

# O estudo das arboviroses transmitidas por vetores no IHMT

*Arboviral studies at IHMT*

---

**Carla Alexandra Sousa**

Unidade de Ensino e Investigação de Parasitologia Médica/UPMM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.

**Ricardo Manuel Soares Parreira**

Grupo de Virologia, Unidade de Ensino e Investigação de Microbiologia Médica/UPMM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.  
ricardo@ihmt.unl.pt

## Resumo

O estudo das doenças transmitidas por vetores sempre foi uma área de interesse do Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT). Após a erradicação da malária em Portugal a atividade do IHMT neste domínio do conhecimento centrou-se principalmente no estudo destas patologias nas regiões tropicais e subtropicais. No entanto, com a (re)emergência de algumas destas doenças a nível global, nomeadamente arboviroses como a febre de dengue e de Chikungunya, a atividade do IHMT não só se intensificou como passou a refletir uma preocupação crescente com a vulnerabilidade dos territórios nacionais a estas patologias. Tal preocupação veio culminar com a declaração de um surto de dengue na ilha da Madeira o que impulsionou o IHMT a expandir a sua atividade muito além da pesquisa científica para as áreas da monitorização, vigilância e controlo vetorial destas patologias.

**Palavras Chave:**

IHMT, arboviruses, dengue, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*.

## Abstract

The study of vector-borne diseases has always been an area of interest of the Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT). After the eradication of malaria in Portugal, the activity of IHMT in this field of knowledge focused mainly on the study of these diseases in tropical and subtropical regions. However with the (re)emergence of some of these illnesses at global level, including arboviroses such as those caused by dengue and Chikungunya viruses, the work carried out at IHMT started to reflect a growing concern about the vulnerability of the national territories to these diseases. This concern has intensified with the notification of a dengue outbreak in Madeira, which led IHMT to expand its activity beyond the scientific research into the areas of monitoring, surveillance and vector control of these diseases.

**Key Words:**

IHMT, arboviruses, dengue, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*.

## Após a erradicação da malária em Portugal

Em Portugal, e na sequência da erradicação da malária no final dos anos de 1950, os estudos sobre doenças transmitidas por vetores têm-se centrado, em particular, nas patologias endémicas das regiões tropicais e sub-tropicais. Devido à natureza da missão do Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), definida estatutariamente, à qual se alia a sua expertise de mais de 100 anos de atividade, inúmeros têm sido os trabalhos efetuados neste domínio científico, nomeadamente no âmbito da malária e seus vetores.

Com base no saber acumulado na sequência dos trabalhos decorrentes das tentativas de controlo da febre-amarela em Luanda (Angola) no início da década de 1970 [1,2,3] (Fig. 1), o interesse pelos agentes causadores de doenças transmitidas por vetores, e em especial o interesse pelas patologias causadas por arbovírus, ganhou um novo ímpeto em meados da década de 1990. Com início em contribuições efetuadas na sequência de estudos sobre a peste equina africana [4] e sobre o vírus do Nilo Ocidental [5], passo-a-passo o estudo das doenças de origem viral transmitidas por vetores foi ganhando, progressivamente, projeção no IHMT. No entanto, até recentemente, os novos projetos científicos foram sempre focalizados nas regiões tropicais e subtropicais, do qual é exemplo a avaliação da receptividade do território de Macau ao vírus da dengue (DENV) (Fig. 2 e Fig. 3) e a outras patologias causadas por agentes patogénicos transmitidos por *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) [6].

### A década de 2000

Com a emergência de arboviroses como as causadas pelo vírus da dengue (DENV, do Inglês *Dengue virus*), pelo WNV (do Inglês *West-Nile virus*), ou pelo vírus chikungunya (CHIKV, do Inglês *chikungunya virus*), os trabalhos levados a cabo no IHMT começaram a refletir, cada vez mais, a preocupação crescente relativamente à vulnerabilidade dos territórios nacionais a este tipo de doenças. Assim, e desde 2001, vários foram os projetos dedicados ao estudo dos arbovírus e dos seus vetores presentes no território português [7,8]. Na sequência da identificação de dois casos confirmados de infeção pelo WNV em Portugal (Algarve), o IHMT veio a confirmar a presença deste vírus em lotes de *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 e *Culex univittatus* Theobald, 1901 por métodos moleculares, mas também via isolamento de estirpes virais diretamente a partir de macerados de mosquitos [9]. Subsequentemente, a caracterização genética destes vírus permitiu descortinar o padrão epidemiológico de atividade do WNV em Portugal [10]. No entanto, o real impacto das arboviroses no nosso país só se tornou aparente na sequência da introdução de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) no arquipélago da Madeira, e no subsequente surto de dengue em 2012.

A febre da dengue (DF, do Inglês *dengue fever*) é causada pela infeção por um arbovírus (do Inglês *arthropod borne virus*) da família *Flaviviridae*, normalmente transmitido por mosquitos hematófagos do género *Aedes* [11] e vulgarmente conhecido como vírus da dengue (DENV). Crê-se que a DF seja uma doença antiga com os primeiros registos conhecidos datados entre 265 e 420 A.D. [12]. Não obstante, até à década de 1940 eram relativamente raros os registos destas epidemias, sendo que a rápida e ampla dispersão do DENV pelo mundo teve início a partir do Sudeste Asiático no decurso da IIª Guerra Mundial.

Nas últimas cinco décadas, o aumento do número de infeções causadas por DENV tem sido considerável. As estimativas apresentadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) sugerem que entre 50 e 100 milhões de infeções causadas pelo DENV possam ocorrer anualmente [13], afetando, particularmente, as regiões tropicais e subtropicais [14, 11, 15]. No entanto, estes números são, muito provavelmente, subestimativas do real impacto do DENV na saúde humana.

A maioria das infeções causadas pelo DENV (cerca de 80%) são assintomáticas, e as que se manifestam clinicamente estão associadas a um síndrome febril agudo e autolimitado designado de forma abreviada, e tal como acima se refere, por DF. No entanto, apesar do facto da DF ser a apresentação clínica mais frequentemente associada à infeção pelo DENV, esta pode evoluir para situações clinicamente mais graves, e da qual se destacam as alterações na permeabilidade capilar e o choque hipovolémico a estas associado. Estas manifestações clínicas agravadas são vulgarmente reconhecidas como dengue hemorrágico (DHF, do Inglês *Dengue Hemorrhagic Fever*) e síndrome de choque associado à dengue (DSS, do Inglês *Dengue Shock Syndrome*) [16].

Em 1906 os mosquitos do género *Aedes* foram pela primeira vez implicados na transmissão do DENV. Contrariamente à maioria dos demais arbovírus, o DENV replica em primatas, nos quais é naturalmente mantido e amplificado em dois ciclos ecologicamente distintos [17,18]. Por um lado, o DENV pode manter-se num ciclo silvático que envolve primatas não-humanos como hospedeiros, e mosquitos vetores da canópia florestal. Por outro, a sua manutenção pode ocorrer exclusivamente em ambiente urbano sendo que, nestes caso, o Homem é o seu hospedeiro e os mosquitos antropofílicos os seus vetores. *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) subespécie *aegypti* é considerado o principal vetor de DENV em ambiente sinantrópico, enquanto que *Ae. albopictus* parece ter um papel secundário enquanto vetor de DENV em áreas onde estas duas subespécies coexistem [19]. *Aedes albopictus* é referido como apresentando maior competência vetorial que a subespécie de *Ae. aegypti* mais frequentemente implicada na transmissão epidémica de DENV (*Ae. aegypti aegypti*), o que, em combinação com a sua origem asiática suporta o reconhecimento de *Ae. albopictus* como o vetor ancestral deste vírus [20,21,22]. No entanto, *Ae. aegypti* é, normalmente, a espécie associada aos grandes surtos de DENV, para os quais con-



**Fig. 1** – Colheita de Imaturos de *Ae. aegypti* durante o surto de febre amarela em Luanda, 1971



**Fig. 2** – Colheita de imaturos de *Ae. albopictus* em Macau, 1998



**Fig. 3** – Colheita de imaturos de *Ae. albopictus* em Macau, 1998

tribuem a sua acentuada antropofilia e elevada capacidade de adaptação aos ambientes domésticos humanos [23,24]. À semelhança de muitos outros arbovírus, o DENV é geneticamente diverso [25]. No entanto, e contrariamente à maioria destes, DENV designa não uma linhagem viral única mas sim quatro (pelo menos), cada uma delas identificada por características antigénicas distintas. Estas são reconhecidas,



**Fig. 4** – Colheita de mosquitos adultos em Portugal, 2004



**Fig. 5** – Colheitas de *Aedes aegypti* na ilha da Madeira, 2014

genericamente, como 4 serotipos independentes (DENV1-4), reunidos, no entanto, num único serocomplexo. Apesar de, recentemente, ter sido sugerido que vírus detetados em amostras de sangue colhidas na ilha de Bornéu (Malásia) pudessem corresponder a um novo serotipo do vírus de DENV, tal facto, permanece por confirmar [26].

*Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* são consideradas espécies invasivas. Pelo facto de os seus ovos serem capazes de suportar de dessecação, estes *taxa* têm sido extensamente distribuídos por todo o mundo em associação aos humanos, facto que também deverá ter estado na origem da introdução *Ae. aegypti* na Ilha da Madeira. Sendo um mosquito de origem Afro-tropical, no início do século XX a distribuição deste mosquito na Europa continental compreendia países como a França (incluindo a Córsega), a Espanha, Portugal, Itália (incluindo Sicília e Sardenha), a Grécia (incluindo Creta), Chipre, e o território da antiga Jugoslávia [27]. No presente, esta espécie encontra-se apenas na ilha da Madeira (Portugal), na Geórgia e no território da Abecásia, ao longo da fronteira com o sul da Rússia [28,29]. A(s) razão(ões) por trás da eliminação do *Ae. aegypti* da maior parte da Europa até ao final da primeira metade do séc. XX permanece(m) por esclarecer. No entanto, a implementação de inúmeros

programas de erradicação da malária, e a utilização extensiva do DDT (diclorodifeniltricloroetano) como pesticida/inseticida agrícola devem ter contribuído para o efeito.

A dispersão do *Ae. albopictus* nas últimas 3 décadas é, por muitos, considerada a “terceira vaga” de dispersão de mosquitos potencialmente causadores de doença mediada pelo Homem [30]. A partir da sua área de dispersão natural, centrada na Ásia oriental e no subcontinente indiano, esta espécie invadiu, em primeiro lugar, as ilhas do Pacífico, para depois se distribuir pelos Velho e Novo Mundos [19], frequentemente em associação com o comércio de pneus usados e plantas ornamentais [31]. As introduções repetidas de *Ae. albopictus* na Europa começaram a ser registadas por volta da década de 1970 e, neste momento, populações ativas deste vetor podem ser encontradas na Albânia, Bósnia e Herzegovina, Bulgária, Croácia, França, Grécia, Itália, Malta, Mónaco, Montenegro, São Marino, Sérvia, Eslovénia, Espanha, Suíça e na cidade do Vaticano [31]. Assim, à semelhança do que acontece com *Ae. aegypti*, Portugal continental é considerado um território de alto risco para a introdução desta espécie, que muito recentemente foi detetada em novos territórios espanhóis, nomeadamente na província de Andaluzia, em Almeria, Granada e Málaga [32].

Ainda que os motivos que terão dado suporte à recente emergência do DENV pelo mundo sejam complexos e difíceis de avaliar na sua totalidade, estes devem incluir alterações na demografia humana, urbanização rápida, alterações nas infraestruturas e políticas de saúde-pública, bem como um aumento na resistência das populações vetoriais aos inseticidas. Neste contexto, a Europa não tem escapado à dispersão do DENV, ainda que o último surto ocorrido na Europa continental tenha sido registado na Grécia há quase 9 décadas (1927-1928; [33]). Desde essa altura, apenas têm sido reportados casos de transmissão esporádica de DENV, tendo os mais recentes sido identificados em França (2010 e 2013) e na Croácia (2010). Em todas estas situações o vetor implicado na transmissão foi *Ae. albopictus* [34,35,36]. No entanto, 2012 foi palco de um surto de DENV de proporções moderadas (2186 casos notificados), o qual teve lugar na Ilha da Madeira e foi mediado não por *Ae. albopictus* mas sim por *Ae. aegypti*, presente no território desde 2005 [37]. Curiosamente, e à semelhança do que aconteceu noutras regiões da Europa, *Ae. aegypti* fora descrito no território de Portugal continental até 1953 [38] mas não foi detetado em nenhum dos levantamentos entomológicos levados a cabo mais recentemente [7,8] (Fig. 4). Na sequência da deteção desta espécie na região autónoma da Madeira, um novo projeto foi de imediato implementado em colaboração com as autoridades de saúde locais (IASAUDE: Instituto de Administração da Saúde e Assuntos Sociais). Este projeto marca o início de uma série de trabalhos que traduzem o empenho do IHMT no desenvolvimento desta área do conhecimento. O projeto em causa tinha como objetivo primordial a avaliação do risco de emergência de arboviroses veiculadas por *Ae. aegypti* nessa

região autónoma do território nacional. Curiosamente, tal veio a suceder ainda durante o primeiro ano de execução do projeto, com a declaração oficial de um surto de dengue neste território em Outubro de 2012. Este surto, provocado por vírus do serotipo 1 (DENV1), registou um total de 2186 casos prováveis sem, no entanto, a ocorrência de fatalidades. Tendo contribuído, inclusive, para a notificação oficial da presença de *Ae. aegypti* no arquipélago da Madeira [37] o IHMT tem sido um parceiro privilegiado das autoridades de saúde madeirenses no que diz respeito aos estudos de doenças transmitidas por vetores, e desde o surto de DENV em 2012 que esta colaboração se intensificou. Durante este surto, o IHMT funcionou como conselheiro externo a nível local no que diz respeito à monitorização das populações de mosquitos e seu controlo [39] bem como a nível central quando alguns dos seus virologistas, médicos e entomologistas integraram um painel de peritos, conselheiros da Direção Geral da Saúde (DGS). No rescaldo do referido surto, o IHMT veio a ser convidado e integrar a plataforma da DGS de entomologistas e peritos em Saúde Pública para o controlo e prevenção das doenças transmitidas por vetores.

## A atualidade

Mais recentemente, as atividades de investigação levadas a cabo no IHMT no que aos arbovírus e às doenças por eles causadas diz respeito, têm-se não só intensificado como estendido muito para além dos iniciais estudos entomológicos. Disso são prova os múltiplos trabalhos publicados versando sobre o seu diagnóstico clínico e laboratorial [40], a caracterização de vírus [41], a análise genética de vetores [42], e a sua modelação espacial [43], bem como trabalhos em temáticas de charneira como a das ciências sociais aplicadas ao controlo vetorial [44,45]. Esta experiência tem permitido ao IHMT manter-se ativo como Observador Global de Saúde de que é prova a notificação precoce de DENV1 em Luanda (Angola) março de 2013 [40] e a notificação da co-circulação de DENV e CHIKV em Angola em 2014 [41]. Finalmente, e enquanto instituição colaboradora da OMS-África, ao IHMT foi ainda solicitado apoio técnico (primeiro trimestre de 2014) para fazer face a um evento inesperado de saúde pública, identificado como um surto de DENV no norte de Moçambique. Para além da estrita atividade investigacional, correntemente, o IHMT apoia atividades de monitorização com o projeto MosquitoWeb (<http://mosquitoweb.ihmt.unl.pt/>) no âmbito dos programas de vigilância entomológica de base comunitária, e mantém a sua colaboração com as autoridades da Região Autónoma da Madeira na vigilância vetorial de *Ae. aegypti* e em estudos piloto (Fig. 5) que visam desenvolver novas metodologias para o controlo desta espécie nesse território [46].

## Bibliografia

- Ribeiro H (1971). Entomologia da epidemia de febre amarela de Luanda, em 1971. *Rev Med Ang* 50: 67-91.
- Ribeiro H (1973a). Entomological studies during the 1971 yellow fever epidemic of Luanda, Angola. *Mosq News* 33: 568-572.
- Ribeiro H (1973b). The control *Aedes aegypti* during yellow fever epidemic of Luanda, Angola, in 1971. *Bull Wld Hth Org* 48: 504-508.
- Ramos HC, Ribeiro H, Novo MT (1992). Mosquito ecology in southeastern Portugal, an area receptive to African Horse Sickness. *Bull Soc Vector Ecol* 17: 85-93.
- Castro R, Simões MJ, Canas Ferreira WF, Ribeiro H (1995). Pesquisa de anticorpos antivírus West Nile por uma técnica ELISA. *Rev Portuguesa Doenças Infecciosas* 18: 215-218.
- Almeida APG, Baptista SS, Sousa CA, Novo MT, Ramos HC, Panella NA, Godsey M, Simões MJ, Anselmo ML, Komar N, Mitchell CJ, Ribeiro H (2005). Bioecology and vectorial capacity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in relation to dengue virus transmission. *J Med Entomology* 42: 419-428.
- Almeida AP, Galão RP, Sousa CA, Novo MT, Parreira R, Pinto J, Piedade J, Esteves A (2008). Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 102: 823-832.
- Almeida AP, Freitas FB, Novo MT, Sousa CA, Rodrigues JC, Alves R, Esteves A (2010). Mosquito surveys and West Nile virus screening in two different areas of southern Portugal, 2004-2007. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10: 673-680.
- Esteves A, Almeida APG, Galão RP, Parreira R, Piedade J, Rodrigues JC, Sousa CA, Novo T (2005). West Nile Virus in Southern Portugal. *Vector Borne Zoonotic Dis* 5: 410-413.
- Parreira R, Severino P, Freitas F, Piedade J, Almeida AP, Esteves A (2007). Two distinct introductions of the West Nile virus in Portugal disclosed by phylogenetic analysis of genomic sequences. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7: 344-352.
- Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, Hunsperger E, Kroeger A, Margolis HS, Martínez E, Nathan MB, Pelegrino JL, Simmons C, Yoksan S, Peeling RW (2010). Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol* 8(12 Suppl.): S7-16.
- Gubler DJ (1998). Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 11: 480-96.
- WHO (2008). Dengue and dengue haemorrhagic fever. Factsheet N°117, may 2008. Geneva, World Health Organization. In <http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs117/en/>.
- Halstead SB (2007). Dengue. *Lancet* 370: 1644-1652.
- Thai KT, Anders KL (2011). The role of climate variability and change in the transmission dynamics and geographic distribution of dengue. *Exp Biol Med* 236: 944-954.
- WHO (2012). Handbook of clinical management of dengue. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Vasilakis N, Weaver SC (2008). The history and evolution of human dengue emergence. *Adv Virus Res* 72: 1-76.
- Chen R, Vasilakis N (2011). Dengue--quo tu et quo vadis? *Viruses* 3: 1562-1608.
- Gratz NG (2004). Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med Vet Entomol* 18: 215-227.
- Rosen L, Roseboom LE, Gubler DJ, Lien JC, Chaniotis BN (1985). Comparative susceptibility of mosquito species and strains to oral and parenteral infection with dengue and Japanese encephalitis viruses. *Am J Trop Med Hyg* 34: 603-615.
- Rodhain F, Rosen L (1987). Mosquito vectors and dengue virus vector relationships. In Gubler DJ, Kuno G, (Ed.). *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. CAB International, Wallingford, UK.
- Vazeille M, Rosen L, Mouslon L, Failloux AB (2003). Low oral receptivity for dengue type 2 viruses of *Aedes albopictus* from Southeast Asia compared with that of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 68: 203-208.
- Reiter P, Fontenille D, Paupy C (2006). *Aedes albopictus* as an epidemic vector of chikungunya virus: another emerging problem? *Lancet Infect Dis* 6: 463-464.
- Scott TW, Takken W (2012). Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission. *Trends Parasitol* 28: 114-121.
- Wang E, Ni H, Xu R, Barrett AD, Watowich SJ, Gubler DJ, Weaver SC (2000). Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J Virol* 74: 3227-3234.
- Normile D (2013). Tropical medicine. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. *Science* 342: 415.
- Christophers SR (1960). *Aedes aegypti* (L.), the Yellow Fever mosquito. Cambridge University Press, London, UK.
- Snow K, Ramsdale C (1999). Distribution chart for European mosquitoes. *European Mosquito Bulletin* 3: 14-31.
- Brown JE, Scholte EJ, Dik M, Den Hartog W, Beeuwkes J, Powell JR (2010). *Aedes aegypti* mosquitoes imported into the Netherlands, 2010. *Emerg Infect Dis* 17: 2335-2337.
- Lounibos LP (2002). Invasions by insect vectors of human disease. *Annu Rev Entomol* 47: 233-266.
- Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H, Van Bortel W (2012). A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector Borne Zoonotic Dis* 12: 435-447.
- Delacour-Estrella S, Collantes F, Elbal PMA, Delgado JA, Arrondo IR, Pinal R, Guinea H, Bueno JM, Abellán JG, Estrada R, Alcibar RM, Molina R, Luciente J (2015). Current known distribution of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in Spain. In 7th European Control Association Workshop (EMCA 2015)(February 23-25), Abstract book: 51.
- Louis C (2012). Daily newspaper view of dengue fever epidemic, Athens, Greece, 1927-1931. *Emerg Infect Dis* 18: 78-82.
- La Rushe G, Souares Y, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Delaunay P, Desprès P, Lenglet A, Jourdain F, Leparç-Goffart I, Charlet F, Ollier L, Mantey K, Mollet T, Fournier JP, Torrents R, Leitmeyer K, Hilairet P, Zeller H, Van Bortel W, Dejourn-Salamanca D, Grandadam M, Gastellu-Etchegorry M (2010). First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Euro Surveill* 15: 19676.
- Gjenero-Margan I, Aleraj B, Krajcar D, Lesnikar V, Klobučar A, Pem-Novosel I, Kurečić-Filipović S, Komparak S, Martić R, Duričić S, Betica-Radić L, Okmadžić J, Vilbić-Čavlek T, Babić-Erceg A, Turković B, Avsić-Zupane T, Radić I, Ljubić M, Sarac K, Benić N, Mlinarić-Galinović G (2011). Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010. *Euro Surveill* 16: 19805.
- Kurolt IC, Betica-Radić L, Daković-Rode O, Franco L, Zelená H, Tenorio A, Markotić A (2013). Molecular characterization of dengue virus 1 from autochthonous dengue fever cases in Croatia. *Clin Microbiol Infect* 19: E163-165.
- Almeida AP, Gonçalves YM, Novo MT, Sousa CA, Melim M, Grácio AJ (2007). Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Euro Surveill* 12: E071115.6.
- Costa L, Queiroz JS, Reis JF (1956). Notes on an entomological survey conducted in the city of Lisbon and outskirts (article in Portuguese). *Boletim dos Serviços de Saúde Pública*, III, 7-40.
- Sousa CA, Clairouin M, Seixas G, Viveiros B, Novo MT, Silva AC, Escoval MT, A Economopoulou A (2012). Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report. *Euro Surveill* 17: 20333.
- Parreira R, Conceição C, Centeno-Lima S, Marques N, Saraiva da Cunha J, Abreu C, Sá L, Sarmento A, Atouguia J, Moneti V, Azevedo T, Nina J, Mansinho K, Antunes A, Teodósio R, Nazareth T, Seixas J (2014a). Angola's 2013 dengue outbreak at a distance: clinical presentation, laboratory findings and molecular analysis from cases diagnosed in four Portuguese Institutions. *J Infect Dev Ctries* 8: 1210-1215.
- Parreira R, Centeno-Lima S, Lopes A, Portugal-Calisto D, Constantino A, Nina J (2014b). Dengue virus serotype 4 and chikungunya virus coinfection in a traveller returning from Luanda, Angola, January 2014. *Euro Surveill* 19: 20730.
- Seixas G, Salgueiro P, Silva AC, Campos M, Spenassatto C, Reyes-lugo M, Novo MT, Eduardo P, Ribolla M, Pinto J, Sousa CA (2013). *Aedes aegypti* on Madeira Island (Portugal): genetic variation of a recently introduced dengue vector. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 108(supl1): 1-8.
- Capinha C, Rocha J, Sousa CA (2014). Macroclimate Determines the Global Range Limit of *Aedes aegypti*. *Ecohealth* 11: 420-428.
- Nazareth T, Teodósio R, Porto G, Gonçalves L, Seixas G, Silva AC, Sousa CA (2014). Strengthening the perception-assessment tools for dengue prevention: a cross-sectional survey in a temperate region (Madeira, Portugal). *BMC Public Health* 15: 14-39.
- Nazareth TL, Sousa CA, Porto G, Gonçalves L, Seixas G, Antunes L, Silva AC, Teodósio R. Impact of a dengue outbreak experience in the preventive perceptions of the community from a temperate region: Madeira Island, Portugal. *PLOS Neglected Diseases (in press)*.
- Alves G (2014). New tools towards larval control of *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 in Funchal city, Madeira Island. MSC thesis. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa.