

Estudos Experimentais sobre Competência Vetorial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* para os Vírus da Dengue e Febre Amarela

Nicolas Degallier

Instituto de Pesquisa para o Desenvolvimento [*Institut de Recherche pour le Développement*] - IRD

José Marcus Sócrates Teixeira

Laboratório Central-LACEN

Antonio de Jesus Melo Chaib

Laboratório Central-LACEN

Heliomar Ferreira Barbosa

Fundação Nacional de Saúde

Jamil Antonio Rios

Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal-DIVAL

Correspondência para:

Nicolas Degallier

Instituto de Pesquisa para o Desenvolvimento [*Institut de Recherche pour le Développement*] - IRD

Caixa Postal, 7091

Lago Sul

Brasília - DF

CEP: 71.619-970

E-mail: nicolas.degallier@ird.fr

Delimitação do Problema

Recentes epidemias de febre amarela ressaltaram a necessidade de redefinir as áreas de maior risco de reurbanização da doença por meio de estudos da competência vetorial dos mosquitos urbanos. Epidemias de dengue, cada vez mais amplas e graves, com aparição de casos hemorrágicos, espalham-se em regiões situadas dentro da área endêmica da febre amarela silvestre. Durante a década de 80, instalou-se no Brasil um segundo vetor potencial de dengue e febre amarela: *Aedes albopictus*. A competência vetorial é a capacidade de uma população de mosquitos a se infectar com um vírus determinado e transmiti-lo após um período chamado ciclo extrínseco de multiplicação. Ela depende das amostras respectivas do vetor e do vírus, assim como da temperatura durante o ciclo extrínseco. Experimentos sobre competência vetorial somente podem ser conduzidos em condição de segurança, visando evitar a fuga de mosquitos infectados ou saída de material contaminado. O presente projeto foi proposto para implantar um sistema de alimentação *in vitro*, permitindo realizar testes sobre a competência vetorial, criar mosquitos infectados e isolar os vírus nos mosquitos.

Metodologia

Durante a primeira fase do projeto, foi reunido o material adequado para a criação dos mosquitos, sua alimentação e sobrevivência, e foram adquiridos os insumos necessários à produção de vírus para inoculações, isolamento e identificação viral nos mosquitos. A segunda fase do projeto foi dedicada ao início dos experimentos. As gaiolas (15x15x15cm) foram confeccionadas com material acrílico transparente de 4mm de espessura. O sistema de alimentação, fabricado em vidro temperado, compõe-se de duas partes sem comunicação entre elas: uma central com aberturas superior e inferior, para colocar o sangue contido pela membrana (pele de frango), e uma periférica com aberturas laterais para circulação da água mantida a 37°C. Para aumentar a taxa de mosquitos engurgitados, usamos uma solução de sucrose a 10%, molhando a membrana. O sangue de carneiro (4ml por alimentador) foi usado, adicionado de 10µl de suspensão viral por mililitros de sangue. O tempo médio de exposição aos mosquitos foi de duas horas. Os mosquitos foram mantidos em sobrevivência durante 14 dias. A triagem dos mosquitos (separação dos machos e fêmeas e contagem) foi realizada sobre uma mesa refrigerada a -20°C. Os lotes foram inoculados em cultivos celulares C6/36 (*Aedes albopictus*), sistema sensível aos vírus da dengue e febre amarela. Durante 14 dias, as células foram observadas para aparição de efeitos citopáticos. Se nenhum efeito for evidenciado, o teste de imunofluorescência foi aplicado em uma alíquota, com anticorpos monoclonais.

Resultados

Um total de nove experimentos foram realizados, sendo dois sem vírus, três com vírus DEN-1 e quatro com vírus da febre amarela. Nos dois primeiros, houve uma taxa de alimentação de 30,4% (60/197) das fêmeas, e taxas de sobrevivência de 33,3% (25/75) e 92% (23/25), respectivamente, para as populações "ROCK" e "GUARA". Um total de 150 mosquitos da população "ROCK" e 150 da população "GCZ" foram alimentados com vírus DEN-1 em suspensão em sangue de carneiro. As suspensões com vírus da febre amarela

foram ofertadas a um total de 50 *Aedes albopictus*, 100 *Aedes aegypti* "ROCK" e 400 *Aedes aegypti* "GCZ". No total, 27 lotes (120 mosquitos) foram processados a partir dos mosquitos sobreviventes, não resultando em nenhum isolamento viral.

Conclusões

Os resultados preliminares não evidenciaram infecção com febre amarela em nenhuma das duas espécies testadas, apesar de ter-se deixado os mosquitos em temperaturas elevadas e durante pelo menos 14 dias. Essa falta de infecção pode ter várias explicações: a) o título de vírus no sangue oferecido aos mosquitos pode ser insuficiente, quando se sabe que esses títulos devem ser necessariamente superiores aos títulos "infectantes" encontrados no sangue de um doente virêmico; b) a duração do ciclo extrínseco (14 dias) pode ser insuficiente para permitir ao vírus de se multiplicar nas glândulas salivares dos mosquitos; e c) as populações de mosquitos testadas não são competentes para os vírus testados. Testes serão realizados com concentração superior de vírus, deixando os mosquitos 21 dias antes de sacrificá-los, seja com populações de mosquitos de outras regiões, seja com amostras virais isoladas de vetores silvestres.

Dengue: Instruções para pessoal de combate ao vetor Manual de normas técnicas - FUNASA - 2001

Febre amarela

"A febre amarela é doença febril aguda, de curta duração, de natureza viral, com gravidade variável, encontrada em países da África, das Américas Central e do Sul. A forma grave caracteriza-se clinicamente por manifestações de insuficiência hepática e renal, que podem levar o paciente à morte em no máximo 12 dias. É causada por um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*."

"A transmissão se faz através da picada de mosquitos, como o *Aedes aegypti* (febre amarela urbana) e várias espécies de *Haemagogus* (febre amarela silvestre)."

"Na forma urbana, que não ocorre no país desde 1942, o vírus é transmitido pela picada de *Aedes aegypti* (ciclo homem-mosquito-homem)."

Dengue

"É doença febril aguda caracterizada, em sua forma clássica, por dores musculares e articulares intensas. Tem como agente um arbovírus do gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*, do qual existem quatro sorotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. A infecção por um deles confere proteção permanente para o mesmo sorotipo e imunidade parcial e temporária contra os outros três. Trata-se, caracteristicamente, de enfermidade de áreas tropicais e subtropicais, onde as condições do ambiente favorecem o desenvolvimento dos vetores. Várias espécies de mosquitos do gênero *Aedes* podem servir como transmissores do vírus do dengue. No Brasil, duas delas estão hoje instalados: *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*."