nova_classificacao_de_caso_de_dengue_OMS.pdf>.

MLAKAR, J. et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 10, p. 951–958, 10 mar. 2016.

OSORIO, L. et al. The use of rapid dengue diagnostic tests in a routine clinical setting in a dengue-endemic area of Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 510–516, jun. 2015.

PAPLOSKI, I. A. D. et al. Storm drains as larval development and adult resting sites for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Salvador, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 419, 27 dez. 2016.

PIALOUX, G. et al. **Chikungunya, an epidemic arbovirois** **Lancet Infectious Diseases**, 2007.

PRIYAMVADA, L. et al. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 28, p. 7852–7857, 12 jul. 2016.

REITER, P.; FONTENILLE, D.; PAUPY, C. *Aedes albopictus* as an epidemic vector of chikungunya virus: another emerging problem? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 6, n. 8, p. 463–464, ago. 2006.

SILVA, M. M. O. et al. Accuracy of Dengue Reporting by National Surveillance System, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 2, p. 336–339, fev. 2016.

STAPLEFORD, K. A. et al. Emergence and Transmission of Arbovirus Evolutionary Intermediates with Epidemic Potential. **Cell Host & Microbe**, v. 15, n. 6, p. 706–716, jun. 2014.

TAUIL, P. L. Critical aspects of dengue control in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867–871, 2002.

TEIXEIRA, M. G. et al. Epidemiologia do dengue em Salvador - Bahia, 1995-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 269–274, 2001.

TEIXEIRA, M. G. et al. East/Central/South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 5, 2015.

TRICOU, V. et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 1, p. 142, 28 dez. 2010.

TUN-LIN, W.; KAY, B. H.; BARNES, A. Understanding productivity, a key to *Aedes aegypti* surveillance. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 6, p. 595–601, 1995.

VANDENBROUCKE, J. P. et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. **PLoS Medicine**, v. 4, n. 10, p. e297, 16 out. 2007.

VASILAKIS, N.; TESH, R. B. Insect-specific viruses and their potential impact on arbovirus transmission. **Current Opinion in Virology**, v. 15, p. 69–74, dez. 2015.

VAZEILLE, M. et al. Two Chikungunya Isolates from the Outbreak of La Reunion (Indian Ocean) Exhibit Different Patterns of Infection in the Mosquito, *Aedes albopictus*. **PLoS ONE**, v. 2, n. 11, p. e1168, 14 nov. 2007.

VAZQUEZ-PROKOPEC, G. M. et al. A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. **Journal of medical entomology**, v. 46, n. 6, p. 1256–1259, 2009.

VERDONSCHOT, P. F. M.; BESSE-LOTOTSKAYA, A. A. Flight distance of mosquitoes (Culicidae): A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. **Limnologia - Ecology and Management of Inland Waters**, v. 45, p. 69–79, mar. 2014.

VICKERS, I. E. et al. The performance of the SD BIOLINE Dengue DUO® rapid immunochromatographic test kit for the detection of NS1 antigen, IgM and IgG antibodies during a dengue type 1 epidemic in Jamaica. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, n. 1, p. 55, 16 dez. 2015.

VOROU, R. Letter to the editor: diagnostic challenges to be considered regarding Zika virus in the context of the presence of the vector *Aedes albopictus* in Europe.

Eurosurveillance, v. 21, n. 10, p. 30161, 10 mar. 2016.

WACHOLDER, S. et al. Selection of controls in case-control studies. I. Principles.

American journal of epidemiology, v. 135, n. 9, p. 1019–28, 1 maio 1992.

WEAVER, S. C.; BARRETT, A. D. T. Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. **Nature reviews. Microbiology**, v. 2, n. 10, p. 789–801, 2004.

WHO; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control**. Geneva: World Health Organization, 2009.

6. Artigo 5 - Storm drains as larval development and adult resting sites for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Salvador, Brazil

Publicado em: Paploski IAD, Rodrigues MS, Mugabe VA, et al. Storm drains as larval development and adult resting sites for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Salvador, Brazil. *Parasites & Vectors*. 2016;9:419. doi:10.1186/s13071-016-1705-0.

Igor Adolfo Dexheimer Paploski,^{1,2} Moreno S. Rodrigues,^{1,2} Vánio André Mugabe,^{1,2,3} Mariana Kikuti,^{1,2} Aline S. Tavares,¹ Mitermayer Galvão Reis,^{1,4} Uriel Kitron,^{1,5} and Guilherme Sousa Ribeiro corresponding author^{1,2}

1 Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, Salvador, BA, Brazil. 2 Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil. 3 Universidade Pedagógica de Quelimane, Quelimane, ZB, Mozambique. 4 Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brazil. 5 Emory University, Atlanta, GE, USA.

Abstract

Background: Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV), Zika (ZIKV), as well as yellow fever (YFV) viruses are transmitted to humans by *Aedes* spp. females. In Salvador, the largest urban center in north-eastern Brazil, the four DENV types have been circulating, and more recently, CHIKV and ZIKV have also become common. We studied the role of storm drains as *Aedes* larval development and adult resting sites in four neighbourhoods of Salvador, representing different socioeconomic, infrastructure and topographic conditions. Results: A sample of 122 storm drains in the four study sites were surveyed twice during a 4-month period in 2015; in 49.0 % of the visits, the storm drains contained water. Adults and immatures of *Aedes aegypti* were captured in two of the four sites, and adults and immatures of *Aedes albopictus* were captured in one of these two sites. A total of 468 specimens were collected: 148 *Ae. aegypti* (38 adults and 110 immatures), 79 *Ae. albopictus* (48 adults and 31 immatures), and 241 non-*Aedes* (mainly *Culex* spp.) mosquitoes (42 adults and 199 immatures). The

presence of adults or immatures of *Ae. aegypti* in storm drains was independently associated with the presence of non-*Aedes* mosquitoes and with rainfall of ≤ 50 mm during the preceding week. Conclusions: We found that in Salvador, one of the epicentres of the 2015 ZIKV outbreak, storm drains often accumulate water and serve as larval development sites and adult resting areas for both *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. Vector control campaigns usually overlook storm drains, as most of the effort to prevent *Ae. aegypti* reproduction is directed towards containers in the domicile environment. While further studies are needed to determine the added contribution of storm drains for the maintenance of *Aedes* spp. populations, we advocate that vector control programs incorporate actions directed at storm drains, including regular inspections and use of larvicides, and that human and capital resources are mobilized to modify storm drains, so that they do not serve as larval development sites for *Aedes* (and other) mosquitoes.

Keywords: Epidemiology, Entomology, Arboviruses, Insect vectors, Disease vectors

Background

Arboviruses are a major and growing public health threat. Globally, dengue virus (DENV) is the most common arboviral infection, responsible for ~100 million symptomatic dengue cases annually [1]. More recently, chikungunya (CHIKV) and Zika viruses (ZIKV) have caused explosive outbreaks that spread from the Oceania and Asia to South and Central America [2].

Brazil reports the larger number of suspected DENV cases in the world (1.6 million cases in 2015), and simultaneous transmission of DENV, CHIKV and ZIKV was first documented in 2015 [3]. Following the 2015 ZIKV epidemic in Brazil, the virus rapidly spread to several countries in the continent, placing the rest of the world at risk for potential complications associated with infection, such as Guillain Barré syndrome in adults and congenital Zika syndrome in newborns [4–7].

DENV, CHIKV and ZIKV (as well as YFV) are transmitted to humans by *Aedes* spp. mosquitoes [8], mainly *Aedes aegypti*, which is common throughout the tropics and is particularly well-adapted to the urban environment [9]. *Aedes albopictus* is also a documented or potential vector of these arboviruses, and its geographic distribution

extends to subtropical and temperate zones. Generally, *Ae. albopictus* is found in and around green areas within cities [9]. Vaccines against these arboviruses (with the exception of YFV) are not available for wide use. Therefore, vector control remains the key strategy to reduce arboviral transmission and subsequent human disease [1, 10–12].

The Brazilian National Dengue Control Program (NDCP) aims to improve case detection and vector control by, among others, strengthening epidemiological and entomological surveillance, as well as increasing accountability of householders to maintain an environment free of potential breeding sites [13]. Entomological surveillance is based on the inspection of homes and other structures and their surroundings for potential *Ae. aegypti* breeding sites, followed by their elimination or treatment with larvicides [14]. However, failure to consider and treat so-called cryptic breeding sites limits the effectiveness of control efforts [15–18]. Additionally, the NDCP has focused primarily on private households, often ignoring breeding sites located in public areas. Here we report findings from Salvador, one of the epicentres for the ZIKV epidemics in Brazil, highlighting the potential role of storm drains in the maintenance of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* populations.

Methods

Study design

Based on circumstantial observations that storm drains could serve as a potential breeding site for *Aedes* mosquitoes in Salvador, we selected four study sites in different neighbourhoods of the city, and performed systematic surveys of the storm drains located in these sites, as described below. In all four sites, a path of 1–3 km along neighbourhood streets was arbitrarily chosen, and all storm drains on both sides of the streets were inspected. Each storm drain was inspected twice, between March and July 2015, approximately 30 days apart. All inspections were performed between 8:00 and 13:00 h. As the amount of accumulated rainfall in the days preceding the surveys could potentially influence the likelihood of finding mosquito immatures and adults in the storm drains, we tried to perform at least one of the two surveys in each storm drain on a day not preceded by a day with rainfall.

Study sites

Salvador is a city of 2.9 million inhabitants, located in north-eastern Brazil (Fig. 1a). The climate is tropical with an average annual rainfall of 2,150 mm and a mean temperature of 25 °C [19]. Since 2010, all four DENV serotypes co-circulate in Salvador [20], and in 2015, autochthonous transmission of CHIKV and ZIKV was confirmed in the city [3]. The four study sites (Piatã, Pituba, Cabula and Brotas) presented diverse socioeconomic, infrastructure and topographic conditions, and the distance among them ranged from 2.7 to 10 km (Fig. 1b-e, respectively).

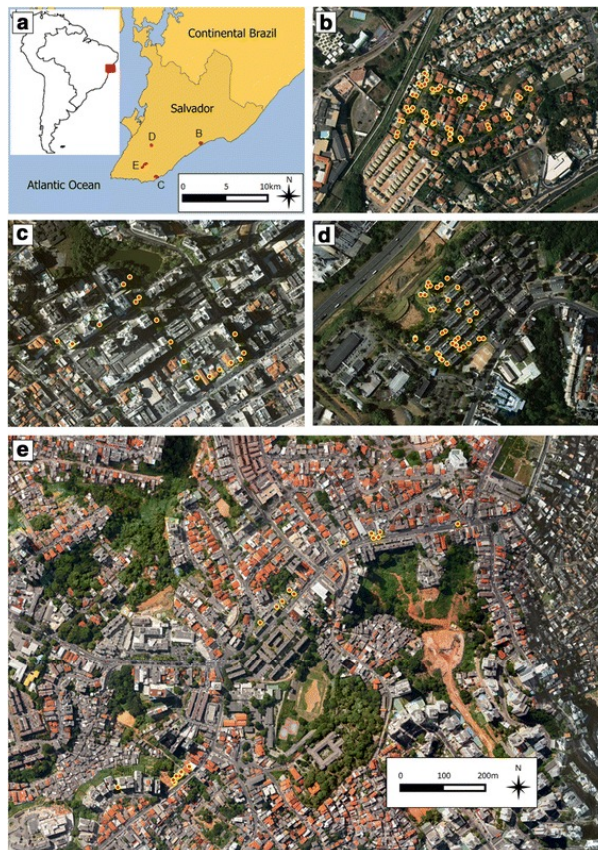


Fig. 1 Location of the storm drains surveyed in Salvador, Brazil. **a** The red square in the South America map shows the location of Salvador in Brazil, and the red areas in the Salvador map show the locations of the four study sites within the city. **b-e** Aerial photograph of the four study sites, showing the location of the surveyed storm drains (red and yellow dots). b, c, d and e are to the same scale.

Piatã (Fig. 1b) is a residential neighbourhood of high socioeconomic level with an estimated population of ~30,000 inhabitants. It is composed of several gated communities comprising individual homes with yards, whose appearance is similar to that of many US suburbs. Piatã is adjacent to the Atlantic coast, and the Piatã study site is ~200 m far from Piatã beach.

Pituba (Fig. 1c) is a neighbourhood of medium-high socioeconomic level (~50,000 inhabitants), characterized by tall residential buildings (frequently of > 10 floors) and a diverse network of street stores and other services. It is also situated by the coast, with the Pituba study site located ~150 m from Pituba beach.

Cabula (Fig. 1d) is a neighbourhood of medium-low socioeconomic level (~80,000 inhabitants), where small residential buildings (usually 3 floors high), often grouped into closed condominiums or housing complexes, coexist with a diverse range of services, such as the main general public hospital of Salvador, a public university and a large shopping center. Geographically, Cabula neighbourhood is centrally situated in Salvador, and the Cabula study site is located 5 km from the sea.

Brotas (Fig. (Fig.1e),1e), (~80,000 inhabitants) is a neighbourhood of medium-low socioeconomic level, characterized by the presence of several commercial buildings, alongside with residential ones. The Brotas study site is 2.5 km far from the sea.

Storm drains surveys

All storm drains locations were geocoded using a Garmin eTrex 10 portable global positioning system (GPS). Rainfall data were downloaded from the Brazilian National Institute of Meteorology website [21], and the accumulated rainfall during the 7 days prior to the sampling of the drains was categorized as either ≤ 50 mm or > 50 mm, a rounded value of the median (54.4 mm) precipitation during the 7 days prior to the surveys.

In all four study sites, the surveyed storm drains were of the same general shape: a parallelepiped container ~100 cm long, ~30 cm wide and ~50 cm deep,

covered with a metal or concrete grate, with discharge pipes near (but above) the bottom. The residual water volume in each storm drain was estimated by multiplying the height, width and length of the storm drain portion with accumulated water, and was categorized according to the median volume of accumulated water as ≤ 40 l or > 40 l. In addition, the storm drains were characterized according to potential for sunlight exposure (no shade, partial shade, or full shade); presence of organic material, such as leaves, fruits, wood or flowers in the accumulated water (yes or no); water odour (decomposed organic matter smell present or absent); and water turbidity (clear or turbid). Two inspectors performed all the storm drain surveys and used the same criteria to characterize the storm drains.

Prokopack aspirators [22] were used to collect adult mosquitoes in the storm drains. In storm drains containing water, a sample of one liter was collected from the surface of the storm drain water, in order to search for and collect immatures colonizing the drain. The water collection was performed using an entomological cup. The same two inspectors conducted all the mosquitos' aspirations and water collections. Water samples containing immatures were transferred in Whirl-Pak® bags (Nasco) to the laboratory, where they were placed in mosquito cages (temperature ranging from 25 °C to 30 °C), maintained for 10 days to allow for development to adults, and inspected daily. All adult mosquitoes (either aspirated or reared from larvae/pupae were identified under a dissecting scope and classified according to morphological-based taxonomic keys into three groups: *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* or other (mostly *Culex* spp.).

Statistical analysis

Data were recorded and managed using the REDCap electronic data capture tool [23], and statistical analysis were conducted using STATA 14 [24]. We described the storm drains characteristics by study site and survey period, including the proportions of drains with accumulated water, and among those containing water, the proportion with adult and immature *Aedes* mosquitoes. In addition, we estimated by study site and survey period the accumulated rainfall during the 7 days preceding each survey (or the mean rainfall precipitation in the 7 days preceding the survey if more

than one day was needed to complete the site survey), and the mean volume of water in storm drains with water.

We classified the surveyed storm drains as either infested with *Ae. aegypti* (when adults and/or immatures were present), or as uninfested (when neither was present). Comparison of frequency of infestation between groups of storm drains was assessed using Chi-square test ($P < 0.05$). To associate characteristics of water-filled storm drains with the presence of *Ae. aegypti* infestation, we applied a bivariate logistic regression model, and variables with $P \leq 0.20$ were included in a multivariable model; backward selection was used to obtain the final model which included all remaining variables associated with *Ae. aegypti* presence at $P < 0.05$.

Results

A total of 122 storm drains were identified in the four study sites. All of them were surveyed twice, except for one in Cabula, one in Brotas and one in Pituba (where access was not possible due to cars parked on the drains), for a total of 241 inspections. The route length and number of drains identified in each of the sites were 1,687 m and 52 drains in Piatã; 1,787 m and 35 drains in Cabula; 3,123 m and 18 drains in Brotas; and 1,017 m and 17 drains in Pituba (Fig. 1).

We found accumulated water in nearly half (118; 49.0 %) of the 241 storm drain inspections. Storm drains with accumulated water were observed in the four study sites, but were much more common in Piatã and Brotas (Table 1). Of the 57 storm drains containing water during the first survey, 51 (89.5 %) contained water also in the second survey, while 10 (15.6 %) of the 64 drains that did not have water in the first survey had water in the second survey. The average estimated volume of water in the storm drains with water was 42.4 (standard deviation 28.7; range 0.52 to 214.5) liters.

Table 1. Findings from entomological surveys performed in storm drains of four neighbourhoods in Salvador, Brazil in 2015

Survey characteristics	Piatã		Cabula		Brotas		Pituba	
	10 & 13/Mar	28 & 29/Mar	06 & 12/May	27/Jul	11/Jun	29/Jul	14/Jul	31/Jul
Average precipitation (mm) during 7 days prior to survey	2.7	60.3	51.4	54.4	87.4	47.4	79.6	36.8
No. of surveyed storm drains	52	52	35	34	18	17	16	17
No. (%) of storm drains with accumulated water	38 (73.1)	48 (92.3)	5 (14.3)	2 (5.9)	11 (61.1)	9 (52.9)	3 (18.8)	2 (11.8)
Average volume (liters) of water	32.2	51.0	28.7	45.0	36.5	60.4	19.7	0.0
No. (%) of water-containing storm drains with larvae/pupae of								
<i>Aedes aegypti</i>	11 (28.9)	1 (2.1)	1 (20.0)	–	–	–	–	–
<i>Aedes albopictus</i>	–	–	2 (40.0)	1 (50.0)	–	–	–	–
Other mosquitoes	19 (50.0)	2 (4.2)	1 (20.0)	1 (50.0)	–	–	1 (6.3)	–
No. (%) of storm drains with adults of:								
<i>Aedes aegypti</i>	8 (15.4)	2 (3.8)	1 (2.9)	–	–	–	–	–
<i>Aedes albopictus</i>	–	–	8 (22.9)	1 (2.9)	–	–	–	–
Other mosquitoes	12 (23.1)	8 (15.4)	9 (25.7)	1 (2.9)	–	–	–	–

Adult and immature *Ae. aegypti* were captured in two of the four sites, Piatã and Cabula. Adult and immature *Ae. albopictus* were captured only in Cabula (Table 1). We captured 468 specimens, of which 148 were *Ae. aegypti* (38 adults and 110 immatures), 79 were *Ae. albopictus* (48 adults and 31 immatures), and 241 were non-*Aedes* (mainly *Culex* spp.) mosquitoes (42 adults and 199 immatures) (Table 2). With the exception of six *Aedes albopictus* adults, all the remaining *Aedes* specimens were captured in storm drains containing water. In the storm drains where adult *Ae. aegypti* were captured, the median number caught was 1 (range 1–12). In the storm drains where immature *Ae. aegypti* were captured, the median number was 3 (range 1–49). In contrast, in the storm drains where adult *Ae. albopictus* were captured, the median number was 2 (range 1–35), and in the storm drains where immature *Ae. albopictus* were captured, the median number was 9 (range 3–19).

Table 2. Total number of mosquitoes (adults and immatures) captured during storm drain surveys in four neighbourhoods of Salvador, Brazil in 2015

Neighbourhood	Specimens					
	<i>Ae. aegypti</i>		<i>Ae. albopictus</i>		Other mosquitoes	
	Adults	Larvae and pupae	Adults	Larvae and pupae	Adults	Larvae and pupae
	M/F		M/F		M/F	
Piatã	17/20	109	0	0	17/24	167
Cabula	0/1	1	14/34	31	1/0	24
Brotas	0	0	0	0	0	0
Pituba	0	0	0	0	0	8
Total	38	110	48	31	42	199

Abbreviations: M male, F female

Immature mosquito predators, such as tadpoles or any other natural predators, were not found in any of the storm drains. *Aedes aegypti* infestation in storm drains containing non-*Aedes* mosquitoes was more frequent (41.8 % of inspections) than in storm drains without non-*Aedes* mosquitoes (5.8 %) ($\chi^2 = 23.2$, $df = 1$, $P < 0.001$) (Table 3). In addition, *Ae. aegypti* infestation was more commonly observed when the water volume was ≤ 40 l (24.6 %), than when it was > 40 l (6.9 %) ($\chi^2 = 6.8$, $df = 1$, $P = 0.009$), and when the accumulated rainfall precipitation in the preceding 7 days was ≤ 50 mm (28.3 %) compared to when it was > 50 mm (4.6 %) ($\chi^2 = 12.7$, $df = 1$, $P < 0.001$). Other characteristics, such as presence of shade, organic matter, water turbidity and water odour were not associated with presence of *Ae. aegypti* infestation.

Table 3. Factors associated with *Aedes aegypti* (adults or immatures) presence in 118 storm drains with accumulated water, Salvador, Brazil, 2015

Characteristic	No. with available data	No. with <i>Aedes aegypti</i> (%)	Crude OR (95 % CI)	Adjusted OR (95 % CI)
Organic matter				
No organic matter	22	3 (13.6)	1	
With organic matter	96	15 (15.6)	1.2 (0.3–4.5)	
Shade				
No shade	64	9 (14.0)	1	
Indirect shade	37	5 (13.5)	1.0 (0.3–3.1)	
Direct shade	17	4 (23.5)	1.9 (0.5–7.1)	
Turbidity of water ^a				
No turbid	61	7 (11.5)	1	
Turbid	47	11 (23.4)	2.4 (0.8–6.7)	
Water odor ^a				
No odor	51	10 (19.6)	1	
With odor	59	8 (13.6)	0.6 (0.2–1.8)	
Non- <i>Aedes</i> mosquitoes ^b				
Absent	87	5 (5.8)	1	1
Present	31	13 (41.8)	11.8 (3.8–37.4)	7.8 (2.3–25.8)
Water volume ^a				
≤40 l	57	14 (24.6)	1	
> 40 l	58	4 (6.9)	0.2 (0.1–0.7)	
Precipitation during the previous 7 days				
≤50 mm	53	15 (28.3)	1	1
> 50 mm	65	3 (4.6)	0.1 (0.0–0.5)	0.2 (0.1–0.8)

^aData on water turbidity, odor and volume were not collected for 10, 10 and 3 storm drains, respectively

^bNon-*Aedes* mosquitoes: includes adult mosquitoes and immatures

In the multivariable model, presence of non-*Aedes* mosquitoes remained significantly associated with increased odds of *Ae. aegypti* infestation (OR: 7.8; 95 % CI: 2.3–25.8) (Table 3). Additionally, > 50 mm of accumulated rainfall during the 7 days prior to the survey was associated with significantly reduced odds of finding *Ae. aegypti* (OR: 0.2; 95 % CI: 0.05–0.8) (Table 3).

Discussion

We demonstrated that in Salvador, one of the largest urban centers in Brazil, and an epicentre of the recent ZIKV outbreak, storm drains often accumulate water and serve as larval development sites and adult resting areas for both *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. In addition, we found that the presence of non-*Aedes* mosquitoes in storm drains (for which storm drains are a well-documented habitat, especially for *Culex pipiens/quinqüefasciatus* species [25–28]) was associated with presence of *Ae. aegypti*.

Previous studies have highlighted the potential contribution of specific sites to the overall adult mosquito population. In Australia, out of 1,349 premises inspected for *Ae. aegypti* presence, two were responsible for 28 % of all immature forms, thus reinforcing the concept of “key containers” (i.e. specific sites that are responsible for a large proportion of mosquitoes found in an area) [29]. In our study, because it was not possible to collect all the water from the surveyed storm drains, the number of immature forms that we report underestimates the total number of larvae and pupae present in this aquatic habitat. However, the finding of as many as 49 *Ae. aegypti* and 19 *Ae. albopictus* larvae/pupae in one liter of water, while the median volume of residual water on inspected storm drains was 42.4 liters illustrates the potential of storm drains to serve as key development sites for *Aedes* mosquitoes.

Historically, dengue prevention campaigns in Brazil have focused on households, aiming to identify and eliminate *Aedes* breeding sites, or, when source reduction is not possible, to treat the water with larvicides. In addition, large public campaigns are used to mobilize the public to combat the vector. These campaigns emphasize the elimination of *Ae. aegypti* breeding sites in citizens' households. Consequently, breeding sites located in public areas, and especially non-container breeding sites, are often ignored.

Non-household breeding sites, such as storm drains [30], manholes, sub-surface catch basins [15] and non-disposable containers [31, 32] have been previously identified as important habitats for *Ae. aegypti* and other mosquitoes in several studies. In Mexico, in an intensive mosquito capture effort aiming to understand the relative importance of different containers as larval habitats, all 15 storm drains identified in the study area contained residual water, and 60 % of them were populated

by *Ae. aegypti* larvae and adults, in contrast to seven containers found during regular house inspections in the area, of which only one contained *Ae. aegypti* larvae [15]. The authors also estimated the number of adults produced per day in the storm drains to be 12, in contrast to zero from the regular containers found during house inspections [15]. In Guadalajara de Buga, Colombia, a quasi-experimental study showed a reduction in the frequency of larval infestation of storm drains and a sharp decline (81 %) in human dengue cases following chemical control of larvae in all storm drains of the city; no such decline was detected in a control community, where no intervention was performed [33]. Another study, from Australia, demonstrated that the mean distance between dengue seropositive people and the nearest subterranean container (mostly wells and manholes) was shorter than for randomly selected controls. Additionally, the prevalence of antibodies for dengue in residents living < 160 meters away from a well or service manhole was 2.5 times higher than in residents living further away [17]. Given that storm drains are ubiquitous in the urban setting, and the accumulated evidence pointing to their potential contribution to arbovirus spread through the urban environment, storm drains monitoring needs to be prioritized.

Targeting “cryptic” breeding sites (including storm drains) for surveillance and control needs to become an essential part of vector control programs in Salvador and other urban areas. This is particularly relevant for Brazil, not only in light of the recent outbreaks of ZIKV and CHIKV, but also because the national vector control programs traditionally rely on a household level index, the LIRA (larval index rapid assay), which does not incorporate surveys of public spaces.

Our study is subject to several limitations. Although it is likely that our findings are valid for much of Salvador and other tropical urban sites, it was restricted to two surveys in four areas of just one city. We also did not investigate other potential alternative larval development sites within the four study sites and, therefore, could not estimate the relative contribution of storm drains to *Aedes* populations in each of the sites. In addition, our surveys may have underestimated the numbers of adults and immatures, because the sampling periods fell within the rainy season. Finally, our measurements were made during the morning and do not necessarily reflect the rest of day; this is especially relevant for the daytime active *Aedes* mosquitoes, whose adults may use storm drains even more during the night. Overall, our study needs to be extended both spatially and temporally in order to assess the wider role of storm

drains (and other ignored larval sites) in *Aedes* mosquitoes development, and their contribution to arboviruses transmission.

Despite these limitations, our findings can already be applied to guide vector control interventions. We have shared our results with the Zoonosis Control Center at the Municipal Secretary of Health, the administrative unit responsible for the vector control program in Salvador, and with the community leaders and residents of the two closed condominiums where we conducted the study. In one of them, the local association of homeowners agreed on the priority of drying the storm drains, and are paying themselves for filling the bottom of the storm drains with concrete, in order to prevent the accumulation of water in them.

Conclusions

We have shown that storm drains can serve both as important larval development and as adult resting sites for *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, which can complete a large portion of their life-cycle in this hospitable and protected environment. We recommend that efforts to control *Aedes* mosquitoes and outbreaks of DENV, CHIKV, and ZIKV take into account storm drains as potential sites for vectors reproduction. Traditional and novel strategies to control mosquito population in these aquatic sites, including (but not limited to) the use of insect growth regulators (e.g. methoprene) [34], *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) [35] and residual insecticides, needs to be evaluated. However, as an ultimate solution, we advocate for a better design of storm drains [36] that restricts the long-term accumulation of water.

Abbreviations

BTI, *Bacillus thuringiensis israelensis*; CHIKV, Chikungunya virus; DENV, Dengue virus; LIRA, larval index rapid assay; NDCP, Brazilian National Dengue Control Program; YFV, yellow fever virus; ZIKV, Zika virus

Acknowledgments

We thank the community leaders, residents and resident associations from the study neighborhoods for their hospitality and support; Patrícia Moreira and Leile Camila Jacob for their assistance during the surveys; and the Salvador Secretariat of Health, the Zoonosis Control Centre, and the Epidemiological Surveillance Office at the Salvador Secretary of Health for their collaboration.

Funding

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (grant 400830/2013-2 and scholarships to IADP, MSR, VAM, UK, MGR and GSR); and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazilian Ministry of Education (scholarship to MK).

Availability of data and material

All relevant data are included within the paper.

Authors' contributions

Study conception and design: IADP, MSR, UK and GSR. Acquisition of data: IADP, MSR, VAM and AST. Data analysis: IADP, MSR, VAM, MK and AST. Data interpretation: IADP, MSR, VAM, MK, UK and GSR. Drafting of manuscript: IADP, VAM, UK and GSR. Critical revision: IADP, MSR, VAM, MK, AST, MGR, UK and GSR. All authors read and approved the final version of the manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Notes

This paper was supported by the following grant(s):

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico 400830/2013-2 to Guilherme Sousa Ribeiro.

References

1. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;496:504–7. doi: 10.1038/nature12060. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
2. Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? *Lancet*. 2015;386:243–4. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61273-9. [PubMed] [Cross Ref]
3. Cardoso CW, Paploski IAD, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MMO, Campos GS, et al. Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, Chikungunya, and Dengue viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:2274–6. doi: 10.3201/eid2112.151167. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
4. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IML, Horovitz DDG, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly –Brazil, 2015. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:59–62. doi: 10.15585/mmwr.mm6503e2. [PubMed] [Cross Ref]
5. Cao-Lormeau V-M, Blake A, Mons S, Lastère S, Roche C, Vanhomwegen J, et al. Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French

Polynesia: a case–control study. *Lancet*. 2016;387:1531–9. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00562-6. [PubMed] [Cross Ref]

6. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparc-Goffart I, Lastere S, Valour F, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill*. 2014;19:7–9. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720. [PubMed] [Cross Ref]

7. Costa F, Sarno M, Khouri R, de Paulo FB, Siqueira I, Ribeiro GS, et al. Emergence of congenital Zika syndrome: Viewpoint From the Front Lines. *Ann Intern Med*. 2016;164(10):689–91. doi: 10.7326/M16-0332. [PubMed] [Cross Ref]

8. Kean J, Rainey S, McFarlane M, Donald C, Schnettler E, Kohl A, et al. Fighting arbovirus transmission: Natural and engineered control of vector competence in *Aedes* Mosquitoes. *Insects*. 2015;6:236–78. doi: 10.3390/insects6010236. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

9. Marcondes CB, Ximenes Mde F. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49:4–10. doi: 10.1590/0037-8682-0220-2015. [PubMed] [Cross Ref]

10. WHO, World Health Organization . Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control Spec Program Res Train Trop Dis. Geneva: World Health Organization; 2009.

11. Ooi E-E, Goh K-T, Gubler DJ. Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:887–93. doi: 10.3201/eid1206.051210. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

12. Chang MS, Christophel EM, Gopinath D, Abdur RM. Challenges and future perspective for dengue vector control in the Western Pacific Region. *West Pacific Surveill Response*. 2011;2:e1. doi: 10.5365/wpsar.2010.1.1.012. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

13. Ministério da Saúde . Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* – LIRAA – para Vigilância Entomológica de *Aedes aegypti* no Brasil. Brasília - DF: Ministério da Saúde; 2013.

14. Tauil PL. Critical aspects of dengue control in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002;18:867–71. doi: 10.1590/S0102-311X2002000300035. [PubMed] [Cross Ref]
15. Manrique-Saide P, Arisqueta-Chablé C, Geded-Moreno E, Herrera-Bojórquez J, Valentín UC, Chablé-Santos J, et al. An assessment of the importance of subsurface catch basins for *Aedes aegypti* adult production during the dry season in a neighborhood of Merida, Mexico. *J Am Mosq Control Assoc*. 2013;29:164–7. doi: 10.2987/12-6320R.1. [PubMed] [Cross Ref]
16. Russell BM, Kay BH, Shipton W. Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) eggs in surface and subterranean breeding sites during the northern Queensland dry season. *J Med Entomol*. 2001;38:441–5. doi: 10.1603/0022-2585-38.3.441. [PubMed] [Cross Ref]
17. Russell BM, McBride WJJ, Mullner H, Kay BH. Epidemiological significance of subterranean *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) breeding sites to dengue virus infection in Charters Towers, 1993. *J Med Entomol*. 2002;39:143–5. doi: 10.1603/0022-2585-39.1.143. [PubMed] [Cross Ref]
18. Bowman LR, Runge-Ranzinger S, McCall PJ. Assessing the relationship between vector indices and dengue transmission: a systematic review of the evidence. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e2848. doi: 10.1371/journal.pntd.0002848. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
19. Instituto Nacional de Meteorologia. Normais Climatológicas do Brasil 1961–1990. 2009 [cited 2016 Apr 5].
20. Kikuti M, Cunha GM, Paploski IAD, Kasper AM, Silva MMO, Tavares AS, et al. Spatial distribution of Dengue in a Brazilian urban slum setting: Role of socioeconomic gradient in disease risk. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003937. doi: 10.1371/journal.pntd.0003937. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
21. Instituto Nacional de Meteorologia. Estação Meteorológica de Observação de Superfície Automática. 2016.
22. Vazquez-Prokopec GM, Galvin WA, Kelly R, Kitron U. A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. *J Med Entomol*. 2009;46:1256–9. doi: 10.1603/033.046.0602. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

23. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap) – a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform.* 2009;42:377–81. doi: 10.1016/j.jbi.2008.08.010. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
24. StataCorp . *Stata Statistical Software: Release 14.* College Station: StataCorp LP; 2015.
25. Geery P, Holub R. Seasonal abundance and control of *Culex* spp. in catch basins in Illinois. *J Am Mosq Control Assoc.* 1989;5:537–40. [PubMed]
26. Arana-Guardia R, Baak-Baak CM, Loroño-Pino MA, Machain-Williams C, Beaty BJ, Eisen L, et al. Stormwater drains and catch basins as sources for production of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Acta Trop.* 2014;134:33–42. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.01.011. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
27. Rydzanicz K, Jawień P, Lonc E, Modelska M. Assessment of productivity of *Culex* spp. larvae (Diptera: Culicidae) in urban storm water catch basin system in Wrocław (SW Poland) *Parasitol Res.* 2016;115:1711–20. doi: 10.1007/s00436-016-4912-x. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
28. Rey JR, O’Meara GF, O’Connell SM, Cutwa-Francis MM. Factors affecting mosquito production from stormwater drains and catch basins in two Florida cities. *J Vector Ecol.* 2006;31:334–43. doi: 10.3376/1081-1710(2006)31[334:FAMPFS]2.0.CO;2. [PubMed] [Cross Ref]
29. Tun-Lin W, Kay BH, Barnes A. Understanding productivity, a key to *Aedes aegypti* surveillance. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;53:595–601. [PubMed]
30. Anderson JF, Ferrandino FJ, Dingman DW, Main AJ, Andreadis TG, Becnel JJ. Control of mosquitoes in catch basins in Connecticut with *Bacillus thuringiensis israelensis*, *Bacillus sphaericus*, [corrected] and spinosad. *J Am Mosq Control Assoc.* 2011;27:45–55. doi: 10.2987/10-6079.1. [PubMed] [Cross Ref]
31. Troyo A, Calderón-arguedas O, Fuller DO, Solano ME, Arheart KL, Chadee DD, et al. Seasonal profiles of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larval habitats in an urban area of Costa Rica with a history of mosquito control. *J Vector Ecol.* 2008;33:76–88.

doi: 10.3376/1081-1710(2008)33[76:SPOAAD]2.0.CO;2. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

32. Kay BH, Ryan PA, Russell BM, Holt JS, Lyons SA, Foley PN. The importance of subterranean mosquito habitat to arbovirus vector control strategies in North Queensland, Australia. *J Med Entomol.* 2000;37:846–53. doi: 10.1603/0022-2585-37.6.846. [PubMed] [Cross Ref]

33. Ocampo CB, Mina NJ, Carabalí M, Alexander N, Osorio L. Reduction in dengue cases observed during mass control of *Aedes* (*Stegomyia*) in street catch basins in an endemic urban area in Colombia. *Acta Trop.* 2014;132:15–22. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.12.019. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

34. Braga IA, Mello CB, Montella IR, Lima JBP, de JJ MA, Medeiros PFV, et al. Effectiveness of methoprene, an insect growth regulator, against temephos-resistant *Aedes aegypti* populations from different Brazilian localities, under laboratory conditions. *J Med Entomol.* 2005;42:830–7. doi: 10.1603/0022-2585(2005)042[0830:EOMAIG]2.0.CO;2. [PubMed] [Cross Ref]

35. Goldberg LJ, Margalit J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosq News.* 1977;37:355–8.

36. Montgomery BL, Ritchie SA, Hart AJ, Long SA, Walsh ID. Subsoil drain sumps are a key container for *Aedes aegypti* in Cairns, Australia. *J Am Mosq Control Assoc.* 2004;20:365–9. [PubMed]

7. Conclusões

Arboviroses de grande interesse público tem ocorrido em Salvador na última década, causando epidemias de grandes proporções, com ocorrência de desfechos graves e grande impacto para a saúde pública. O estudo da ocorrência destas doenças na população e de características que propiciem sua transmissão, como a presença vetorial, são cruciais para entendermos que desafios enfrentamos e que ações podemos tomar para controlar estes agravos.

Neste trabalho, descrevemos a ocorrência de uma epidemia por Zika em Salvador. Adicionalmente, descrevemos a correlação temporal do surto de Zika com a ocorrência de casos de Guillain-Barré e de malformações congênitas em recém-nascidos. As informações reportadas a respeito da ocorrência de casos de Guillain-Barré após a epidemia de Zika podem ter auxiliado outros lugares do continente americano a se prepararem para a ocorrência de infecções por este vírus. Ao mesmo tempo, a identificação da correlação temporal entre a epidemia por Zika e a ocorrência de casos de Guillain-Barré de malformações congênitas contribuiu para a identificação de um ligação epidemiológica entre estes eventos. Esta ação descritiva teve ao menos dois grandes benefícios: o primeiro, de descrever os eventos que houveram em Salvador e tornar pública a experiência aqui vivenciada, e segundo, de permitir a consolidação deste elo, propiciando bases epidemiológicas para a elaboração de hipóteses que visem investigar os mecanismo pelos quais a infecção pelo vírus Zika pode conduzir à eventos graves como a síndrome de Guillain-Barré e a ocorrência de malformações congênitas.

Além disso, identificamos que epidemias de dengue não ocorrem nas mesmas áreas de um bairro em diferentes epidemias, e sugerimos que o estudo da distribuição espacial de ocorrência de casos de dengue causados por um novo sorotipo possa auxiliar a planejar ações de combate em caso de introdução de novos vírus na população de Salvador. Com esta sugestão, esperamos que pesquisas adicionais sejam conduzidas para investigar esta potencial hipótese. Nossa expectativa é que, caso essa hipótese seja confirmada, ações possam ser tomadas quando da iminência de introdução de novos vírus de forma a evitar epidemias de grande magnitude e melhor preservando a saúde da população de Salvador e de outros locais do Brasil.

Também procuramos fatores associados à ocorrência de alguma arbovirose em indivíduos com síndrome febril aguda, e embora não tenhamos identificado nenhuma característica associada, sugerimos que o potencial vetor de chikungunya em Salvador sejam mosquitos da espécie *Aedes aegypti*. Com esta sugestão, esperamos contribuir para o entendimento de como se dá a transmissão desta arbovirose no Brasil, em especial porque em outros lugares do mundo outras espécies de mosquitos são as responsáveis pela transmissão desta doença. Isso é importante para entendermos o potencial impacto que ações de controle vetorial, originalmente elaboradas no Brasil para o controle da dengue, podem ter sobre a transmissão de chikungunya. Identificamos também que há um descompasso entre os diferentes indicadores entomológicos e a ocorrência de arboviroses, reforçando a sugestão de indicadores entomológicos tem utilidade limitada na predição de risco de transmissão destas doenças.

Por fim, demonstramos que mosquitos *Aedes aegypti* podem se reproduzir em ambientes como bocas-de-lobo e que adultos da mesma espécie podem ser encontradas nestas estruturas, que raramente são reconhecidas como criadouros de mosquitos desta espécie e que, por isso, raramente são vistoriadas em ações de combate vetorial, potencialmente auxiliando na manutenção populacional dos mosquitos vetores e na propagação de arboviroses em Salvador. Com esta demonstração, esperamos chamar a atenção dos órgãos responsáveis para a necessidade de atualização dos protocolos de combate vetorial, e em última análise, esperamos que o desenho de novas estruturas para drenagem de águas pluviais sejam adaptadas de forma a evitar o surgimento de um local de proliferação do principal vetor de arboviroses urbanas no Brasil.