



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

BRUNO LOPES CARVALHO

**ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE SEIS
POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* DO DISTRITO FEDERAL AO
ANÁLOGO DE HORMÔNIO JUVENIL PYRIPROXYFEN**

BRASÍLIA

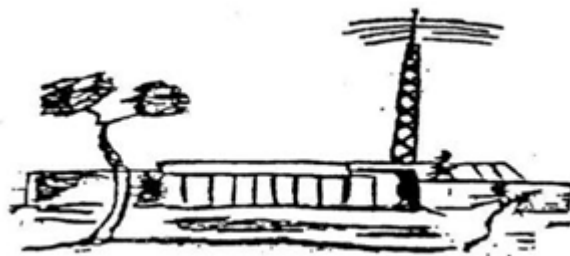
2018

ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE SEIS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* DO DISTRITO FEDERAL AO ANÁLOGO DE HORMÔNIO JUVENIL PYRIPROXYFEN

Bruno Lopes Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília para a obtenção do título de mestre em Medicina Tropical, na área de concentração: Biologia das doenças infecciosas e parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Takashi Obara



Brasília

2018

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

LL864a Lopes Carvalho, Bruno
Análise do perfil de suscetibilidade de seis populações de *Aedes aegypti* do Distrito Federal ao análogo de hormônio juvenil piriproxyfen / Bruno Lopes Carvalho; orientador Marcos Takashi Obara. -- Brasília, 2018.
141 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Medicina Tropical) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. *Aedes aegypti* . 2. Arboviroses . 3. Resistência . 4. Análogo de Hormônio Juvenil (IGR). 5. Piriproxyfen . I. Takashi Obara, Marcos, orient. II. Título.

**ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE SEIS
POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* DO DISTRITO FEDERAL AO
ANÁLOGO DE HORMÔNIO JUVENIL PYRIPROXYFEN**

Universidade de Brasília

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcos Takashi Obara (Orientador)

Universidade de Brasília

Prof. Dr. José Bento Pereira Lima (Titular)

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Entomologia
– FIOCRUZ – RJ

Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araújo (Titular)

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Rodrigo Gurgel Gonçalves (Suplente)

Universidade de Brasília - UnB

Brasília

2018

“Eu nunca vi algo selvagem ter pena de si mesmo, um pássaro cairá morto de um galho sem jamais ter sentido pena de si mesmo”.

(David Herbert Lawrence)

AGRADECIMENTOS

A Deus porque ele é bom; porque eterna é a sua misericórdia. Na tribulação invoquei o Senhor; ouviu-me o Senhor e me livrou. Comigo está o Senhor, nada temo. Ainda que os inimigos me assediassem de todos os lados, eu os esmagaria em nome do Senhor. Ainda que me envolvessem como um enxame de abelhas, como um braseiro de espinhos, eu os esmagaria em nome do Senhor. Forçaram-me violentamente para eu cair, mas o Senhor veio em meu auxílio. O Senhor é minha força, minha coragem; ele é meu Salvador. (Salmos, 117).

Aos meus pais, Antônio de Paulo e em especial a minha mãe, Maria Zulmira por ser a minha base, por nunca desistir e sempre cuidar de mim, por sempre se dedicar, rezar e me mostrar o verdadeiro valor do trabalho, da honra e da fé, a minha irmã, Katiana pelas mensagens de motivação e aos meus familiares.

A Aline Negreiros minha amiga, companheira, paixão e amor por sempre acreditar e me apoiar nos meus sonhos e objetivos.

Aos amigos que sempre estiveram presentes ao longo desta jornada e aos que estavam longe, mas sempre enviaram boas vibrações e energias. Obrigado!

Ao meu orientador, Prof. Marcos Takashi Obara, por acreditar no meu potencial, pelo respeito, pelos conselhos, ensinamentos, puxões de orelha, pela confiança e pela amizade. Jamais esquecerei a tão seleta frase. “Vai dar certo!!!”

A Katia Maria Leal Braga e Evaldo Rosano Ferreira de Araújo por abrirem as portas do laboratório de Entomologia médica do Ministério da Saúde CGLAB/SVS/MS, pelos ensinamentos, companheirismo e amizade. Obrigado!

A nossa bela e guerreira estagiaria Rayssa Nádia Leite Germano, que chegou ao final do segundo tempo e fez toda diferença. Meu mais sincero obrigado!

A Douglas de Almeida Rocha, pelo auxílio nas análises estatísticas, pelos conselhos, pelo incentivo e por me mostrar o verdadeiro mundo científico, assim como, um dia lhe mostraram também. Obrigado!

A toda equipe do Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores da Faculdade de Medicina da UnB, por sempre serem prestativos e me auxiliarem no que fosse preciso e ao Barbosa pela ajuda. Obrigado!

Aos colegas e amigos que adquiri no Núcleo de Medicina Tropical ao longo desses dois anos e meio, em especial, Virginia, Tauana, Tayane, Fábio e Felipe. Choramos, sorrimos, comemoramos, lutamos e vencemos. O convívio com vocês foi fundamental na minha formação acadêmica. Obrigado!

A toda equipe da secretaria do Núcleo de Medicina Tropical, em especial a Adhya Melo ex-estagiária, pelo carinho, respeito e preocupação e a secretária Lucia Martins pela competência, dedicação, respeito e por sempre está disposta ajudar. Obrigado pelos conselhos e pelas palavras de motivação.

Aos porteiros Carlos e Adriana e a equipe de limpeza pelo excelente trabalho, respeito, dedicação e ajuda quando necessário.

A Diretoria de Vigilância Ambiental (DIVAL) - Distrito Federal, em especial aos biólogos Israel Martins e Lorrainy Bartasson pelo auxílio, conselhos, motivação e suporte, e ao agente de controle de endemias Vladimir, pelo auxílio nos trabalhos de campo.

A ROGAMA/ NEOGEN® COMPANY e ao representante comercial da empresa, Murilo Amaral, por fornecer o produto químico, Pyriproxyfen grau técnico (97%).

A Fundação de Apoio a Pesquisa (FAP-DF), pela bolsa estudo concedida, pois foi de fundamental importância para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores, doutores, José Bento Pereira Lima, Wildo Navegantes de Araújo e Rodrigo Gurgel Gonçalves por aceitarem o convite de participarem da minha banca de defesa. Obrigado!

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de distribuição de casos de Febre Amarela (FA) Pág. 26 no mundo. Área branca: Não existe registro de casos de FA anteriormente; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de FA; Área azul: registro de casos importados de FA.
- Figura 2.** Mapa de ocorrência de casos de dengue no mundo. Pág. 28 Área branca: não existe relato de casos de dengue anteriormente; Área vermelha: ocorrência de casos de transmissão autóctone de dengue; Área azul: registro de casos importados de dengue.
- Figura 3.** Mapa de distribuição de casos de Febre Chikungunya Pág. 32 (CHIKV) no mundo. Área em branco: não existe registro de casos de CHIKV anteriormente; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de CHIKV; Área azul: registro de casos importados.
- Figura 4.** Mapa de distribuição de casos de ZIKA (ZIKV) no Pág. 34 mundo. Área em branco: não existe registro de casos de ZIKV; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de ZIKV; Área azul: ocorrência de casos importados de ZIKV.
- Figura 5.** Características e diferenciação das espículas Pág. 36 laterotorácicas quitinizadas de larvas de mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) e (A1) - espículas laterotorácicas bastante desenvolvidas; (B) e (B1) - espículas laterotorácicas pouco desenvolvidas.
- Figura 6.** Escamas do oitavo segmento abdominal de larvas de Pág. 37 *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) e (A1) – *Ae. aegypti*, escama com três espinhos bem definidos; (B) e (B1) – *Ae. albopictus*, espinho central em cada escama e borda serrilhada.
- Figura 7.** Porção terminal de pupas de mosquitos da espécie Pág. 37 *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) - palhetas natatórias de pupa de *Ae. aegypti*, possuem ausência de cílios; (B) – palheta natatória de

pupa de *Ae. albopictus*, presença de cílios.

Figura 8. Características morfológicas e dimorfismo sexual entre mosquitos da espécie *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) macho *Ae. aegypti*. (1) – escamas brancas em forma de lira no dorso torácico, (2) – antenas plumosas; (B) – fêmea *Ae. albopictus*. (1) – escamas brancas formando uma linha média no dorso torácico. (2) – antenas pilosas. Pág. 38

Figura 9. Mapa global da distribuição prevista de *Ae. aegypti*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência de 0 (azul) para menor probabilidade de ocorrência e para 1 (vermelho) para maior ocorrência. Pág. 40

Figura 10. Mapa global da distribuição prevista de *Ae. albopictus*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência de 0 (azul) para menor probabilidade de ocorrência e para 1 (vermelho) para maior ocorrência. Pág. 40

Figura 11. Mecanismo de ação do análogo de hormônio juvenil Pyriproxyfen (PPF), no processo de inibição de emergência da fase de pupa para adulto em culicídeos. Pág. 49

Figura 12. Mapa de distribuição mundial de realização de testes de suscetibilidade de populações de mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* as duas classes de inseticidas mais utilizadas no mundo organofosforados e piretróides, entre 2006 a 2015. Pág. 51

Figura 13. Mapa das Regiões Administrativas (RAs) onde foram realizadas as coletas de ovos de *Aedes aegypti* em Brasília/DF, no ano de 2017. Pág. 54

Figura 14. Armadilha do tipo ovitrampa usada para captura de ovos do mosquito *Aedes aegypti*. Pág. 61

Figura 15. A e B: Capim do gênero *Brachiaria* limpo e misturado a água; C e D: Vasilhame sendo coberto com tampa de madeira. Pág. 62

Figura 16. A e B: Armadilhas instaladas na área do Posto de Saúde da Vila Planalto; C: Armadilha suspensa no Jardim de uma residência do Lago Norte; D: Quintal de uma residência do Setor de Chácaras no Varjão; E: Quintal de uma residência da Vila Planalto; F: Armadilha instalada no curral dos Cabritos próximo ao galinheiro no RCG; G e H: Quintal característico (ambiente limpo) na cidade de Vila Planalto. Pág. 63

Figura 17. Palhetas acondicionadas em isopores térmicos e organizadas em grades de metal para transporte do campo até o Laboratório de Entomologia Médica/SVS/MS. Pág. 64

Figura 18. Classificação dos ovos de *Ae. aegypti* recolhidos das armadilhas em viáveis, eclodidos e murchos. Pág. 65

Figura 19. Procedimentos para eclosão dos ovos após a secagem e alimentação das larvas de *Ae. aegypti*. Pág. 66

Figura 20. A) Bandeja com larvas após eclosão dos ovos; B) Becker com larvas de 3° e 4° estágio selecionadas para formação das colônias; C) Gaiola de acrílico transparente utilizada para criação das colônias de mosquito; D) Alimentação dos mosquitos com galinha. Pág. 67

Figura 21. Esquema para preparo da solução mãe do grau técnico de PPF. Pág. 68

Figura 22. Esquema de montagem dos bioensaios, conforme orientação de WHO (1981). Pág. 70

Figura 23. A) larvas de 3° e 4° estágio em repouso antes da montagem do teste; B) Copos com as diluições das concentrações de PPF diluídas; C) Copos já com as larvas de 3° e 4° estágios e cobertos com tecido do tipo filó para evitar escape de adultos emergidos; D) Sala climatizada onde os testes foram realizados. Pág. 72

Figura 24 – Índice de Positividade de Ovitampas (IPO) e Índice de Densidade de Ovos (IDO) por armadilha positiva em seis áreas do DF, entre janeiro a abril de 2017. Pág. 73

Figura 25. Distribuição média da Inibição de Emergência de pupas Pág. 78

da espécie *Aedes aegypti*, em ordem decrescente, expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, Distrito Federal, em 2018.

Figura 26. Distribuição média da Inibição de Emergência de pupas da espécie *Aedes aegypti*, em ordem decrescente, expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, Distrito Federal, em 2018. Pág. 79

Figura 27. Distribuição média da Inibição de Emergência de pupas da espécie *Aedes aegypti*, em ordem decrescente, expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, Distrito Federal, em 2018. Pág. 82

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Inseticidas recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Pág. 46
- Tabela 2.** Distribuição do número de ovos viáveis, murchos e eclodidos de fêmeas de *Aedes aegypti* coletados em seis áreas do Distrito Federal, entre janeiro a abril de 2017. Pág. 77
- Tabela 3.** Inibição de emergência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018. Pág. 81
- Tabela 4.** Concentração de Inibição e Razão de Resistência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018. Pág. 84
- Tabela 5.** Distribuição média da mortalidade de larvas e pupas de populações de *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses de PPF, em 2018. Pág. 85
- Tabela 6.** Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Vila Planalto, Granja do Torto e RCG, em julho de 2018. Pág. 87
- Tabela 7.** Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Lago Norte, Varjão e SUAG em julho de 2018. Pág. 88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FA	Febre Amarela
FAU	Febre Amarela Urbana
FAS	Febre Amarela Silvestre
DENV	Dengue Vírus
OMS	Organização Mundial de Saúde
MS	Ministério da Saúde
CHIKV	Chikungunya Vírus
ZIKV	Zika Vírus
ESPII	Estado de Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
RSI	Regulamento Sanitário Internacional
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
DDT	Dicloro-Difenil-Tricloro-Etano
OPAS	Organização Mundial de Saúde
PEAa	Programa de Erradicação do <i>Aedes aegypti</i>
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
UBV	Ultra Baixo Volume
GABA	ácido gama-aminobutírico
CL	Controle Legal
ACE	Agente de Controle de Endemias
ESPIN	Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional
PPF	Pyriproxyfen
BTi	Bacillus thuringiensis israelensis

IGR	Insect Growth Regulator
HCE	Hormônio de Crescimento Ecdisona
HJ	Hormônio Juvenil
L	Larvas
FAO	Food and nutrition
GTS	Glutathione S-transferases
VGSC	Canal de Sódio Dependente de Voltagem
DF	Distrito Federal
IPO	Índice de Positividade de Ovos
IDO	Índice de Densidade de Ovos
IE	Inibição de Emergência
RR	Razão de Resistência
CI	Concentração de Inibição
TL	Tempo Letal
RA	Região Administrativa
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
DIVAL	Diretoria de Vigilância Ambiental
SES	Secretaria Estadual de Saúde
MoReNAa	Rede Nacional de Monitoramento da Resistência de <i>Ae. aegypti</i> a Inseticidas
GEVAC	Gerência de Vigilância Ambiental de Vetores e Animais Peçonhentos e Ações de Campo
RCG	Regimento de Cavalaria de Guardas
SUAG	Subsecretaria de Justiça do Distrito Federal
NMT	Núcleo de Medicina Tropical

UNB	Universidade de Brasília
CRAS	Centro de Referência de Assistência Social
ML	Mortalidade de Larvas
MP	Mortalidade de Pupas
Lm	Larvas mortas
Lexp	Larvas expostas
Pm	Pupas mortas
T	Total
Ppb	Partícula por bilhão
SS	Salvador
BA	Bahia
BR	Bauru
MFO	monooxigenases
GST	glutathione S-transferases
DD	Dose Diagnostica
TM	Taxa de Mortalidade

FINANCIAMENTO

Apoio financeiro da Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal - Governo do Distrito Federal (FAP/DF) e bolsa de Demanda Social da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	24
1.1 Histórico Epidemiológico da Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika	24
1.1.1 Febre Amarela	24
1.1.2 Dengue	27
1.1.3 Chikungunya	30
1.1.4 Zika vírus	33
1.2 <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	35
1.3 Controle da espécie <i>Aedes aegypti</i>	42
1.3.1 Reguladores de Crescimento ou Insect Growth Regulator (IGR)	47
1.4 Resistência de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas utilizados no seu controle	50
2 JUSTIFICATIVA	57
3 OBJETIVO	59
3.1 Objetivo geral	59
3.2 Objetivos específicos	59
4 MATERIAIS E MÉTODOS	60
4.1 Área de estudo	60
4.2 Definição das populações de estudo	60
4.3 Obtenção das amostras de campo	61
4.4 Preparo da Infusão de Feno	62
4.5 Instalação das armadilhas ovitrampas	63

4.6 Identificação e contagem de ovos	65
4.7 Criação e manutenção das colônias	66
4.8 População Suscetível	68
4.9 Produto químico	69
4.10 Preparo das soluções para os bioensaios biológicos	69
4.11 Bioensaio biológico	70
4.12 Análise dos dados	73
5 RESULTADOS	76
5.1 Classificação das amostras de ovos <i>Ae. aegypti</i>	76
5.2 Índice de Positividade e Densidade de Ovos de <i>Ae. aegypti</i>	78
5.3 Inibição de Emergência de populações de <i>Ae. aegypti</i> do campo	79
5.4 Concentração de Inibição, Dose Diagnóstico e Razão de Resistência de populações de <i>Ae. aegypti</i> tratados com PPF	83
5.5 Mortalidade de larvas e pupas de populações de <i>Ae. aegypti</i>	85
5.6 Tempo Letal 50% das populações de referência e as populações da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG oriundas do campo.	86
6 DISCUSSÃO	89
6.1 Índice de Positividade de Ovos (IPO) e índice de Densidade de Ovos de populações de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> das áreas estudadas	89
6.2 Inibição de Emergência de populações de <i>Ae. aegypti</i> de campo	92
6.3 Razão de Resistência (RR) e Concentrações de Inibição (CI) de populações de <i>Ae. aegypti</i> expostas ao PPF	93
6.4 Taxa de mortalidade de larvas e pupas de populações da espécie <i>Ae. aegypti</i> tratados com diferentes doses de PPF	95
6.5 Tempo Letal (TL) 50% E 90% de populações de <i>Ae. aegypti</i> expostas ao	96

análogo de hormônio juvenil PPF

7 CONCLUSÕES	99
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
APÊNDICE 1	117
ARTIGO DA DISSERTAÇÃO	118

Autor: Bruno Lopes Carvalho

Título: Análise do perfil de suscetibilidade de seis populações de *Aedes aegypti* do Distrito Federal ao análogo de hormônio juvenil pyriproxyfen

Curso: Pós-Graduação em Medicina Tropical - Universidade de Brasília.

Defesa: 27 de julho de 2018.

Orientador: Marcos Takashi Obara.

RESUMO

Introdução: Arboviroses são doenças causadas por arbovírus, entre elas podemos destacar a Febre Amarela (FA), Dengue, Chikungunya e Zika vírus. Esses vírus podem ser transmitidos por meio da picada da fêmea de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Historicamente, o controle da espécie *Aedes aegypti* – principal transmissor do vírus da dengue, chikungunya e zika foi realizado com o organoclorado diclorodifeniltricloreto (DDT), organofosforados (malathion, fenitrothion e temephos), carbamato (bendiocarb), piretróides (cipermetrina, deltametrina e alfacipermetrina), inseticidas reguladores de crescimento (IGR) (diflubenzuron, novaluron) e mais recentemente pyriproxyfen (PPF). Em 2016 o Distrito Federal (DF) começou a utilizar o PPF no controle de fase imatura do mosquito *Ae. aegypti*. Apesar do uso recente já existe registro de resistência moderada de *Ae. aegypti* ao IGR methoprene, em 2015, na Malásia. Objetivo: Analisar o perfil de suscetibilidade de seis populações da espécie *Ae. aegypti* ao PPF, oriundas de seis regiões do Distrito Federal. Métodos: Ovos do mosquito *Ae. aegypti* foram coletados de seis áreas (Vila Planalto, Granja do Torto, Regimento de Cavalaria de Guardas (RCG), Lago Norte, Varjão e Subsecretaria de Justiça do Distrito Federal (SUAG- DF) por meio de armadilhas ovitrampas e submetidos ao tratamento e avaliação de suscetibilidade ao PPF. As larvas de 3º e 4º estádios da geração F1 foram expostas as concentrações de 0,0001; 0,0005; 0,0007; 0,001; 0,005; 0,007; 0,01 e 0,03 µg/ml de PPF grau técnico. Os bioensaios foram realizados em triplicatas em dias alternados e o registro de mortalidade realizado a cada 48 horas. O grupo controle foi tratado com 1 ml de álcool. Resultados: Foram

expostas um total de 15.120 larvas do mosquito *Ae. aegypti*. De modo geral, as populações procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG apresentaram suscetibilidade ao PPF, conforme mostra os valores da Inibição de Emergência (IE) que obtiveram média geral acima de 50%. A população de referência obteve IE de 99% e Concentração de Inibição (CI) 99% de 0,4 µg/ml. A dose-diagnóstica (DD) deste estudo foi de 0,8 µg/ml. A mortalidade de larvas e pupas foi de 1,1% a 3,0% e 54,6% a 72,8%, respectivamente. A Razão de Resistência (RR) foi de 0,8 para Vila Planalto e RCG; 4,0 para a população do Varjão; 5,0 para SUAG; 7,0 para o Lago Norte e 11,0 para Granja do Torto. Apesar de três populações terem apresentado RR altas, quando estas expostas a Dose Diagnostico (DD) de 0,8 µg/m, as mesmas provavelmente serão suscetíveis ao PPF. Por fim, sugere-se a utilização da TL50%=102 horas da população de referência Rockefeller com dose de 0,03 µg/ml como parâmetro comparativo para detectar alterações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* de campo. Conclusão: As seis populações de mosquito *Ae. aegypti* do Distrito Federal apresentaram elevado nível de suscetibilidade ao PPF. No entanto, novas áreas do DF necessitam ser monitoradas ao longo do tempo, em relação à alteração de suscetibilidade da principal espécie transmissora de arboviroses no Brasil – *Ae. aegypti*.

Palavra-chave: *Aedes aegypti*, suscetibilidade, resistência, pyriproxyfen, IGR

ABSTRACT

Arboviroses are diseases caused by an arbovirus; among them, we can highlight Yellow fever, dengue, Chikungunya and Zika virus. These viruses are transmitted through the bite of the female species of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. Historically, the control of *Aedes aegypti* species, the main transmitter of dengue, chikungunya and Zika was done using dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), organophosphates (malathion, fenitrothion and temephos), carbamate (bendiocarb), pyrethroids (cypermethrin, deltamethrin and alphacypermethrin), insecticides that are insect growth regulators (IGR) (diflubenzuron, novaluron) and recently pyriproxyfen (PPF). In 2016, PPF started being used in Distrito Federal (DF). Despite its recent use, moderate resistance has been registered of *Ae. aegypti* to IGR methoprene in 2015 in Malaysia. Objective: Analyze the susceptibility profile of six populations of the species *Ae. aegypti* to PPF, in Distrito Federal. Methods: The *Ae. aegypti* mosquito eggs were collected from six areas (Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão and SUAG) by means of traps ovitraps and subjected to treatment with PPF. The larvae of 3rd and 4th stages of F1 generation were exposed to concentrations of 0.0001, 0.0005, 0.0007; 0.001; 0.005; 0.007; 0.01 and 0.03 µg/ml of PPF. The bioassays were carried out in triplicate on alternate days and the record of mortality performed every 48 hours. The control group was treated with 1 ml of alcohol. Results: A total of 15.120 of *Ae. aegypti* mosquito larvae were exposed. Overall, the populations from Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão and SUAG showed susceptibility to PPF, as shown by the values of the Emergency Inhibition (SI) that obtained a general average above 50%. The reference population had 99% IE and concentration of inhibition (99% CI) of 0.4 µg/ml. The diagnostic dose (DD) in this study was 0.8 µg/ml. The mortality of larvae and pupae was 1.1% to 3.0% and 54.6% to 72.8%, respectively. The resistance ratio (RR) was 0.8 for Vila Planalto and RCG; 4.0 for the population of Varjão; 5.0 for SUAG; 7.0 for Lago Norte and 11.0 for Granja do Torto. Despite these latter populations present RR values above 10, when exposed to DD (0.8 µg/ml) and the concentrations of the commercial product of PPF (Sumilarv® 0.5 G) they will have 100% of IE. Finally,

it is suggested the use of TL50%=102 hours of reference population of Rockefeller with dose of 0,03 µg/ml as comparative parameter to detect changes in susceptibility in populations of the *Ae. aegypti* species Conclusion: The six mosquito populations of *Ae. aegypti* in Distrito Federal showed a high level of susceptibility to PPF. However, new areas of DF need to be monitored, in relation to the changes of susceptibility of the main species that transmit arboviroses in Brazil - *Ae. aegypti*.

Key words: *Aedes aegypti*, susceptibility, resistance, pyriproxyfen, Insect Growth Regulator

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico Epidemiológico da Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika

Os vírus transmitidos por artrópodes são denominados de “arbovírus”, são responsáveis por doenças de grande importância para saúde pública no Brasil e no mundo, tais como, Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika devido ao grande impacto produzido na saúde e na economia (OPAS/OMS, 2016; Camara, 2016; Renteria et al., 2016), principalmente em países tropicais e subtropicais. Leta et al. (2017) relataram a ocorrência de ao menos uma das doenças produzidas por estes arbovírus em 146 países e ocorrência de múltiplas doenças em 123 destes países, sendo seus principais vetores os mosquitos da espécie *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), pertencentes a ordem Diptera e família Culicidae (Oliveira, 2014).

1.1.1 Febre Amarela

A Febre Amarela (FA) é uma doença de caráter infeccioso e febril aguda, causada por vírus da família Flaviviridae, pertencentes ao gênero *Flavivirus*, na qual é transmitida pela picada de mosquitos silvestres dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e urbanos – *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (TERRA et al., 2017). Essa doença possui dois ciclos distintos: um ciclo silvestre, onde o vírus circula entre hospedeiros primatas não humanos e mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* e outro ciclo urbano, no qual o homem é o único hospedeiro, sendo o mosquito *Ae. aegypti* - vetor principal,

em função da sua característica urbana (Vasconcelos, 2003; Oliveira, 2014). A Febre Amarela Urbana (FAU) possui enorme potencial de disseminação em áreas urbanas infestadas por mosquitos da espécie *Ae. aegypti*, possuindo importância epidemiológica, devido sua gravidade clínica (Shearer et al., 2018; WHO, 2013).

O primeiro relato de uma doença com características similares a FA data de 1495, em Hispaniola, nas ilhas das Antilhas. Em 1600, uma doença conhecida como “peste negra” ou “vômito de sangue” acometia populações que residiam nas cidades portuárias do Caribe, sendo também relatada em cidades da Europa, situadas da costa do Mediterrâneo. Porém, foi em 1647, em Barbados que o primeiro surto de FA foi registrado, depois disso ao longo dos séculos grandes surtos foram registrados no Sul dos Estados Unidos, América Central e América do Sul (Holbrook, 2017).

Em 1954, a Febre Amarela Urbana (FAU) foi eliminada da América, mas ainda persiste na África (Vasconcelos, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1990 foram registrados 200.000 casos com estimativa de 30.000 mortes por ano em todo o globo terrestre, sendo 90% somente na África. Em 2013 foram registrados somente na África cerca 170.000 casos e cerca de 60.000 mortes (WHO, 2013).

O primeiro registro de epidemia de FA no Brasil foi de 1685, em Recife, estado de Pernambuco. Com as campanhas sanitárias iniciadas por Oswaldo Cruz, em 1903, o Brasil conseguiu eliminar a FAU em 1942. Desde então não foi registrado casos no território brasileiro, sendo registrados apenas casos relacionados à Febre Amarela Silvestre (FAS), mas devido aos altos níveis de infestação do mosquito *Ae. aegypti* próximos as áreas de risco, existe a preocupação de reemergência da FAU (Tauil, 2010; Costa et al., 2011).

Ocasionalmente em períodos irregulares o ciclo de transmissão de FAS reemerge no Brasil. Nos últimos três anos houveram dois grandes surtos, segundo o Boletim Epidemiológico de Febre Amarela (FA). O primeiro foi no período de dezembro de 2016 a julho de 2017, onde foram notificados ao Ministério da Saúde (MS) 3.564 casos suspeitos de FAS, sendo que 777 casos foram confirmados, destes 516 evoluíram para a cura e 261

foram a óbito (Brasil, 2017). O segundo grande surto foi no período de julho de 2017 a março de 2018, onde o Brasil registrou 4.102 casos suspeitos, destes 920 foram casos confirmados e 300 óbitos. Esse surto chamou a atenção quanto ao risco de um possível surto de FAU, segundo Gossner et al. (2018).

Atualmente, a FA está distribuída principalmente na África e América, onde ocorre transmissão autóctone. Essa doença foi notificada em 30 países da África e em 13 países da América, sendo também relatados casos importados na Europa, Ásia e Oceania (Leta et al., 2017) (Fig.1).

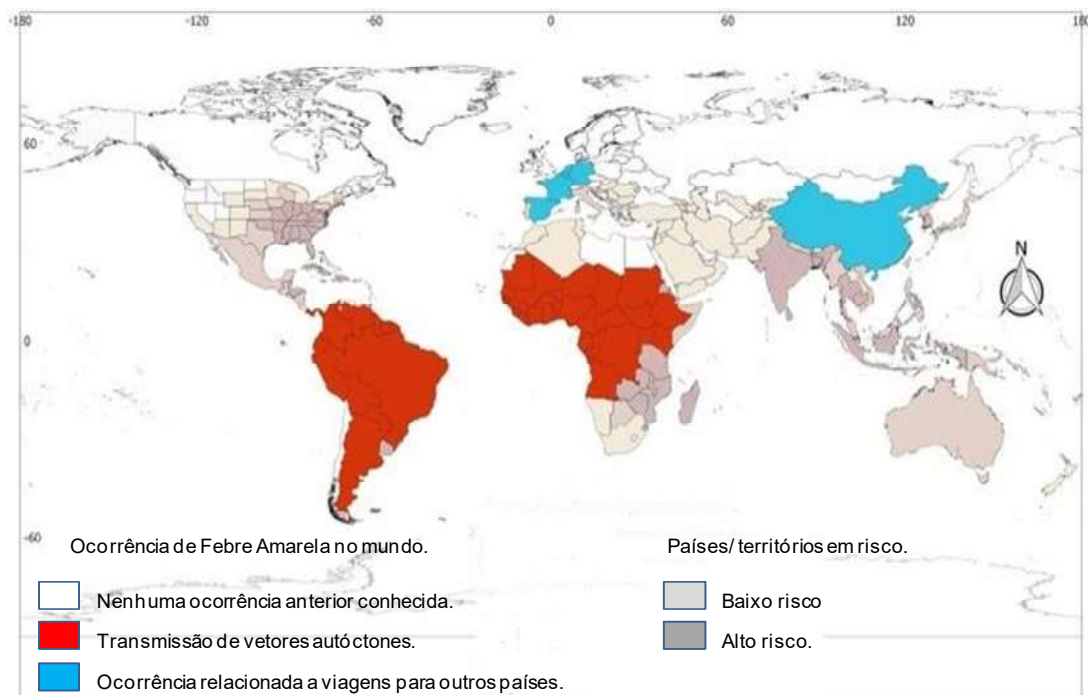


Figura 1. Mapa de distribuição de casos de Febre Amarela (FA) no mundo. Área branca: Não existe registro de casos de FA anteriormente; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de FA; Área azul: registro de casos importados de FA. Fonte: Leta et al. (2017).

1.1.2 Dengue

O vírus da dengue pertence ao gênero *Flavivirus* da família Flaviviridae. Possui ampla distribuição global, sendo encontrado em todos os continentes com quatro diferentes sorotipos circulantes (DENV 1, 2, 3 e 4). Em 2007, durante o surto de dengue, em Bornéu, cientistas conseguiram isolar um quinto sorotipo em amostra de sangue humano, mas que não se propagou em ciclo contínuo de transmissão em humanos, porém existe a suspeita do vírus DENV 5 circular em primatas não humanos da região (Normile, 2013; Medeiros et al., 2018).

O primeiro registro de uma doença clinicamente compatível com a dengue data entre 265 a 420 d.C, registrado em uma enciclopédia chinesa. Outros relatos semelhantes ocorreram, em 1635, nas Antilhas Francesas, 1699 no Panamá e posteriormente, em 1779 e 1780, nos continentes da Ásia, África e América do Norte. Após a Segunda Guerra Mundial as grandes epidemias começaram a surgir, tornando-se um problema de saúde mundial (Gluber, 1998).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a taxa de incidência da dengue aumentou em todo o mundo, nas últimas décadas. Estima-se que cerca de 3,9 milhões de pessoas são infectadas e que aproximadamente 390 milhões de pessoas, em 128 países estejam em área de risco (Bratt et al., 2013; Brady et al., 2012; WHO, 2017).

Atualmente, 111 países relataram transmissão autóctone pelo vírus da dengue, sendo o continente africano e as Américas responsáveis pelo maior número de relatos. Ainda, diversos países da Ásia e Oceania também relataram casos de transmissão autóctone e outros 16 países da Europa relataram casos importados (Leta et al., 2017) (Fig. 2).

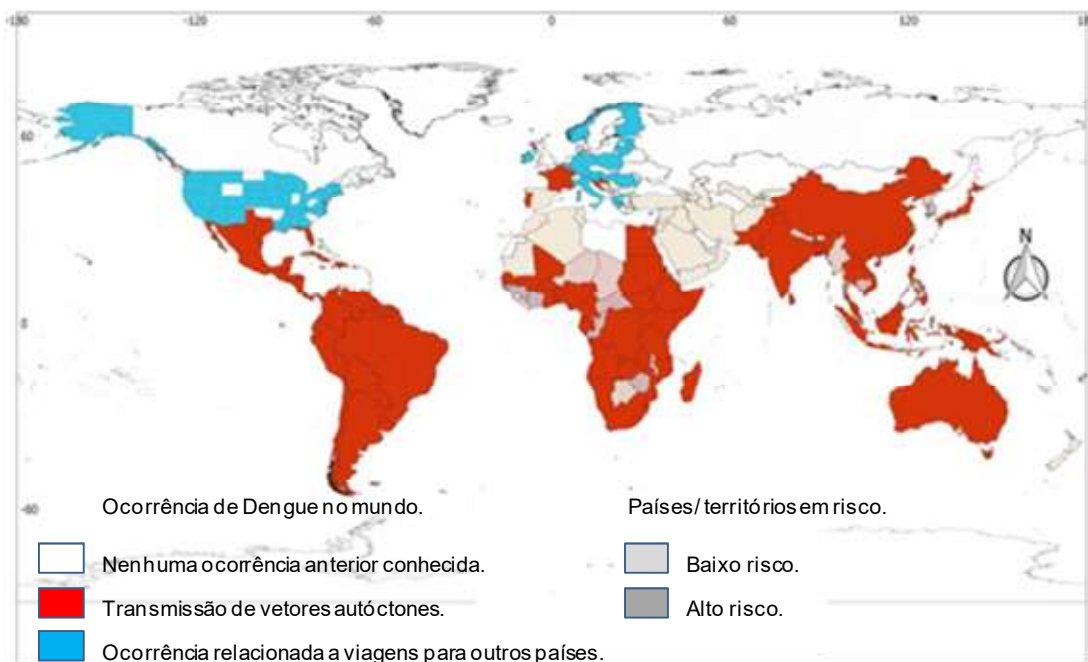


Figura 2. Mapa de ocorrência de casos de dengue no mundo. Área branca: não existe relato de casos de dengue anteriormente; Área vermelha: ocorrência de casos de transmissão autóctone de dengue; Área azul: registro de casos importados de dengue. Fonte: Leta et al. (2017)

Conforme Dick et al. (2012), as primeiras epidemias de dengue nas Américas datam do século XVI, posteriormente diversos surtos foram associados à dengue em todas as Américas, desde os Estados Unidos até a Argentina, porém, não é possível afirmar se todas estas epidemias foram associadas com a dengue, uma vez que diversas moléstias tem características clínicas semelhantes, na qual podem ser confundidas. No entanto, foi somente na década de 1940 que o vírus da dengue foi isolado pela primeira vez, quando os surtos da doença foram registrados com mais precisão.

Entre os anos de 1947 a 1970, houve uma redução drástica do número de casos de dengue nas Américas, devido às campanhas que visavam à erradicação do vetor – *Aedes aegypti*, devido a Febre Amarela Urbana (Dick et al., 2012). Nas Américas, durante o período de 2011 a 2017 foram registrados cerca de 3,5 milhões de casos de dengue, 600 mil casos graves e 2000 óbitos aproximadamente, com taxa de incidência de 35 casos por 100 mil habitantes (Brasil, 2017; Salles et al., 2018).

No Brasil, o registro mais antigo de casos de dengue é do período colonial, no século XVIII, quando vários estados foram atingidos por surtos de dengue, sendo São Paulo e Rio de Janeiro os estados mais afetados (Tauil, 2002; Catão & Guimarães, 2011; Terra et al., 2017).

O Brasil conseguiu eliminar o mosquito *Ae. aegypti* na década de 1950, contudo, entre os anos de 1971 a 1980 houve a reintrodução do mosquito *Ae. aegypti* por consequência das falhas nos programas de controle. Tal fato, levou ao crescimento alarmante de surtos e epidemias de dengue ocorrendo uma primeira epidemia de dengue pós erradicação em Roraima, em 1982, depois no Rio de Janeiro, em 1986 e espalhando-se por todo o território nacional, atingindo enormes proporções na década de 1990. Somente nas grandes capitais brasileiras foram registrados 40.279 casos de dengue hemorrágica, devido a introdução de novos sorotipos como DENV2 e DENV3, afetando principalmente a Região Nordeste (Dick et al., 2012; Salles et al., 2018).

Até o ano de 1990, eram poucos os eventos (surtos e epidemias) que eram registrados, sendo mais restrito nas regiões Sudeste e Nordeste. Durante as décadas de 1980 e 1990 três grandes epidemias podem ser destacadas, sendo a primeira entre os anos de 1986 e 1987, com incidências de 35.2 e 65.1 casos por 100 mil habitantes, respectivamente. A segunda entre 1990 e 1991, onde foram registradas taxas de incidências de 249.1 e 613.8 casos por 100 mil habitantes e a terceira que ocorreu entre 1994 e 1998, na qual a taxa de incidência manteve-se alta, chegando a 352.4 casos por 100 habitantes. Posteriormente, entre 2000 e 2006, foi notificada uma média de 2.1 milhões de casos, sendo que ano de 2002 houve o maior registro com média de 550.000 notificações (Brasil, 1999; Brasil, 2001; Brasil, 2013).

Em 2010 foram relatados os primeiros casos de DENV4 no Brasil, no qual foram notificados 1.011.548 casos de dengue grave e 300 óbitos (Brasil, 2017; Salles, 2018). Segundo os boletins epidemiológicos do Ministério da Saúde (MS) foram registrados entre 2011 e 2017 cerca de 6 milhões de casos prováveis de dengue no Brasil, sendo que em 2013, 2015 e 2016 apresentaram os maiores registros de casos prováveis, 2013 - 1.452.489 casos

prováveis e incidência de 14,5/100 mil habitantes, 2015 – 1.649.008 casos prováveis e incidência de 16,4/100 mil habitantes e em 2016 – 1.483.623 casos prováveis com incidência de 14,8/100 mil habitantes (Brasil, 2012; Brasil, 2013; Brasil, 2014; Brasil, 2015; Brasil, 2016; Brasil, 2017).

Segundo o boletim epidemiológico do MS, até o mês de junho de 2018 foi registrado 110.291 casos prováveis de dengue em todo o país, com uma incidência de 53 casos/100.000 habitantes, sendo que 42.329 (41,6%) foram confirmados (Brasil, 2018).

1.1.3 Chikungunya

A febre Chikungunya é uma doença viral que tem como agente etiológico vírus do gênero *Alphavirus* da família Togaviridae, existindo atualmente quatro genótipos do vírus CHIKV, linhagem Leste-Centro-Sul-África, África Ocidental, Ásia e Oceano Índico e sua transmissão ocorre em dois ciclos distintos: i) ciclo enzoótico/silvestre, transmitido por mosquitos do gênero *Aedes* a primatas não humanos, principalmente na África e ii) ciclo urbano que tem como vetores os mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* que transmitem ao homem (Vignuzzi & Higgs, 2017; Tauil, 2014).

Segundo Kuno (2015) o primeiro registro de uma doença com características similares a febre Chikungunya foi de 1658, na cidade do Cairo, no Egito. Até o ano de 1948 diversos outros surtos foram relatados em vários países na África, Ásia, Oceania e América do Norte, todos relacionados a casos de febre com sintomas parecidos com Chikungunya. Mas foi somente em 1952, durante um surto que durou até 1953, na Tanzânia, Leste da África que o primeiro registro de Chikungunya aconteceu, pois foi durante este surto que os cientistas conseguiram isolar o vírus pela primeira vez (Ross, 1956).

Após o surto de 1952 na Tanzânia, o vírus se espalhou pelo continente africano e posteriormente para Índia, onde gerou surtos em Calcutá e Chennai, em 1963 e 1965, respectivamente (Paixão et al., 2018). O vírus desapareceu por um curto período de tempo e ressurgiu novamente na década de 2000, e em 2004 um grande surto atingiu a Quênia acometendo milhares de pessoas e o vírus migrou para as Ilhas do Oceano Índico gerando uma grande epidemia e mutação no vírus. Posteriormente, em 2007, mais de 1.000 casos importados foram detectados, na Europa e América. Neste mesmo ano, ocorreu o primeiro caso de transmissão autóctone na Itália, desencadeando o primeiro surto na Europa, e em 2011 um grande surto atingiu a República do Congo com mais de 11.000 casos (Lalle et al., 2013).

No ano de 2013, o vírus foi introduzido na Ilha de Saint Martin no Caribe que conseguiu se espelhar muito rápido, atingindo mais de 40 países das Américas do Sul e Norte gerando grandes surtos com uma taxa de incidência de 25,45 por 100.000 habitantes (Vignuzzi & Higgs, 2017).

Atualmente, o vírus CHIKV vem se espalhando em quase todo o território do globo, sendo a segunda doença transmitida por mosquitos, mais amplamente distribuída, sendo relatados casos autóctones em 106 países, da África, Ásia, Américas, Europa, Golfo e Pacífico/Oceania (Leta et al., 2017) (Fig.3)

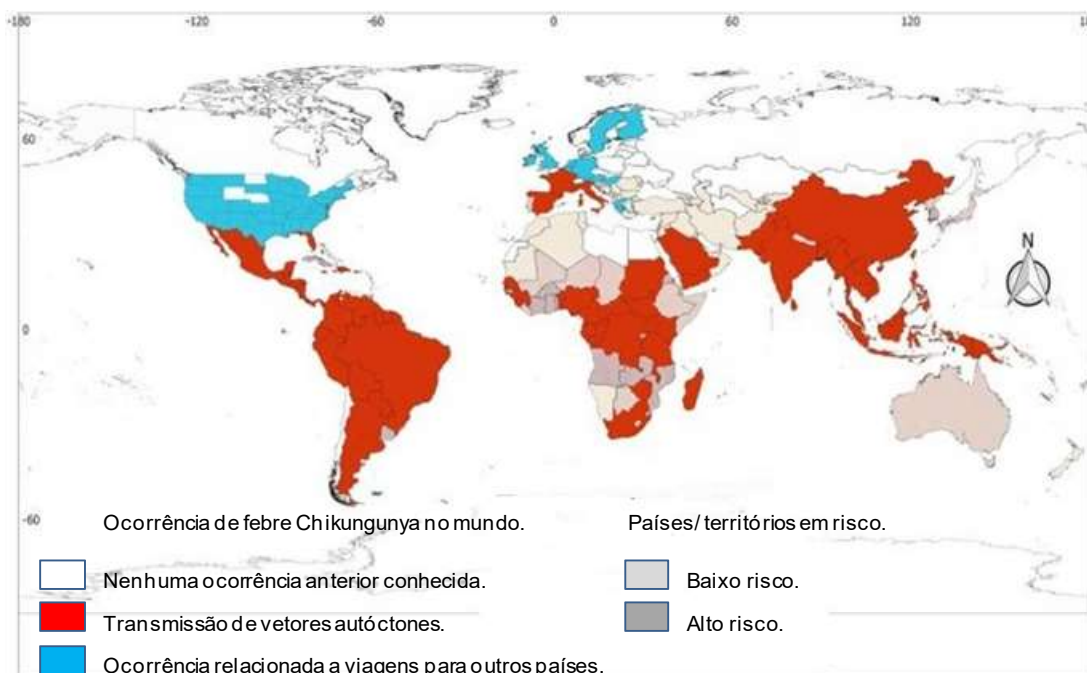


Figura 3. Mapa de distribuição de casos de Febre Chikungunya no mundo. Área em branco: não existe registro de casos de Chikungunya anteriormente; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de Chikungunya; Área azul: registro de casos importados. Fonte: Leta et al. (2017)

Em 2014, o vírus CHIKV chegou ao Brasil e foram registrados os primeiros casos de transmissão autóctones detectados nos estados do Amapá e Bahia. Durante este mesmo ano, foram registrados 2.772 casos confirmados em seis Unidades Federativas do país (Honório et al., 2015; Cavalcanti et al., 2017; Marques et al., 2017).

Já em 2015 esse número aumentou para 38.449 casos prováveis e 13.236 casos confirmados com uma taxa de incidência de 18,8 casos por 100 mil habitantes, distribuído em 704 municípios (Brasil, 2016). No ano seguinte, o número de casos chegou a 277.882 casos prováveis e 151.318 confirmados, com uma taxa de incidência de 133,0 casos por 100 mil habitantes com registros em 2.829 municípios (Brasil, 2017).

Em 2017, houve uma redução nos números de casos em comparação com 2016, sendo 185.854 casos prováveis e 52.285 confirmados, com uma taxa de incidência de 90,1 casos por 100 mil habitantes. Atualmente

até maio de 2018 foram registrados 26.475 casos prováveis e 15.684 casos confirmados e uma taxa de incidência de 12,7 casos por 100 mil habitantes distribuídos em quase todo o território nacional (Brasil, 2018).

A dispersão do vírus no território brasileiro deu-se principalmente pelo fato do Brasil ter uma ampla distribuição de populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em seu território com alto grau de competência vetorial para Chikungunya (Honório et al., 2015).

1.1.4 Zika vírus

A febre ZIKA é uma doença viral causada pelo Vírus Zika (ZIKV) pertencente à família Flaviviridae e ao gênero *Flavivirus*, que tem como seu principal vetor o mosquito da espécie *Ae. aegypti*. Esse vírus foi identificado pela primeira vez, em 1947, quando foi isolado de um macaco sentinela *Rhesus (Macaca mulatta)* por cientistas do Laboratório de Pesquisas de Febre (LPF) na floresta de Zika, em Uganda, África. Após sete anos, foi registrado o primeiro caso de infecção do vírus em humanos, na Nigéria. Após isso, inúmeros casos dispersos foram relatados dentro de um período de 50 anos (Chang et al., 2016).

Em 2007, um surto atingiu a ilha de Yap, localizada no Oceano Pacífico Ocidental, o primeiro fora do continente africano, no qual, foram registrados 49 casos e em 2013, outro surto, agora de proporções maiores, atingiu a Polinésia Francesa, também localizada no Oceano Pacífico, estimando-se cerca de 28.000 casos. Em 2014 o vírus começou a migrar para o Leste da Oceania e logo depois para a América do Sul, onde foram registrados milhares de casos principalmente no Brasil, Colômbia e Venezuela (Imperato, 2016; Chang et al., 2016).

Os primeiros casos autóctones de ZIKV identificados no Brasil ocorreram em meados de março de 2015, oito meses após os primeiros registros de CHIKV em território brasileiro (Valle et al., 2016). Esse surto teve início no estado da Bahia e espalhou-se rapidamente para o restante do país (Malta, 2017). No continente africano 14 países relataram casos autóctones da doença; nas Américas com exceção dos Estados Unidos e Canadá, quase todos os demais países relataram casos da doença. Na Ásia a doença foi registrada em alguns países do sudeste asiático e subcontinente indiano e grandes surtos na Oceania. Na Europa oito países relataram casos importados. Outros 215 países não relataram casos, mas tem grande potencial devido à presença do seu principal vetor o mosquito *Ae. aegypti* (Leta et al., 2017) (Fig. 4).

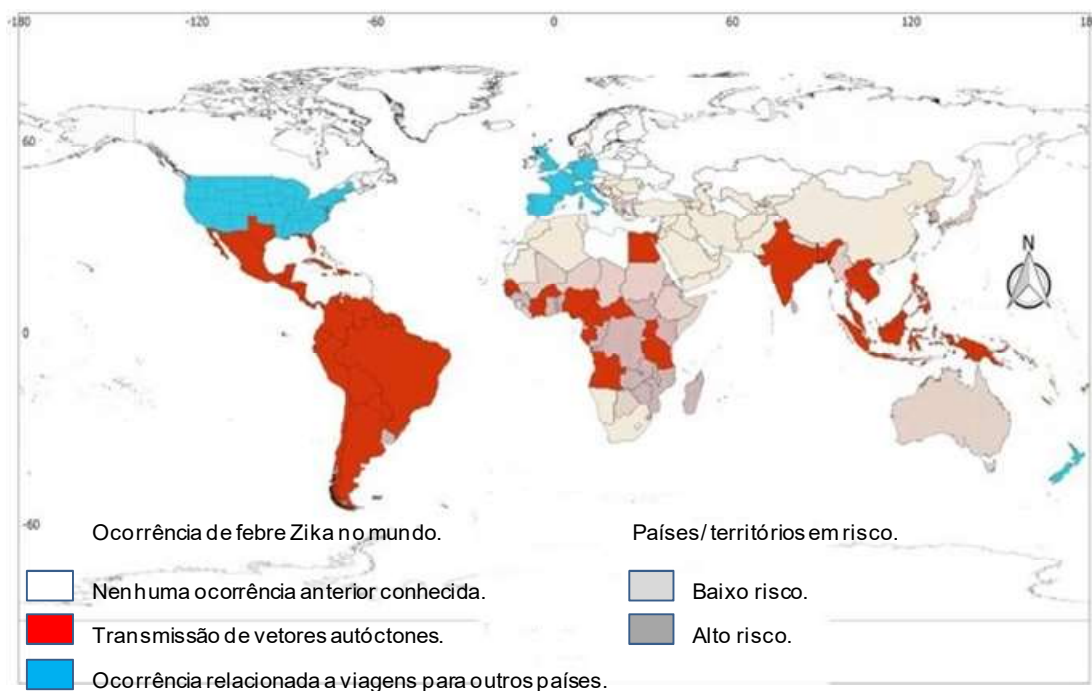


Figura 4. Mapa de distribuição de casos de ZIKA (ZIKV) no mundo. Área em branco: não existe registro de casos de ZIKV; Área vermelha: ocorrência de transmissão autóctone de ZIKV; Área azul: ocorrência de casos importados de ZIKV. Fonte: Leta et al. (2017)

No primeiro semestre de 2015, 59 municípios do Brasil já haviam confirmado casos autóctones da doença e estima-se que até dezembro do mesmo ano tenham ocorrido entre 440.000 a 1,3 milhão de casos e 3 óbitos confirmados (Brasil, 2016; Terra et al., 2017). Em novembro de 2015, o governo Brasileiro declarou epidemia e confirmou registros em todos os estados do Brasil. No dia 1º de fevereiro de 2016, a OMS declarou Estado de Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional (RSI) de 2005 (Bueno, 2017). No mesmo ano o Brasil registrou 215.319 casos prováveis, com uma taxa de incidência de 105,3 casos por 100 mil habitantes e 8 óbitos confirmados (Brasil, 2017).

A Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) registrou 17.452 casos prováveis de febre pelo vírus ZIKV, com uma taxa de incidência de 8,5 casos por 100 mil habitantes, destes 8.839 casos foram confirmados, mostrando uma grande redução em relação ao mesmo período em 2016. Atualmente, até o mês de maio de 2018 foram registrados 2.234 casos prováveis em todo o país, com uma taxa de incidência de 1,1 casos por 100 mil habitantes e destes 677 casos foram confirmados (Brasil, 2018).

1.2 *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*

Os mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* apresentam corpo segmentado dividido em três partes: cabeça, tórax e abdome. Além de apêndices como, um par de antenas, três pares de pernas longas, um par de asas e um par de halteres que auxiliam na orientação e equilíbrio durante o voo, aparelho bucal (probóscide) do tipo picador adaptado para sucção e a maior parte corpo revestido de escamas brancas. Possuem um desenvolvimento holometábolo, dividido em dois ciclos: i) aquático - constituído de três estágios, ovo, larva (possui 4 estádios) e pupa (fase que ocorre

metamorfose para adulto) e **ii)** aéreo/terrestre - compreende a fase adulta e alada (Oliveira, 2013; Nelson, 1986).

Algumas características morfológicas diferem as espécies e auxiliam na identificação das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. As larvas de *Ae. aegypti* possuem espículas laterotorácicas bastante desenvolvidas, enquanto que nas larvas de *Ae. albopictus* são pouco desenvolvidas (Fig. 5). Escamas do oitavo seguimento abdominal das larvas da espécie *Ae. aegypti*, possui três espinhos bem definidos, enquanto que *Ae. albopictus* possui apenas um espinho central em cada escama e borda serrilhada (Fig. 6). As palhetas natatórias das pupas da espécie *Ae. aegypti* possuem ausência de cílios, já nas palhetas de mosquitos *Ae. albopictus* são presentes (Fig. 7). O adulto da espécie *Ae. aegypti* possui mesonoto (escudo) ornamentado com escamas branco- prateadas em forma de lira. Por outro lado, a espécie *Ae. albopictus* apresenta mesonoto com escamas brancas prateadas formando uma única faixa longitudinal (Fig. 8) (Darsie, 1986; Darsie, 1992; Pessoa et al., 2013).

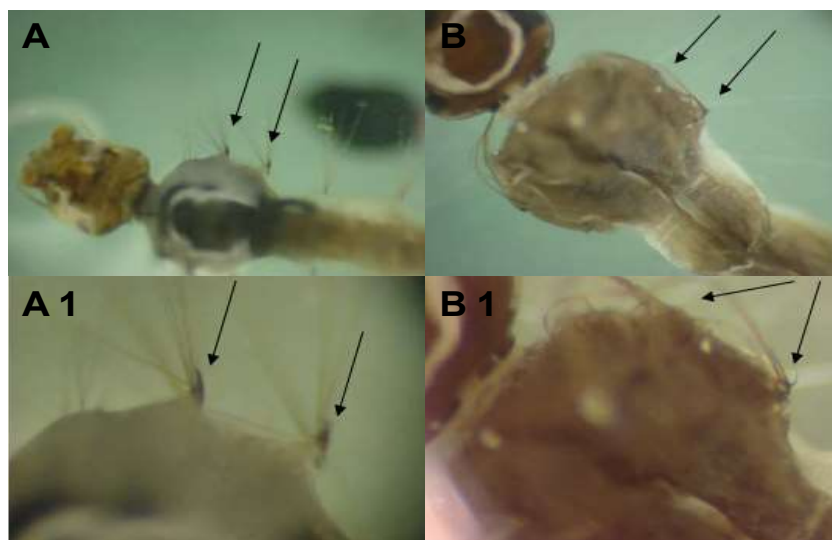


Figura 5. Características e diferenciação das espículas laterotorácicas quitinizadas de larvas de mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) e (A1) - espículas laterotorácicas bastante desenvolvidas; (B) e (B1) - espículas laterotorácicas pouco desenvolvidas. Fonte: Adaptação de Alencar (2008).



Figura 6. Escamas do oitavo segmento abdominal de larvas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) e (A1) – *Ae. aegypti*, escama com três espinhos bem definidos; (B) e (B1) – *Ae. albopictus*, espinho central em cada escama e borda serrilhada. Fonte: Adaptação de Alencar (2008).

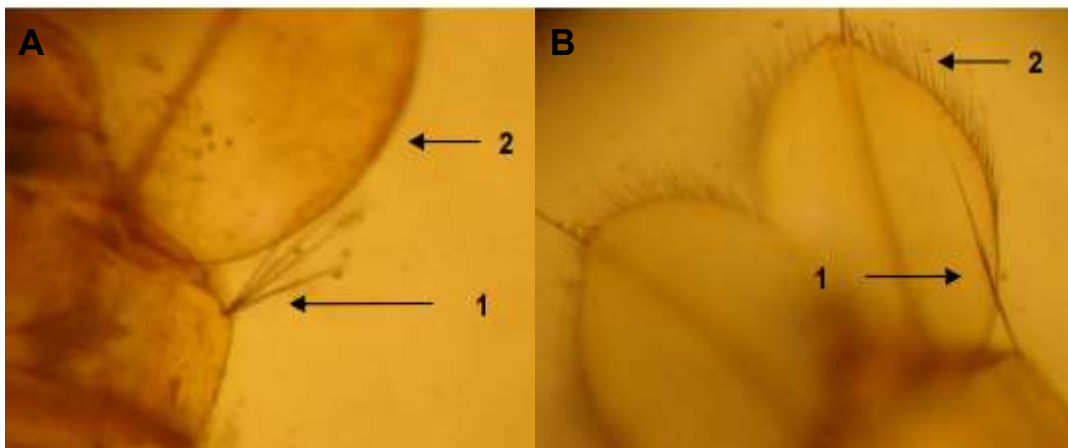


Figura 7. Porção terminal de pupas de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) - palhetas natatórias de pupa de *Ae. aegypti*, possuem ausência de cílios; (B) – palheta natatória de pupa de *Ae. albopictus*, presença de cílios. Fonte: Adaptação de Alencar (2008).

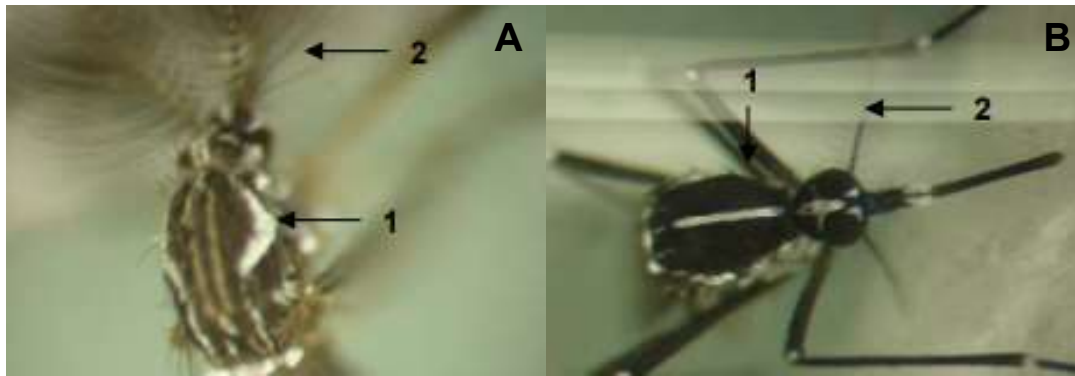


Figura 8. Características morfológicas e dimorfismo sexual entre mosquitos da espécie *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. (A) macho *Ae. aegypti*. (1) – escamas brancas em forma de lira no dorso torácico, (2) – antenas plumosas; (B) – fêmea *Ae. albopictus*. (1) – escamas brancas formando uma linha média no dorso torácico. (2) – antenas pilosas. Fonte: Adaptação de Alencar (2008).

O hábito alimentar das duas espécies é similar durante a fase imatura, na qual as larvas se alimentam de matéria orgânica presente na água. Na fase adulta alimentação será diversificada de acordo com o sexo, ou seja, ambos os sexos se alimentam de substâncias açucaradas e ricas em carboidratos, como néctar de flores e seiva de frutas que são essenciais para o enrijecimento do exoesqueleto. Porém a fêmea, passa a praticar a hematofagia, isto é, alimentam-se de sangue que é imprescindível para a maturação dos ovos (Oliveira, 2013).

As fêmeas de *Ae. aegypti* tem como característica a preferência por alimentar-se de sangue humano, já as fêmeas de *Ae. albopictus* tem uma característica mais diversificada e oportunista podendo alimentar-se de sangue de outros mamíferos como, bovinos, caninos, além de répteis, aves e anfíbios, mas também pode eventualmente alimentar-se de sangue humano quando presente em regiões de grande densidade populacional (Natal, 2002; Pessoa et al., 2013; Rey & Lounibos, 2015).

O habitat das duas espécies também possui aspectos peculiares. *Ae. aegypti* predomina em áreas urbanas devido sua grande capacidade de adaptação aos ambientes antropizados, onde encontra elevada disponibilidade

de criadouros e grande quantidade de fonte alimentar. *Ae. albopictus* ocorre em áreas silvestres e peri-urbanas, porém, as duas espécies podem eventualmente coexistirem nestas áreas (Rey & Lounibos, 2015).

Devido à diferença de hábitat, os tipos de criadouros também podem ser diversificados, por exemplo, as fêmeas da espécie *Ae. aegypti* tem preferência por criadouros artificiais, tais como, caixas d'água, calhas, jarros, sucatas, pneus velhos, entulho de construção civil, vasos de cemitérios, recipientes plásticos entre outros, enquanto que as fêmeas de *Ae. albopictus* tem preferência por reservatórios naturais, como bromélias, oco de árvores, axila de folhas, cascas de frutas e internódios de bambus, além de reservatórios artificiais em áreas peri-urbanas (Natal, 2002; Barbosa & Silva, 2002; Forattini & Brito, 2003; Silva et al., 2006; Pessoa, 2013).

O mosquito *Ae. aegypti* teve sua origem no continente africano e migrou para as Américas, durante os séculos XV a XVIII, provavelmente em navios que transportavam escravos. *Ae. albopictus* é nativa da Ásia e começou sua expansão de forma mais recente provavelmente a bordo dos navios que transportam pneus (Juliano & Lounibos, 2005; Benedict et al. 2007).

Conforme Kraemer et al. (2015) ambas as espécies estão distribuídas em praticamente todo o globo terrestre, onde 128 países já registraram a ocorrência de pelo menos uma das espécies. A Oceania e Ásia apresentam 60% da infestação mundial, seguido das Américas com 35% e a África e Europa contribuem com 5%.

Brown et al. (2013) afirmam que habitats domésticos humanos foram fundamentais para a evolução e adaptação de espécies epidemiologicamente importantes, como é o caso da espécie *Ae. aegypti*. Além disso, o comércio e a movimentação humana pelo globo terrestre foram fundamentais para migração destes vetores para diversas partes do mundo. (Fig.9; Fig. 10).

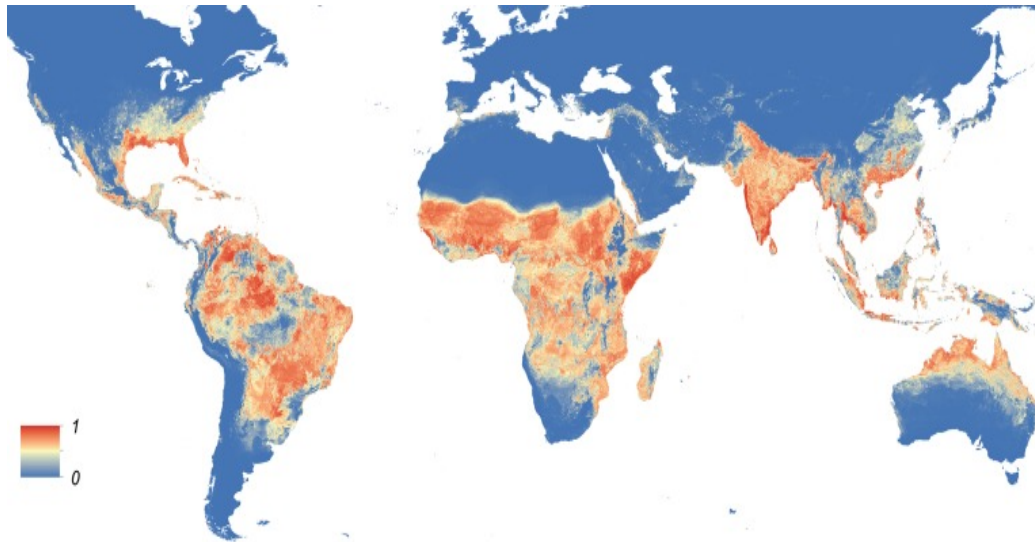


Figura 9. Mapa global da distribuição prevista de *Ae. aegypti*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência de 0 (azul) para menor probabilidade de ocorrência e para 1 (vermelho) para maior ocorrência. Fonte: KRAEMER et al.(2015).

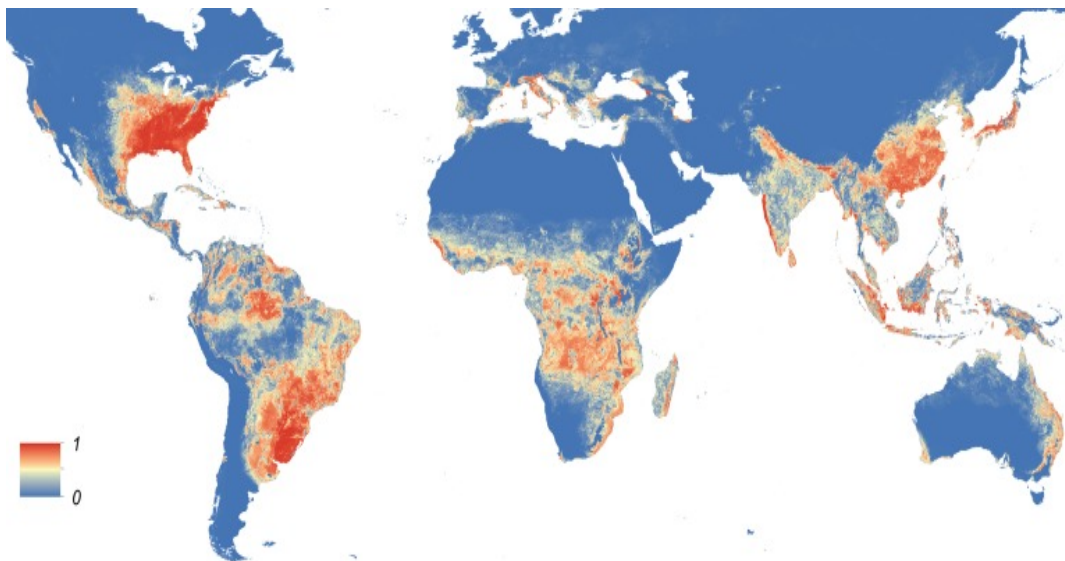


Figura 10. Mapa global da distribuição prevista de *Ae. albopictus*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência de 0 (azul) para menor probabilidade de ocorrência e para 1 (vermelho) para maior ocorrência. Fonte: KRAEMER et al. (2015).

O Brasil é um país que reuni todas as características necessárias para a sobrevivência e adaptação de várias espécies de insetos vetores de doença, como altitude, temperatura e umidade (Guedes, 2012). Provavelmente, a introdução da espécie *Ae. aegypti* no Brasil, ocorreu durante a colonização dos portugueses, devido ao tráfico de escravos oriundos do continente africano, mas foi nas primeiras décadas do século XX que esta espécie de mosquito começou a ter interesse epidemiológico, quando foi relacionada com a transmissão da FAU, principalmente no Rio de Janeiro por volta de 1903 (Wermelinger & Carvalho, 2016).

Ae. albopictus teve sua introdução mais recente no território brasileiro, provavelmente na década de 1980, mas o primeiro registro ocorreu em 1986, conforme a descrição realizada por Forattini (1986). Desde então essa espécie conseguiu se estabelecer em diversas regiões do país (Gomes, 1998).

Apesar da ampla distribuição da espécie *Ae. albopictus* em território brasileiro, ainda não se tem registro confirmado de transmissão de arboviroses para essa espécie no Brasil, provavelmente devido a seu ecletismo alimentar, que provavelmente diminui sua competência e capacidade vetorial, por conta da alimentação em diversos organismos (Silva et al. 2006; Rey & Lounibos, 2015). Existem registros de colonização desta espécie em grandes aglomerados urbanos (Pessoa et al. 2013).

Ae. aegypti é o principal vetor de arboviroses no Brasil e atualmente está distribuído em todas as unidades federativas do país (Zara et al., 2016). Os fatores ambientais, socioeconômico, biológicos e não biológicos favorecem a dispersão e proliferação desta espécie, além dos seus hábitos urbanos, endofilia e endofagia, domiciliação e estratégia de oviposição em criadouros artificiais, na quais potencializam seu poder de dispersão das arboviroses (Barbosa & Silva, 2002; Silval et al., 2009)

1.3 Controle da espécie *Aedes aegypti*

As atividades de controle de insetos são antigas e baseavam-se principalmente no combate de pragas agrícolas por meio de controle biológico e manejo ambiental, com registros de mais de 2000 anos atrás. Porém, com o surgimento do dicloro-difenil-tricloro-etano (DDT), no final da década de 1930, imaginou-se o sucesso no controle de pragas agrícolas e na possibilidade de erradicação de diversas doenças tropicais, como por exemplo, a malária (WHO, 1982; D'Amato et al., 2002; Braga & Valle, 2007).

Em 1947 a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) coordenaram a erradicação do mosquito *Ae. aegypti* no continente Americano. O Brasil participou desta campanha e como resultado do intenso combate ao mosquito *Ae. aegypti* conseguiu eliminar essa espécie, em 1955, principalmente com o uso do DDT (Braga & Valle, 2007).

Poucos anos depois, houve o registro de resistência de diversas espécies ao DDT, entre eles espécies de mosquitos, o que tornou a erradicação das doenças tropicais um processo inviável em todo o globo terrestre (Hemingway & Ranson, 2000).

Em 1967 foi criada a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), em 1970 o Programa Nacional de Controle da Febre Amarela e Dengue (PNCFD), no ano de 1990 a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), 1996 o Plano de Erradicação do *Ae. aegypti* (PEAa), 1998 devido a falhas no PEAa foi instituído o Ajuste Operacional do PEAa e em 2001 o programa foi abandonado e no ano seguinte foi implantado o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) (Braga & Valle, 2007; Wermelinger & Carvalho, 2016).

Segundo Zara et al. (2016), o controle do mosquito *Ae. aegypti* no Brasil é realizado basicamente de três formas, **i)** controle mecânico, que consiste na eliminação dos criadouros; **ii)** biológico, baseado na utilização de predadores ou patógenos que tem a capacidade de reduzir o número de

vetores e o **iii**) controle químico, que faz uso de produtos químicos que podem ser neurotóxicos, inibidores de síntese de quitina e análogos de hormônio juvenil.

Uma das técnicas de controle de vetores mais antigas que se tem conhecimento é o controle mecânico. Basicamente é um conjunto de técnicas simples e eficientes como, drenagem de criadouros, destruição ou remoção de criadouros temporários, telagem de janelas, distribuição de mosquiteiros, educação ambiental e mobilização social, além de ações de saneamento básico como, coleta de lixo. Pode ser chamado também de controle físico (Brasil, 2001).

Controle biológico consiste na utilização de inimigos naturais como predadores (peixes), parasitas (nematóides e fungos) e patógenos (bactérias, vírus, protozoários e fungos) que tem como função reduzir a população de vetores de importância em saúde pública, podem ser divididos em dois tipos: **i**) natural - não existe a intervenção do ser humano e **ii**) artificial - quando existe a interferência do ser humano.

O controle químico é a utilização de produtos químicos para eliminar ou controlar insetos vetores e pode ser dividido em dois grupos: **i**) tratamento larvário - utilizados para matar larvas, não sendo necessário o uso de equipamentos mecânicos para aplicação de produtos químicos. Nesse tipo de atividade utilizam-se compostos, geralmente granulados que são aplicados manualmente em diferentes tipos de criadouros e, **ii**) tratamento com adulticidas - usados para matar mosquitos adultos com auxílio de equipamento a Ultra Baixo Volume acoplado em veículo (UBV pesado) ou Ultra Baixo Volume portátil (UBV costal) que são usados no ambiente extradomiciliar, durante o amanhecer ou entardecer, uma vez que, estes são os horários de maior atividade dos mosquitos. (Aragão et al., 1988; Brasil, 2001; Donalísio & Glasser, 2002; Prokope et al., 2017). A utilização de UBV portátil ou pesado é preconizada para o controle de mosquitos *Ae. aegypti* segundo as Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue (DNPCD), mas as aplicações só devem ser realizadas mediante a necessidade de controle de surtos e epidemias de arboviroses, pelo menos uma vez, com início no quarteirão onde

foi notificado (s) casos e nos quarteirões adjacentes, levando em consideração um raio de 150 metros, tendo suas atividades suspensas após confirmação bloqueio de transmissão (BRASIL, 2009).

Na história do controle do mosquito *Ae. aegypti* foram utilizados quatro grupos de inseticidas: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e larvicidas biológicos (*Bacillus thuringiensis israelenses*) (WHO, 2017). Os inseticidas do grupo organoclorados têm como princípio ativo o carbono, hidrogênio e cloro e podem ser classificados em quatro grupos: difenil-alifáticos, hexaclorociclohexanos, ciclodienos e policloroterpenos e agem sobre o sistema nervoso controlando e modificando a entrada e saída de íons da membrana dos neurônios, alterando e danificando a transmissão dos impulsos nervosos, como por exemplo, inibindo o receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA), o principal representante deste grupo foi o DDT. A utilização deste tipo de inseticida não é mais permitido no Brasil, devido ao surgimento de populações resistentes e o alto grau de toxicidade, mas em outros países, como na África ainda são comercializados (Brasil, 2001; Waliszewski et al., 2003; Braga & Valle, 2007).

Os organofosforados são derivados do ácido fosfórico e classificados em três subgrupos: alifáticos (ex. malation), derivados do fenil e os heterocíclicos, estes inseticidas agem competindo com a acetilcolina causando inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase, regulador químico nas transmissões nervosas, um dos representantes deste grupo que foi bastante usado no Brasil foi o temephos (larvicida) hoje substituído devido ao aparecimento de resistência em populações de campo em todo o território nacional (Chavasse, 1997; Brasil, 2001; Lima et al., 2006; Diniz et al., 2014; Chediak et al., 2016; DIAS et al. 2017).

Os carbamatos são inseticidas provenientes do ácido carbâmico e têm mecanismo de ação muito semelhante aos organofosforados. Atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase, mas não possui residualidade prolongada, forçando a um manejo freqüente no campo. O seu uso é limitado devido ao alto custo (Braga & Valle, 2007; Brasil, 2001).

Piretróides são inseticidas sintéticos e estáveis com maior efetividade e estabilidade química, quando comparado com os demais grupos de inseticidas, além de ser biodegradáveis e atuarem em pequenas doses, apresentam grande poder de ativo, seu modo de ação tem como característica manter aberto o canal de sódio das membranas dos neurônios, muito similar ao mecanismo de ação do DDT (Palchik, 1996; Brasil, 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem um rigoroso processo para avaliar, liberar e indicar o uso de inseticidas. O Ministério da Saúde segue estas recomendações, elencando inseticidas para controle de insetos vetores (Tab.1).

Outro tipo de controle utilizados no combate a vetores é o Controle Legal (CL) que se baseia no uso de instrumentos jurídicos (leis, portarias, decretos, normativas etc.) em situações onde as ações de controle sejam restringidas impedindo que os Agentes de Controle de Endemias (ACE) realizem as atividades de vistoria, manejo e tratamento químico de criadouros, entre outros, como por exemplo: vistoria em ferro-velho, borracharias, imóveis abandonados ou que o proprietário se recusou a aceitar a vistoria quando há perigo iminente à saúde pública. A determinação vale enquanto durar a Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN), conforme lei nº 13.301, de 27 de junho de 2016 (Brasil, 2016).

Tabela 1. Inseticidas recomendados pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

Aplicação residual		Aplicação espacial a UBV para espaços abertos		Larvicidas recomendados para uso em água potável	
Produto	Grupo	Produto	Grupo	Produto	Grupo
Alfacipermetrina	piretróide	Delametrina UL	piretróide	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> , cepa AM 65-	larvicida bacteriano
Bendiocarb	carbamato	Delametrina EA	piretróide	Diflubenzuron	benzoilureas
Bifentrina	piretróide	Lambdacialotrina	piretróide	Novarulon	benzoilureas
Ciflutrina	piretróide	Malathion	organofosforado	Piryproxyfen	análogo de hormônio juvenil
Deltametrina PM	piretróide	d-d, transcifenotrina	piretróide	Espinosade	espinosinas
DDT	organoclorado			Temefós	organofosforado
Etofenprox	piretróide				
Fenitrothion	organofosforado				
Lambdacialotrina	piretróide				
Malathion	organofosforado				
Pirimifós-metil	organofosforado				
Propaxur	carbamato				

Fonte: Adaptado de MS, 2014. site: portalms.saúde.gov.br; WHO,2017.

Ao longo do tempo outras estratégias de controle utilizando novas tecnologias foram adotadas ao controle de *Ae. aegypti*, algumas com resultados positivos, como o uso de *Wolbachia* (bactéria simbiótica intracelular) usado no controle biológico (Moreira et al., 2012; Carvalho & Moreira, 2012), mosquitos transgênicos que tem como finalidade tornar os mosquitos machos estéreis e substituir a população selvagem (Carvalho et al., 2015), mosquitos dispersores de inseticidas, que consiste em atrair a fêmea de *Ae. aegypti* para uma estação disseminadora tratada com inseticida pyriproxyfen (PPF). Ao pousar na superfície impregnada as partículas aderem no corpo do inseto, quando a fêmea “impregnada” com PPF busca novos criadouros acaba contaminando-os (Abad--Franch et al., 2015). Esterilização de insetos por irradiação é outra técnica adotada, que consiste em tratar insetos machos com uma dose mínima de raios gama ou raios – X que provoca a esterilização dos mesmos (Alphey et al., 2010).

Podem ser citados também, dispositivos automáticos com inseticidas de liberação lenta, roupas, telas e mosquiteiros impregnados com inseticidas, combinação de técnicas como *Wolbachia* e STI por irradiação, além de estudos com compostos naturais e abordagem eco-bio-social (Zara et al., 2016). Existem também outros inseticidas alternativos como, inseticidas biológicos, atualmente está sendo utilizado o *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI), bactéria entomopatogênica cujos esporos apresentam cristais, que produzem toxinas, extremamente tóxica as larvas de *Ae. aegypti*, mas sua residualidade é de apenas 30 dias (WHO, 1999) e os Reguladores de Crescimento, também chamados de Insect Growth Regulator (IGR).

1.3.1 Reguladores de Crescimento ou Insect Growth Regulator (IGR)

Os IGRs foram descobertos por volta de 1956, quando pesquisadores conseguiram isolar o Hormônio Juvenil (HJ) do extrato bruto abdominal do macho de *Hyalophora cecropia*. Mas foi em 1965 que pesquisadores de Havard durante um experimento observaram que as culturas

de *Pyrrhocoris apterus* tinham baixa eclosão de ovos e que as larvas não se desenvolviam. Estudos posteriores concluíram que isto acontecia devido a um componente ativo presente na toalha de papel, posteriormente identificada como juvabione, um éster metílico do ácido domatuic existente no abeto de bálsamo, celulose usada na indústria de papel e que se comportou como um imitador de HJ. A descoberta do “fator papel” possibilitaram q pesquisadores observaram a possibilidade do uso de HJ no desenvolvimento dos insetos (Siddall, 1976 Miyamoto et al., 1993).

O modo de ação dos IGRs depende da categoria ao qual eles pertencem, podem ser: i) Análogos de Hormônio Juvenil (AHJ), ii) Inibidores de síntese de quitina e/ou deposição de quitina e iii) Derivados do composto orgânico triazina. Esses produtos atuam interferindo nos processos morfofisiológicos do inseto durante o desenvolvimento e metamorfose na fase imatura do inseto, impedindo a emergência completa ou parcial de adultos, ou caso isso aconteça, esses indivíduos podem desenvolver anomalias que podem limitar a capacidade de reprodução como, esterilidade ou genitálias mal desenvolvidas (Tunaz & Uygun, 2003).

Os IGRs diferem dos inseticidas convencionais devido ao seu modo de ação que interfere nos processos morfofisiológicos e de baixa toxicidade, sendo considerado inseticidas de terceira geração e têm-se revelando eficiente no controle de insetos vetores como os culicídeos, entre eles, podemos destacar o mosquito *Ae. aegypti*. O primeiro IGR comercializado como inseticida foi o Diflubenzuron da classe benzoilureias que age como um inibidor da síntese de quitina provocando falhas na ecdise impedindo a síntese de novas cutículas e tem ação larvicida. O primeiro AHJ lançado no mercado foi o Metopreno, ele imita a ação do HJ e age principalmente durante o quarto estágio, quando a larva encontra-se mais suscetível devido ao baixo nível de HJ, o imitador de HJ suprime a pupação, causando mortalidade no estágio de pupa ou durante o processo de emergência do imago (Miyamoto J et al., 1993; Tunaz & Uygun, 2003) (Fig.11)

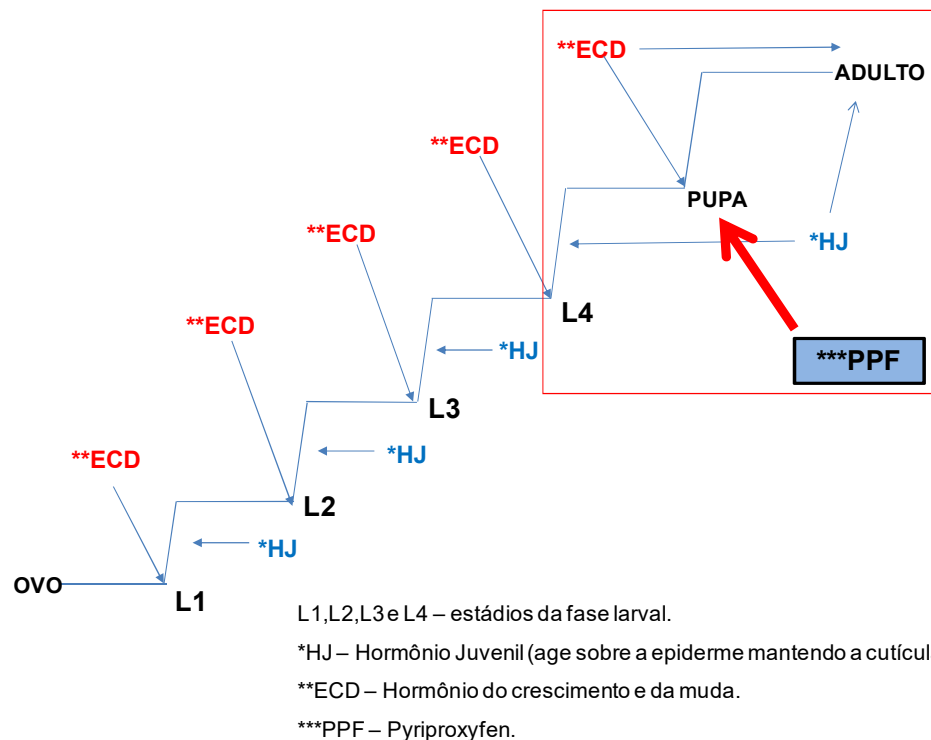


Figura 11. Mecanismo de ação do Análogo de Hormônio Juvenil (AHJ), no processo de inibição de emergência da fase de pupa para adulto em culicídeos.

Atualmente podemos destacar o Análogo de Hormônio Juvenil (AHJ) Pyriproxyfen (4-fenoxifenilo (RS)-2(2-piridiloxi) éter de propilo - PPF) que foi criado e desenvolvido pela Sumitomo Chemical Co. Ltd. em 1989 no Japão. (Mulla et al., 1989; Chavasse, 1997; Sumitomo Chemical, 2012).

Segundo o manual do Sumilarv (2012), o PPF é um sólido de baixa volatilidade e com ligeira solubilidade, além de baixa toxicidade. Conforme avaliação de ecotoxicologia realizada pela OMS, em conjunto com a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação ou em inglês, Food and nutrition (FAO), em 1999, menciona que apesar de invertebrados aquáticos e peixes não sofrerem efeitos adversos quando expostos a doses menores que 0,05 ppm, organismos como crustáceos podem

sofrer ligeira diminuição quando expostos a doses superiores, sendo a toxicidade baixa em mamíferos (Sumitomo Chemical, 2012).

Mulla et al. (1989) foram uns dos primeiros a evidenciar a eficácia dos IGRs. Outros estudos demonstraram resultados significantes tanto com testes de campo quanto em laboratório, em relação ao PPF estudos como relatado por Vythilingam et al. (2005), Resende & Gama (2006), Seccacini et al. (2008), Leyva et al. (2010), Gómez et al. (2011), Maoz et al. (2017) e Oo Min et al. (2018), demonstram a sua eficácia.

No Distrito Federal, o primeiro estudo de resistência ao PPF foi realizado em 2012, quando uma população resistente ao temephos, procedente de Planaltina foi submetido à bioensaios de campo para detectar resistência cruzada ao BTi e PPF, conforme mostra Monnerat et al. (2012). Os resultados obtidos mostraram suscetibilidade ao PPF, porém sua eficácia diminuiu a 80%, após 60 dias de exposição. Esses autores também destacaram a necessidade de novas pesquisas com PPF, em populações de *Ae. aegypti*

1.4 Resistência de *Aedes aegypti* aos inseticidas utilizados no seu controle

Segundo a OMS (1992) “resistência” é definida como sendo a capacidade de uma linhagem de algum organismo desenvolver uma habilidade de tolerar doses de uma substância tóxica que é letal para a maioria dos indivíduos em uma população originalmente suscetível da mesma espécie (Aragão, 1972). É um fenômeno estritamente genético, onde ocorrem mutações que acabam afetando as proteínas alvos dos inseticidas e/ ou o seu metabolismo (Moreira et al. 2012).

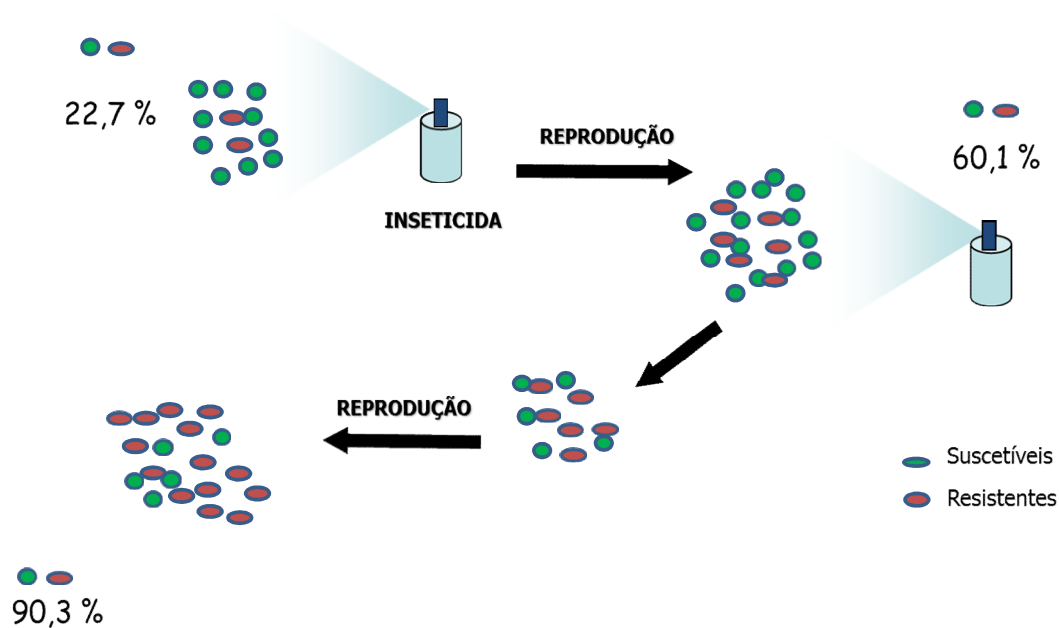


Figura 12. Desenho esquematizado de desenvolvimento de resistência em uma população de insetos vetores sobre pressão de inseticidas.

O entomologista Melander foi o primeiro a relatar casos de resistência de populações de insetos ao enxofre, em 1914. Desde então, o desenvolvimento de estudos que auxiliem no monitoramento de mecanismos de resistência tem se tornado fundamentais, uma vez que as opções de inseticidas usados na saúde pública são limitadas (Melander, 1914; Nauen, 2007).

A resistência pode ser favorecida por dois principais fatores. O primeiro é o ciclo de vida curto que contribui para o surgimento de populações com alterações genéticas que favorecem a tolerância aos produtos químicos. A segunda refere-se à pressão exercida pelo uso frequente de inseticidas em uma determinada população que pode selecionar indivíduos resistentes, nas quais perpetuarão os genes de resistência para futuras gerações (Brogdon & McAllister, 1998; Braga & Valle, 2007).

Uma população de insetos pode reduzir sua sensibilidade aos inseticidas por meio de quatro mecanismos: **i)** modificação comportamental, no qual o inseto reconhece a presença do inseticida; **ii)** redução na penetração

cuticular; **iii**) resistência metabólica, onde o inseto metaboliza os produtos químicos por meio de enzimas de detoxificação e **iv**) modificação nos sítios alvos dos inseticidas (Moreira et al., 2012).

Resistência metabólica é associada principalmente ao aumento da detoxificação dos inseticidas por meio de três enzimas metabólicas, as Esterases (ESTs), Monooxigenases e as Glutathione-S-transferases (GSTs). O aumento da atividade de detoxificação de inseticidas está relacionado com elevação dos níveis de expressão dos genes codificadores destas enzimas que tem como consequência o aumento da degradação de inseticidas (Moreira et al. 2012; Brogdon & McAllister, 1998).

As esterases formam seis famílias de proteínas pertencentes à subfamília α/β hidrolases, estas proteínas conseguem quebrar as ligações ésteres de diversos compostos presentes em uma grande variedade de inseticidas, uma vez que, muitos destes produtos químicos têm o grupamento éster na sua estrutura química. As monooxigenases estão associadas com o metabolismo oxidativo aumentado o citocromo P450. Esta família de enzimas é encontrada em diversos organismos vivos incluindo os insetos, sendo capazes de metabolizar inúmeros tipos de inseticidas por meio de reações de oxirredução, onde apenas um dos oxigênios é incorporado e o outro é reduzido à água durante o processo metabólico (Nauen, 2007; Hamid et al., 2017).

Glutathione S-transferases (GST) são enzimas compostas por duas unidades similares e multifuncionais e apresentam função de detoxificação, promovendo a resistência aos organofosforados, organoclorados e piretróides (Andrighetti et al., 2008; Marcombe et al., 2014).

Outro mecanismo de resistência é a alteração do sítio-alvo que decorre de alterações nas moléculas alvos, no qual, os inseticidas devem agir, gerando dificuldades ou bloqueando a interação das moléculas alvo com o inseticida. Neste processo destacam-se dois sítios-alvo: **i**) a acetilcolinesterase – na fenda sináptica a transmissão do impulso nervoso é interrompida quando a acetilcolina é removida pela acetilcolinesterase. Os inseticidas organofosforados e carbamatos ligam-se à enzima acetilcolinesterase fazendo com que o impulso se propague continuamente, **ii**) canais de sódio e potássio –

os inseticidas piretróides e organoclorados ligam-se moléculas alvo, mantendo os canais de sódio aberto, fazendo com que os impulsos nervosos passem de forma contínua levando o inseto à morte (Nauen, 2007; Moreira et al. 2012; Braga & Valle, 2007).

Mutações no sítio-alvo e resistência metabólica podem ser os principais mecanismos de resistência em mosquitos do gênero *Aedes*, por exemplo, atualmente são conhecidas 10 mutações relacionadas ao canal de sódio, dependentes de voltagens (VGSC): S989P, V1016G, T1520I, D1763Y, L982W, I1011V, F1534C, G923V, I1011M e V1016I. Mutações relacionadas à resistência metabólica também foram detectadas na América, Ásia e África e os principais genes relacionados a resistência metabólica de mosquitos do gênero *Aedes* são: CYP6P12†, CYP9M6, CYP6BB2, CYP9J10, CYP9J26, CYP9J28, CYP9J32, GSTE2, GSTE7, CCEAE3A*, CYP4DD24 e CYP9J24, sendo detectadas nos continentes da América, Ásia e Europa (Hamid et al., 2017; Moyes et al., 2017).

Resistência cruzada é um fenômeno que também podem ocorrer, ou seja, são combinações que podem fazer com que um único mecanismo possa gerar resistência há mais de uma substância da mesma classe ou de classes diferentes (Brogdon & McAllister, 1998; Hemingway et al., 2004).

O surgimento de resistência de mosquitos das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* aos quatro principais grupos de inseticidas foram relatadas nos últimos anos, principalmente nas Américas, Ásia e África, como observado nos estudos de Moyes et al. (2017), que consiste em uma revisão da literatura de 2006 a 2016, na qual evidenciou elevada resistência das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* aos piretróides e organofosforados nas Américas e na Ásia, além do crescente surgimento de resistência a piretróides em diversas partes da África Ocidental (Fig. 12).

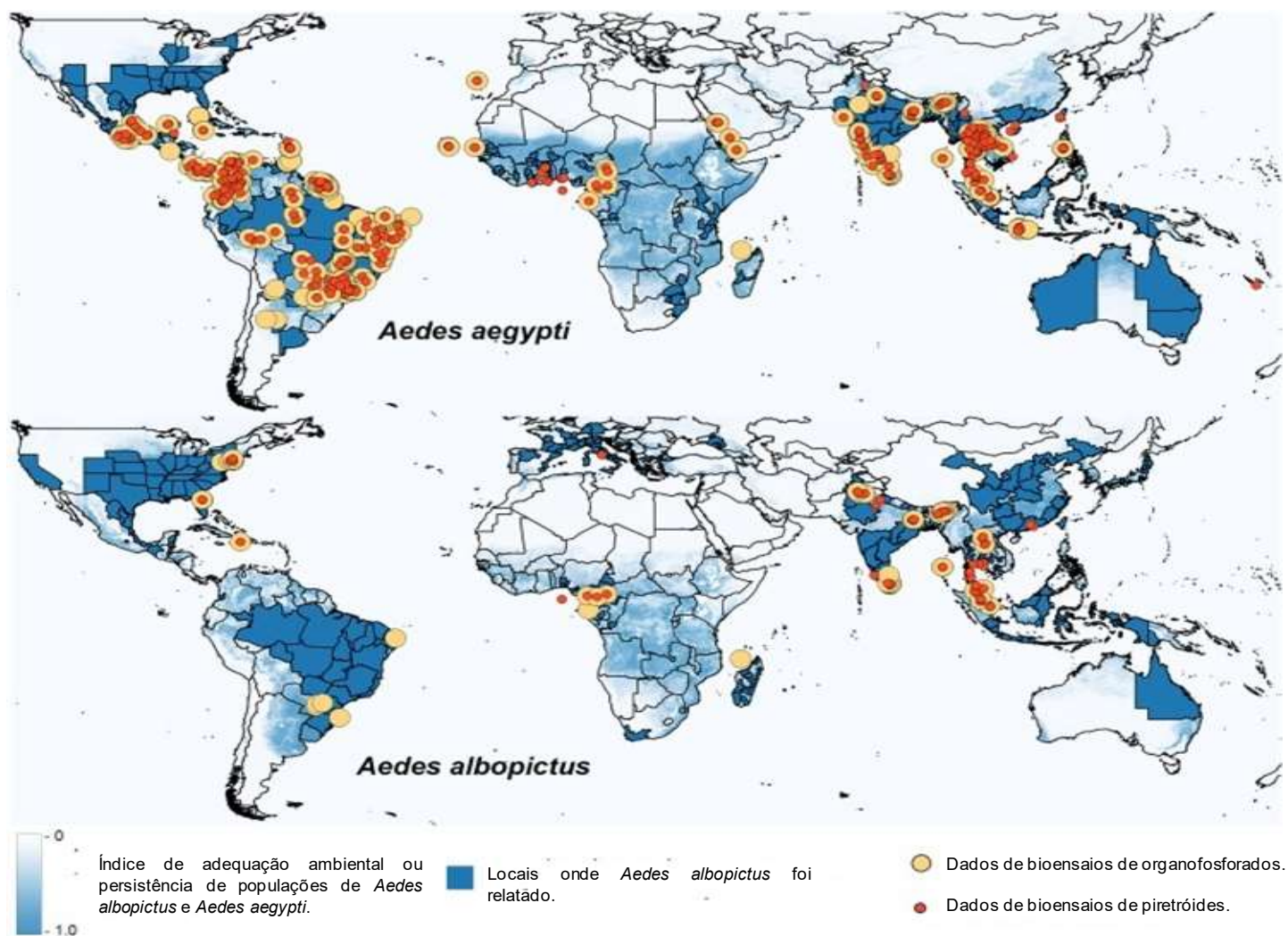


Figura 13. Mapa de distribuição mundial de realização de testes de suscetibilidade de populações de mosquitos das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* as duas classes de inseticidas mais utilizadas no mundo organofosforados e piretróides, entre 2006 a 2015. Fonte: Adaptação de Moyes et al. (2017) e Krascmer et al. (2015)

Estudos recentes também apresentaram resultados de resistência de populações de mosquitos *Ae. aegypti* como na revisão literária de Yap et al. (2018) que analisou o perfil de resistência de populações de mosquitos *Ae. aegypti* do sudeste da Ásia a piretróides. Entre as populações resistentes os mecanismos mais comuns de resistência estão relacionados a alterações nos canais de sódio e aumento na produção de enzimas detoxificantes.

Chediak et al. (2016), já havia relatado anteriormente alta resistência de populações de mosquitos *Ae. aegypti* ao temefós em praticamente todo o território brasileiro. Os autores avaliaram os resultados de bioensaios de populações de mosquito *Ae. aegypti* ao temefós em todas as regiões do Brasil a partir das bases de dados da Rede Nacional de Monitoramento da Resistência de *Ae. aegypti* a Inseticidas (MoReNAa). Os resultados mostram que os primeiros relatos de resistência ao temefós no Brasil datam de 1995 e nos anos seguintes as populações resistentes aumentaram.

Monroy et al. (2018) analisando a frequência de resistência da espécie *Ae. aegypti* a três piretróides (bifentrina, fenotrina e permetrina) utilizando bioensaios de garrafa, observaram que todas as populações tratadas com os três piretróides mostram-se resistentes obtendo mortalidade de <90%, e ao avaliarem as populações utilizando doses 1x, 2x, 5x e 10x a dose diagnóstica foi de 1µg/ml. Os autores observaram que todas as populações apresentaram resistência moderada.

Garcia et al. (2018) analisando os inseticidas deltametrina, temefós e diflubenzuron usados no Brasil para controle da espécie *Ae. aegypti* identificaram que das quatro populações tratadas, todas apresentaram resistência para temefós com RR entre 3,6 e 16,3 e ainda três populações demonstraram alta resistência a deltametrina, na qual a RR foi superior a 10,0 e todas foram suscetíveis para diflubenzuron com RR inferior a 3,0.

Com o crescente aumento de resistência aos inseticidas químicos houve a necessidade de encontrar novas substâncias conhecidos como produtos alternativos que apareceram como opção eficaz no controle de

mosquitos do gênero *Aedes*, tal como *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) e Insect Growth Regulator (IGR).

Atualmente, existem poucas informações a respeito do panorama de resistência, principalmente aos IGRs assim como o envolvimento dessas substâncias à resistência cruzada com outros tipos de inseticidas, como, por exemplo, temefós com PPF relatados nos estudos de Marcombe et al. (2011), Marcombe et al. (2014) e Lau et al. (2015). Dias et al. (2017) ao avaliar resistência cruzada entre espinosade com temefós em sete populações de *Ae. aegypti* mencionaram que espinosade obteve mortalidade acima de 80% durante um período de sete a oito semanas, sendo mais eficiente que o temefós. Os resultados também mostraram que não houve resistência de espinosade nas populações avaliadas.

2 JUSTIFICATIVA

O mosquito *Aedes aegypti* está amplamente distribuído no território brasileiro devido sua alta capacidade de adaptação ao meio urbano e seu alto grau de endofilia, isso somado a sua capacidade vetorial para os vírus da Dengue, Chikungunya e Zika vírus, faz desta espécie um importante dispersor destas arboviroses. Os inúmeros surtos e epidemias causadas por estas doenças causam grande impacto nos cofres públicos do Brasil. Em 2018 até o mês de junho já foram registrados foram registrados 110.291 casos prováveis e 49.329 casos confirmados de Dengue, 26.475 casos prováveis e 15.684 casos confirmados de Chikungunya e 17.452 casos prováveis de 8.839 casos confirmados de Zika vírus em todo o país.

Dentro da cadeia de transmissão das arboviroses o elo mais fraco é o mosquito, portanto seu controle é de suma importância, e a utilização de produtos químicos tem sido utilizado a décadas tanto no controle da fase imatura (larva), quanto na fase alada (adulto).

Atualmente, existe registro de resistência estabelecida para organofosforados e piretróides em diversas populações de *Ae. aegypti*, no Brasil (Medeiros et al., 2018; Fontoura et al., 2012; Macoris et al., 2007). Para reduzir a probabilidade de desenvolvimento de resistência em populações de *Ae. aegypti* houve a substituição gradativa dos inseticidas neurotóxicos por reguladores de crescimento que atuam no desenvolvimento e na reprodução dos insetos, agindo na síntese de quitina ou inibição de adultos. Nesse último caso destaca-se o análogo de hormônio juvenil conhecido como pyriproxyfen (PPF) (Braga & Valle, 2007).

No Brasil, PPF tem sido utilizado, no controle de larvas, desde o segundo semestre de 2014. Esse produto começou a ser utilizado no Distrito

Federal (DF), em 2016, sendo que seu uso é cada vez mais frequente e comum em todo o DF (Brasil, 2017; GDF, 2016).

Nesse contexto, existem poucas informações a respeito do perfil de suscetibilidade da espécie *Aedes aegypti* ao Pyriproxyfen (PPF) que evidencie o desenvolvimento de resistência em populações oriundas do DF. Essa informação é de extrema importância para as ações de controle de *Ae. aegypti*.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar o perfil de suscetibilidade de seis populações de *Ae. aegypti* ao análogo de hormônio juvenil pyriproxyfen usando ensaios biológicos.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar o Índice de Positividade de Ovos (IPO) e o Índice de Densidade de Ovos das áreas estudadas;
- Estimar a Dose Diagnóstica, Inibição de Emergência (IE) e Razão de Resistência (RR) de populações de campo e referência da espécie *Ae. aegypti* expostas ao PPF;
- Avaliar a taxa de mortalidade de larvas e pupas de populações da espécie *Ae. aegypti* tratadas com diferentes doses de PPF;
- Analisar os Tempos Letais (TL) 50% e 90% de populações de *Ae. aegypti* expostas ao análogo de hormônio juvenil PPF.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Áreas de estudo

A área de estudo foi o Distrito Federal (DF), situada na região Centro-Oeste do Brasil, Latitude: – 15,7941 e Longitude: - 47,8825, é a menor unidade federativa brasileira e a única que não possui municípios, sendo dividida em 31 Regiões Administrativas (RAs). Sua área territorial é de 5.779,997 km² e segundo o último censo de 2010 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), possui uma população estimada de aproximadamente 3.036 milhões de habitantes (Distrito Federal, 2017; IBGE, 2017).

4.2 Definição das populações de estudo

Foram selecionadas seis Regiões do Distrito Federal de forma conveniente, na qual a Diretoria de Vigilância Ambiental (DIVAL) fez uso do PPF no controle de larvas e pupas de *Aedes aegypti*, nos últimos 3 anos, conforme Memorando Circular N° 03/2016 – GEVAC/DIVAL/SVS/SES/DF da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (DISTRITO FEDERAL, 2016). As Regiões foram às seguintes: Região 1 - Vila Planalto; Região 2 - Granja do Torto; Região 3 – 1° Regimento de Cavalaria de Guardas (RCG) localizado no Setor Militar Urbano; Região 4 – Lago Norte; Região 5 – Varjão e Região 6 – Complexo da Subsecretaria de Justiça do Distrito Federal (SUAG-DF), antiga rodoferroviária, situado no Setor de Indústria e Abastecimento (Fig.14).

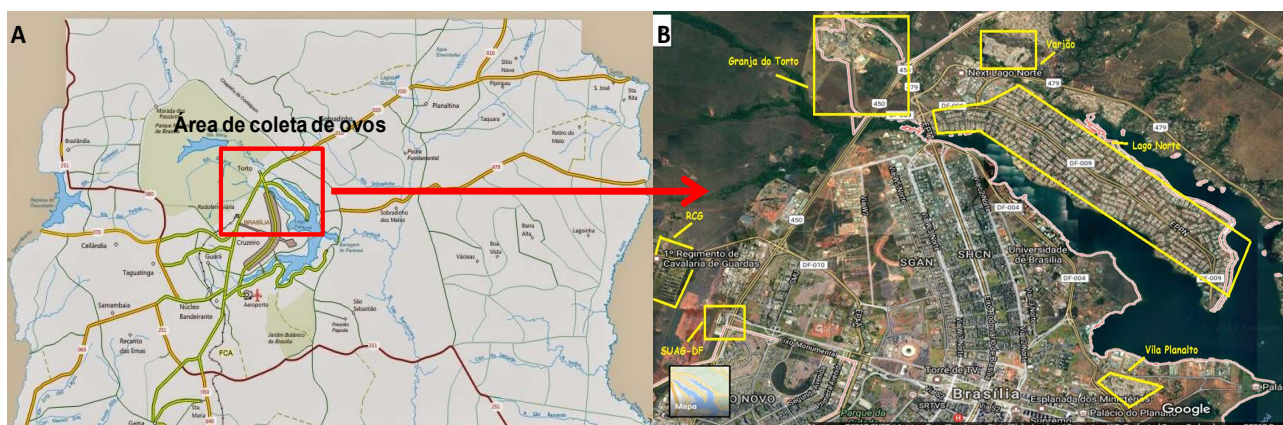


Figura 14. A: Mapa do Distrito Federal. B: Mapa ampliado das Regiões onde foram realizadas as coletas de ovos de *Aedes aegypti* em Brasília/DF, no ano de 2017.

Fonte: Imagem ©2017 CNES/ Astrium.Cnes/Sport imagem DigitalGlobe. Landsat/ Copernicus U.S. Geological Survey. Dados do mapa©2017 Google maps.

4.3 Obtenção das amostras de campo

Para realização dos bioensaios foi necessário à obtenção de ovos de mosquitos *Ae. aegypti*. Para isso foram instaladas armadilhas do tipo ovitrampa que simulam um ambiente apropriado para oviposição das fêmeas (Fay & Perri, 1965). Essa armadilha consiste em um vasilhame de plástico de cor preta, de formato arredondado, medindo 13 cm de altura e 12 cm de diâmetro, com capacidade de 1000 ml. Também possui uma palheta de compensado Eucatex com 5 mm de espessura e 13 cm de comprimento por 3 cm de largura. Um dos lados da palheta era rugoso para facilitar a aderência dos ovos. Cada palheta foi fixada na parte interna do vasilhame com auxílio de um clipe de aço, posicionada verticalmente em cada armadilha (Fig. 15). Em cada armadilha foram adicionados 800 ml de água e feno a 10% que consiste em uma mistura atrativa que aumenta o rendimento de captura dos ovos (Silva et. a., 2009; Depoli et al., 2016).



Figura 15. Armadilha do tipo ovitrampa usada para captura de ovos do mosquito *Aedes aegypti*.

4.4 Preparo da Infusão de Feno

Para preparar a mistura de atração das fêmeas foi utilizada uma vasilha de plástico com capacidade de 50 litros, 800g de capim do gênero *Brachiaria* (Depoli et al., 2016), colhidos em área de cerrado próximo ao Núcleo de Medicina Tropical (NMT) da Universidade de Brasília - UNB e 30 litros de

água. O preparo foi realizado em quatro etapas: **i)** foram retirados do capim impurezas como, insetos, folhas e galhos secos e qualquer outro tipo de detrito que pudesse alterar a mistura; **ii)** os 30 litros de água e o capim foram colocados em vasilha de plástico e depois coberto com uma tampa de madeira; **iii)** o capim permaneceu de molho por sete dias e, **iv)** após este período a mistura foi coada com uma peneira de plástico e armazenada em galões de 5 litros (Nunes et al., 2011) (Fig. 16).



Figura 16. A e B: Capim do gênero *Brachiaria* limpo e misturado a água; C e D: Vasilhame sendo coberto com tampa de madeira.

4.5 Instalação das armadilhas ovitrampas

Foram instaladas 60 armadilhas em cada uma das áreas, distribuídas em chácaras, casas, instituições públicas: posto policial, de saúde e Centro de Referência de Assistência Social – CRAS, etc.

Os locais de instalação (Fig. 17) foram preferencialmente o intra e peridomicílio das Unidades Domiciliares com finalidade de aumentar as chances de captura de ovos, assim como pontos focais, tais como ferro-velho, borracharias, etc. Todas as armadilhas permaneceram em locais protegidos de chuva, sombreado e com pouca movimentação de pessoas e animais (Nunes et al., 2011). As visitas tiveram a supervisão de um agente de controle de endemias da DIVAL/SES/DF, sendo que registrados os dados do imóvel como, endereço, nome do proprietário, data de instalação e telefone.



Figura 17. A e B: Armadilhas instaladas na área do Posto de Saúde da Vila Planalto; C: Armadilha suspensa no Jardim de uma residência do Lago Norte; D: Quintal de uma residência do Setor de Chácaras no Varjão; E: Quintal de uma residência da Vila Planalto; F: Armadilha instalada no curral dos Cabritos próximo ao galinheiro no RCG; G e H: Quintal característico (ambiente limpo) na cidade de Vila Planalto.

As ovitrampas permaneceram por duas semanas em cada área. No final da primeira semana era realizada a substituição completa das armadilhas. Na segunda semana todas foram recolhidas definitivamente. As palhetas contendo os ovos eram recolhidas, identificadas e armazenadas verticalmente no interior de caixa de poliestireno, de forma a não ficarem

sobrepostas umas sobre as outras, a fim de evitar que os ovos fossem esmagados ou danificados (Fig. 18).

As caixas foram transportadas até o Laboratório de Entomologia Médica da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde/SVS/MS, localizado no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília/NMT/UnB.



Figura 18. Palhetas acondicionadas em isopores térmicos e organizadas em grades de metal para transporte do campo até o Laboratório de Entomologia Médica/SVS/MS.

4.6 Identificação e contagem dos ovos

No Laboratório de Entomologia Médica as palhetas foram colocadas em bandejas plásticas para secagem por um período de 48 horas. Após isso, foi realizada a identificação e contagem dos ovos conforme Consoli & Oliveira (1994) e Silva et al. (2009). Os ovos foram classificados em eclodidos, murchos e viáveis (Fig. 19).

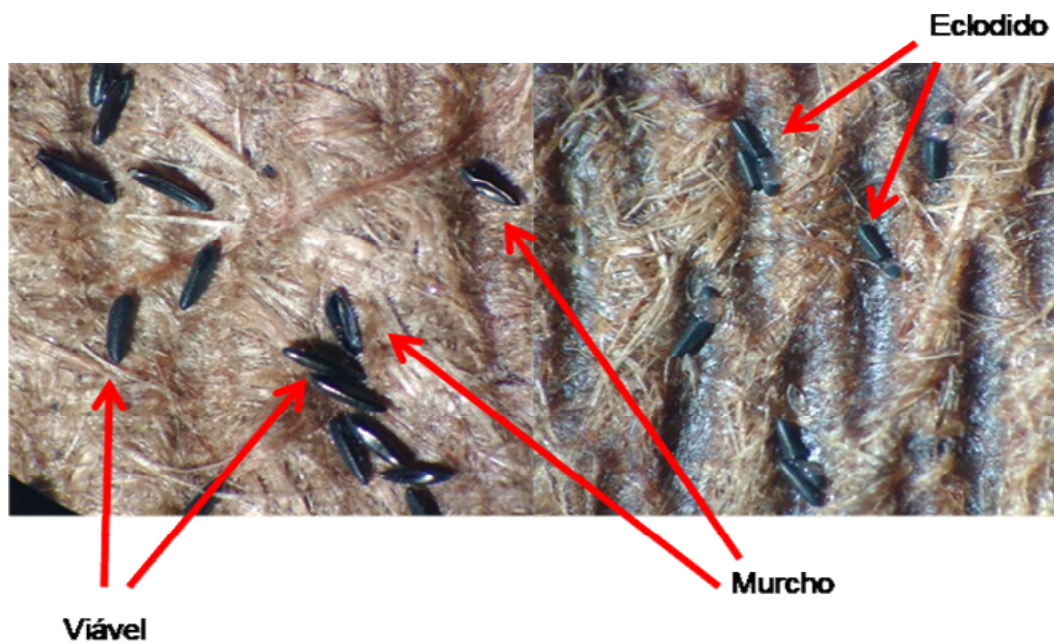


Figura 19. Classificação dos ovos de *Ae. aegypti* recolhidos das armadilhas em viáveis, eclodidos e murchos.

4.7 Criação e manutenção das colônias

Os ovos de *Ae. aegypti* foram colocados em bandejas plásticas de cor branca, medindo 30 cm de comprimento, 22 cm de largura e 9 cm de altura contendo 500 ml de água destilada para eclosão dos ovos, em temperatura ambiente. A alimentação das larvas foi realizada por meio de 3 mg de ração triturada para filhotes de gato Natural Guabi® com baixo teor de gordura a cada três dias.

As larvas de 3º estágio eram transferidas para um Becker de 500 ml, com água destilada e acondicionado no interior de gaiolas de acrílico transparente com telas de nylon medindo 40 cm de largura, 40 cm de comprimento e 40 cm de altura (Fig. 20).

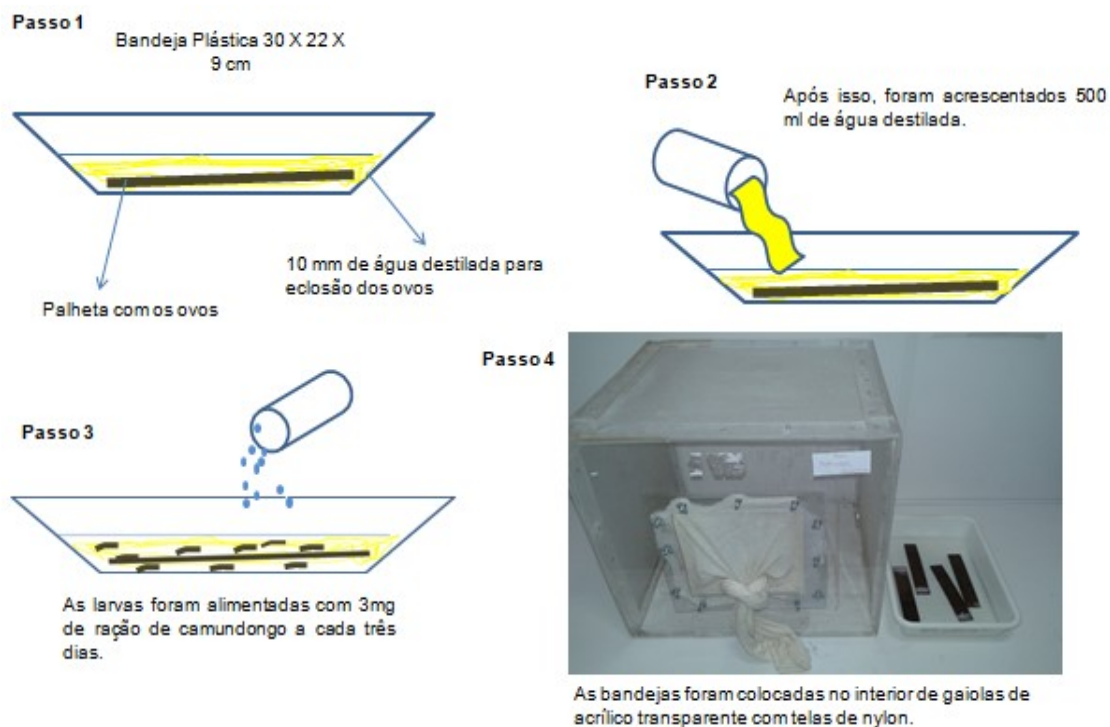


Figura 20. Procedimentos para eclosão dos ovos após a secagem e alimentação das larvas de *Ae. aegypti*.

Após a emergência dos adultos foram ofertadas para os machos e fêmeas solução de água com açúcar a 10%. Três dias depois da emergência foram alimentadas com sangue de galinha (*Gallus gallus domesticus*) a cada 48 horas (Fig. 21).

Dentro de cada gaiola foram inseridos recipientes “ovipositores”, na qual consiste em uma vasilha arredondada de cor preta, medindo 6 cm de altura e 10 cm de diâmetro, com 300 ml de água destilada e uma fita de papel filtro inserido na borda interna com a finalidade de capturar os ovos. Foram traídos 100% dos mosquitos para identificação taxonômica, a fim de garantir que não houvesse outras espécies, como por exemplo, *Aedes albopictus*, uma vez que a coleta dos ovos foi realizada em áreas periurbanas, onde essa espécie pode ocorrer em simpatria com *Ae. aegypti*.

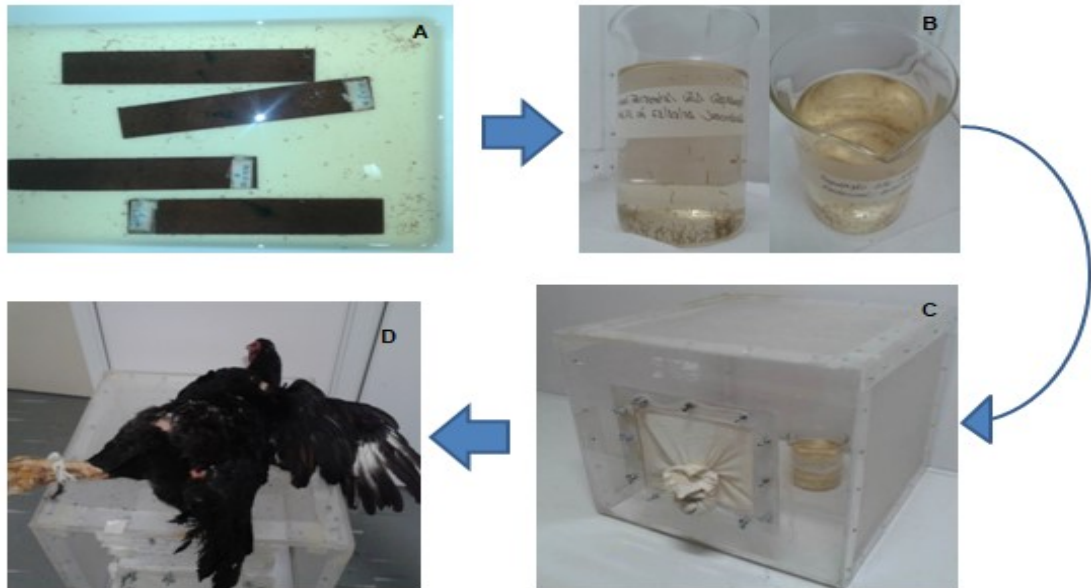


Figura 21. A: Bandeja com larvas após eclosão dos ovos; B: Becker com larvas de 3º e 4º estádio selecionadas para formação das colônias; C: Gaiola de acrílico transparente utilizada para criação das colônias de mosquito; D: Alimentação dos mosquitos com galinha.

A primeira geração de ovos foi chamada de geração F1, nas quais as larvas de 3º e 4º estádios foram utilizadas para a realização dos bioensaios biológicos de cada população de campo.

4.8 População Suscetível

Foi utilizada a população Rockefeller de *Ae. aegypti*, obtida do insetário do Núcleo de Entomologia da Diretoria de Vigilância Ambiental/DIVAL/SES/DF.

4.9 Produto químico escolhido

Pyriproxyfen (PPF), grau técnico 97%, fornecido pela empresa ROGAMA NEOGENV® Company.

4. 10 Preparo das soluções para os bioensaios biológicos

Para o preparo da dose mãe foi pesado 20,6 mg de PPF grau técnico (97%) de pureza em uma balança de precisão, em seguida o produto foi diluído em 2 ml de Álcool Etílico (PA). Em um tubo de ensaio do tipo Falcon com capacidade de 50 ml com tampa foi adicionado 20 ml de Álcool Etílico (PA), em seguida retirado 2 ml com uma pipeta P1000 e posteriormente acrescentado 2 ml de PPF diluído. A concentração final foi de 1 ml de PPF (Fig. 22).

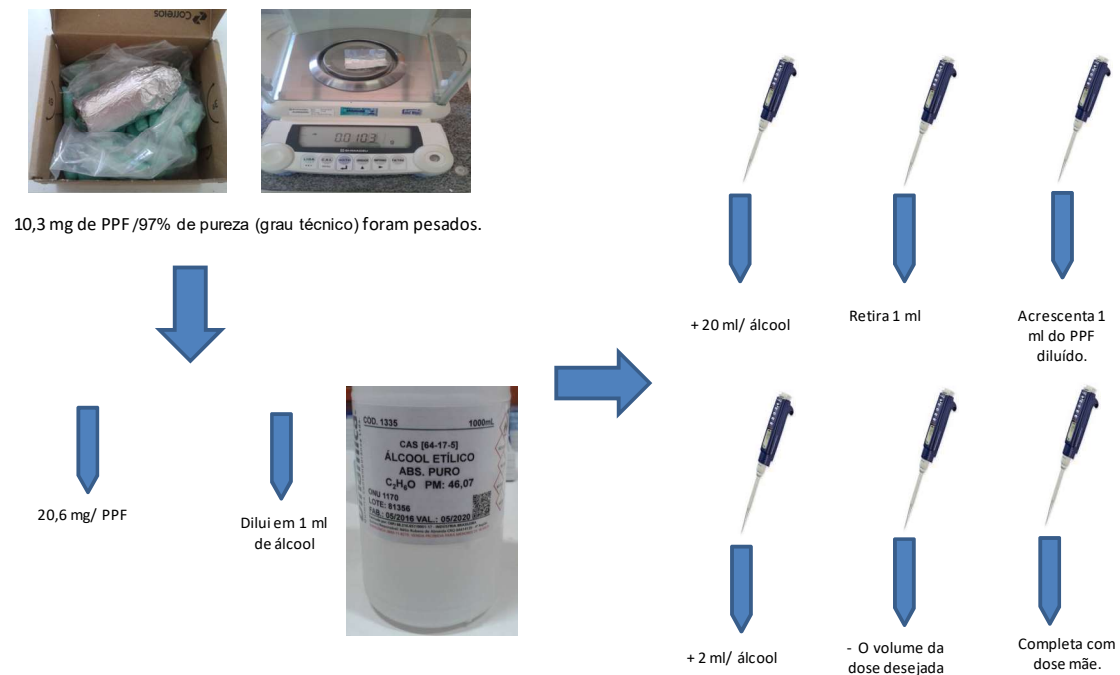


Figura 22. Esquema para preparo da solução mãe do grau técnico de PPF.

4. 11 Bioensaios biológicos

Os bioensaios biológicos foram conduzidos de acordo com WHO (1981), WHO (2005) e WHO (2016) com adaptações. As subdoses provenientes da dose mãe utilizadas para realização dos bioensaios foram de 0,0001; 0,0005; 0,0007; 0,001; 0,005; 0,007; 0,01 e 0,03 $\mu\text{g/ml}$. Para cada dose foram expostas um total 270 larvas de 3^o e 4^o estádios e o grupo controle foi de 90 larvas. Todas as larvas foram selecionadas de maneira mais homogênea possível para padronização da idade fisiológica e cronológica.

Inicialmente, as larvas foram colocadas em três copos de plástico pequenos (50 ml), contendo 20 ml de água destilada. Em cada copo foi inserido 30 larvas, totalizando 90 larvas para cada dose. Todas as larvas permaneceram em repouso por aproximadamente 30 minutos para aclimação (Fig. 23)

Em seguida, foram colocados em copos plásticos maiores (400 ml) 230 ml de água destilada, posteriormente foi retirado com auxílio de uma pipeta (P1000) (Eppendorf) 1 ml de água de cada copo. A seguir, foi acrescentado 1 ml de cada dose de PPF e homogeneizado com bastão de vidro (Fig. 24).

As larvas já aclimatadas foram transferidas para os copos maiores, juntamente com 20 ml de água dos copos pequenos, totalizando um volume final de 250 ml por copo. Feito isso, era pulverizado cerca de 3 mg de ração Natural Guabi® e coberto com uma rede de malha fina preso a borda com uma liga elástica para evitar que os adultos escapassem após emergência. A alimentação foi realizada a cada três dias.

O registro de mortalidade foi realizado a cada 48 horas, sendo finalizado somente quando todas as pupas realizassem a emergência para adultos, no grupo controle. Os critérios de mortalidade foram seguintes: **i)** larvas e pupas incapazes de subir para a superfície ou de mostrar reações de mergulho, quando a água é perturbada, além disso, também pode mostrar descoloração, posições anormais, tremores e falta de coordenação ou rigor; **ii)** larvas e pupas mortas são aquelas que não conseguem se mover quando estimuladas com uma agulha no sifão ou na região cervical (WHO 2016; Lau et al., 2015). Os adultos que não realizaram todo o processo de desenvolvimento e não conseguiram realizar a separação completa da pupa durante a emergência também foram consideradas mortas (Morais et. al., 2017).

A temperatura (25°C a 30°C) e umidade relativa do ar (70% a 80%) foram controladas por aquecedor e umidificador de ar comum, em ambiente isolado conforme descrito em WHO (2005). As informações de horário, data, temperatura e umidade foram registradas em planilhas específicas (Apêndice 1).

Todos os bioensaios foram realizados em duplicatas e repetidos em três diferentes dias. A leitura de mortalidade foi realizada por um único pesquisador.

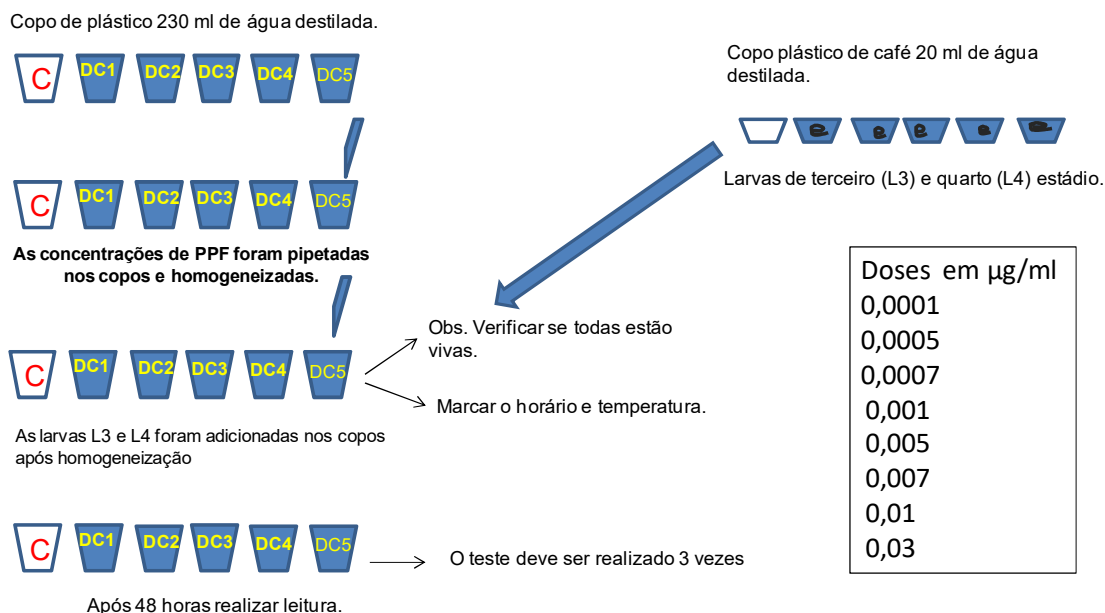


Figura 23. Esquema de montagem dos bioensaios, conforme orientação de WHO (1981). A: copos de 500 ml com 230 ml de água destilada; B: copos do tipo café de 50 ml com 20 ml de água destilada e as larvas deixadas em repouso para aclimatização; C: copos com as concentrações de PPF homogeneizadas e as larvas aclimatizadas; D: Tabela com as subdoses de PPF utilizadas nos bioensaios.

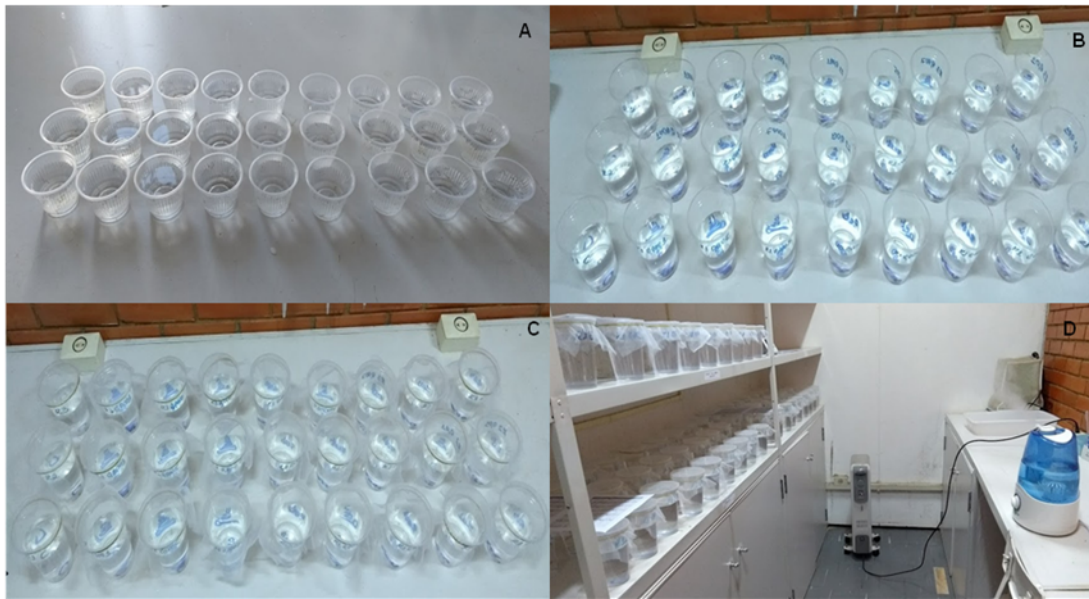


Figura 24. A: larvas de 3° e 4° estágio em repouso antes da montagem do teste; B: Copos com as diluições das concentrações de PPF diluídas; C: Copos já com as larvas de 3° e 4° estádios e cobertos com tecido do tipo filó para evitar escape de adultos emergidos; D: Sala climatizada onde os testes foram realizados.

4. 12 Análises dos dados

Os dados de mortalidade das larvas, pupas e adultos das diferentes populações levaram em consideração os seguintes parâmetros:

a) Inibição de Emergência (IE%) – Foi calculada com a finalidade de estimar o percentual de inibição de emergência das populações tratadas com PPF (Leyva, 2010), sendo calculada usando a fórmula:

$$\text{INIBIÇÃO DE EMERGÊNCIA} = 100 - \frac{\text{Tx} \cdot 100}{\text{C}}$$

Onde:

T = porcentagem de sobreviventes ou adultos emergidos nos recipientes tratados e,

C = porcentagem de sobreviventes ou adultos no grupo controle.

b) Fórmula de Abbott (FB) – Quando o percentual de emergência de adultos no grupo controle fosse menor que 90%, o teste era descartado e repetido e se o percentual estivesse entre 91% e 99% foi usada a fórmula de Abbott para correção dos dados (Abbott, 1987).

$$\text{FÓRMULA DE ABBOT} = \frac{\% \text{ mortalidade nos tratados IE} - \% \text{ mortalidade no controle IE}}{100 - \% \text{ mortalidade no controle IE}} \times 100$$

c) Razão de Resistência (RR) – Foi calculada para avaliar a resistência das populações tratadas com PPF, onde o IE%50 da população de campo foi dividido pelo IE%50 da população suscetível. O critério adotado foi de RR <5 indica uma população de campo suscetível, RR entre 5 e 10 resistência moderada e RR >10 alta resistência (WHO, 2016; Lau et al., 2015)

$$\text{RAZÃO DE RESISTÊNCIA (RR)} = \frac{\text{IE50 POPULAÇÃO DE CAMPO}}{\text{IE50 POPULAÇÃO DE REFERÊNCIA}}$$

d) Tempo Letal (TL) – Foi calculado para avaliar o tempo médio necessário para que as populações tratadas com PPF atingissem 50% e 90% de Inibição de Emergência.

Outros dados também foram analisados, tais como, média de mortalidade de larvas (ML%), média de mortalidade de pupas (MP%), além do

Índice de Positividade de Ovitampas (IPO) e Índice de Densidade de Ovos (IDO) (Ochipinti et al., 2014; Gomes, 1998).

$$\% \text{ média de mortalidade de larvas (ML\%)} = \frac{Lm}{Lexp} \times 100$$

$$\% \text{ média de mortalidade de pupas (MP\%)} = \frac{Pm}{T} \times 100$$

Onde:

Lm = larvas mortas;

Lexp = larvas expostas;

Pm = pupas mortas;

T = total.

$$\text{Índice de positividade de ovitampas IPO} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de armadilhas positivas}}{\text{n}^\circ \text{ de armadilhas examinadas}} \times 100$$

$$\text{Índice de densidade de ovos IDO} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de ovos}}{\text{n}^\circ \text{ de armadilhas positivas}}$$

Para as estimativas de Inibição de Emergência (IE), Concentração de Inibição (CI) e Tempo Letal (TL) foi utilizado programa JMP® Trial 14.0.1 com Intervalos de Confiança (IC) de 95%.

5 Resultados

5.1 Classificação das amostras de ovos de *Ae. aegypti*

As armadilhas ovitrampas permitiram a obtenção de 7.486 ovos de fêmeas da espécie *Ae. aegypti*, dos quais 5.014 estavam viáveis, 1.863 murchos e 609 eclodidos (Tab. 2). Nessa tabela, observa-se também que a RA do Lago Norte foi à área com maior número de coleta de ovos com (n=1.904), enquanto que a área da SUAG obteve menor número de ovos.

Foi possível obter ovos da espécie *Ae. aegypti* com valores de viabilidade superiores a 55% em todas às áreas amostradas. Nota-se que a Vila Planalto foi à área com maior número de ovos viáveis coletados, cujo valor foi de 1.312 ovos, representando 91%. Por outro lado, Granja do Torto e o RCG foram as que apresentaram maior número de ovos murchos com 651 e 314, representando 42,8% e 35,2%, respectivamente.

O número de ovos eclodidos foi baixo, variando entre 1,7% (Granja do Torto) a 16,5% (SUAG) para as amostras coletadas nas seis áreas do Distrito Federal, entre janeiro a abril de 2017.

Tabela 2 - Distribuição do número de ovos viáveis, murchos e eclodidos de fêmeas de *Aedes aegypti* coletados em seis áreas do Distrito Federal, entre janeiro a abril de 2017.

Classificação	Vila Planalto		Granja do Torto		RCG		Lago Norte		Varjão		SUAG		TOTAL
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Viáveis	1.312	91,7	843	55,5	526	58,9	1.178	61,9	801	69,7	354	60,1	5.014
Murchos	64	4,5	651	42,8	314	35,2	499	26,2	197	17,1	138	23,4	1.863
Eclodidos	55	3,8	26	1,7	53	5,9	227	11,9	151	13,1	97	16,5	609
TOTAL	1.431	100	1.520	100	893	100	1.904	100	1.149	100	589	100	7.486

5.2 Índice de Positividade e Densidade de Ovos de *Ae. aegypti*

O Índice de Positividade de Ovitampa (IPO) foi maior (95%) para as armadilhas instaladas na RA da Vila Planalto, enquanto que o menor valor foi registrado nas armadilhas procedentes da RA do Varjão, cujo IPO foi de 36% (Fig. 25). Apesar do fato, da RA da Vila Planalto possuir o maior IPO observa-se que o Índice de Densidade de Ovos (IDO) foi baixo (34). O maior IDO foi da RA do Lago Norte (51) e o menor IDO dentre todas as áreas trabalhadas nesse estudo foi da SUAG (19), conforme mostra a figura 26.

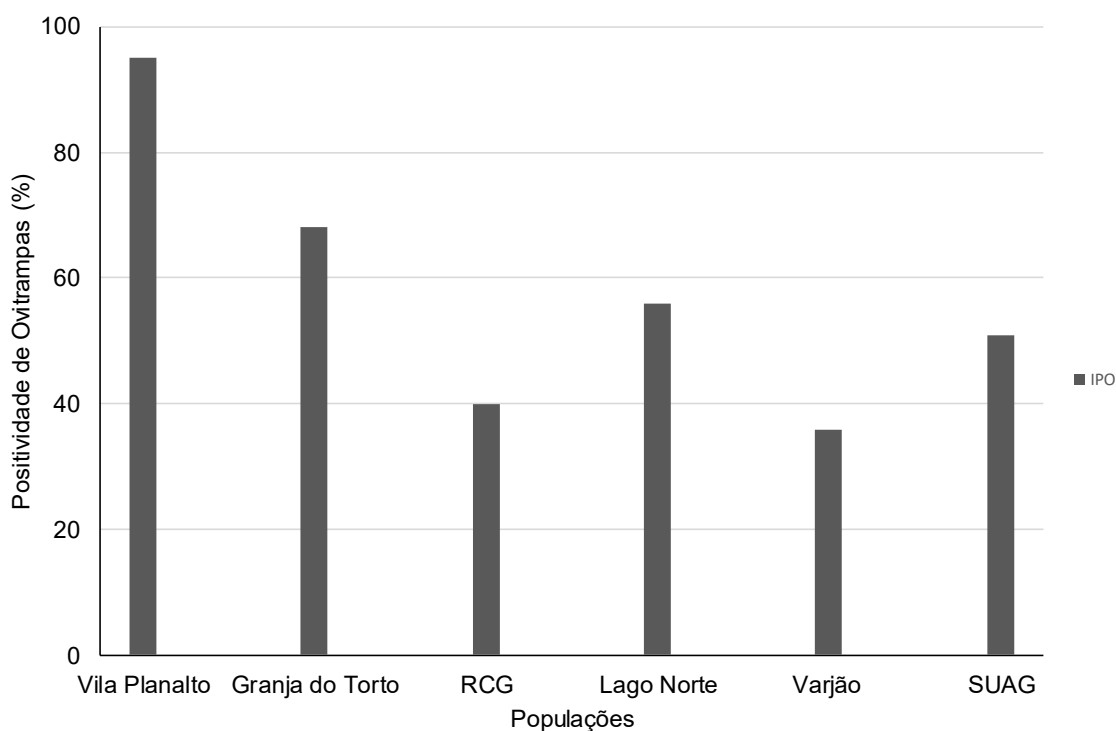


Figura 25 - Índice de Positividade de Ovitampas (IPO) por armadilha positiva em seis áreas do DF, entre janeiro a abril de 2017.

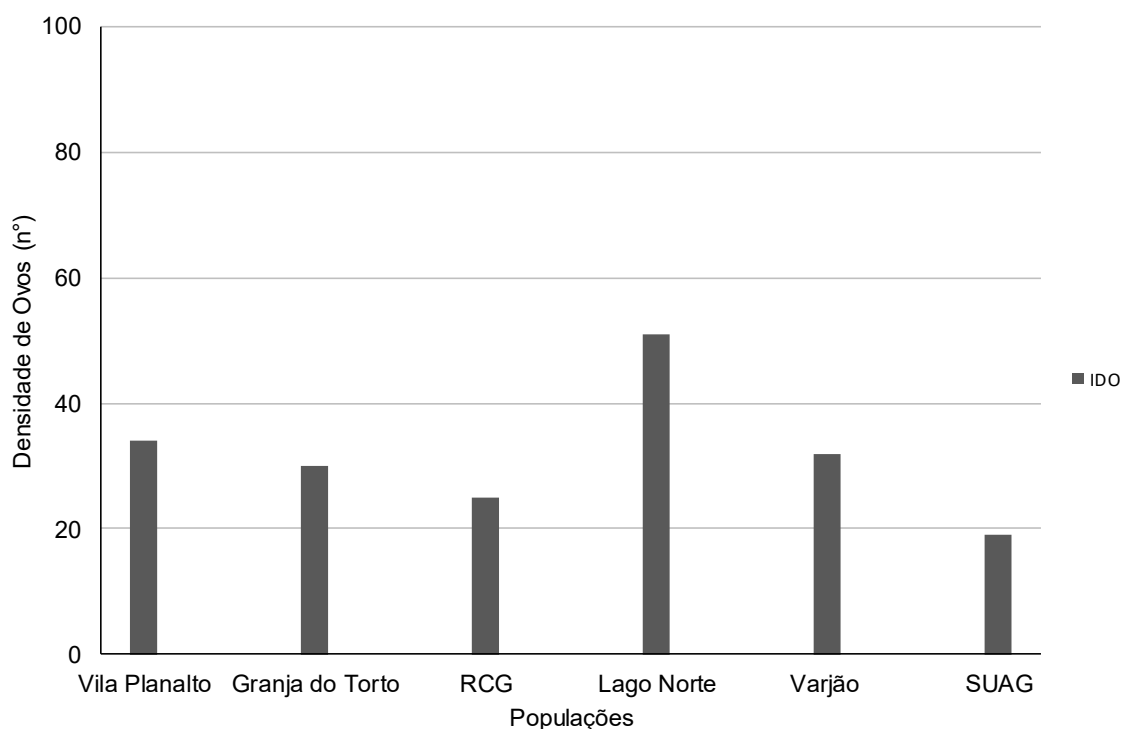


Figura 26 - Índice de Densidade de Ovos (IDO) por armadilha positiva em seis áreas do DF, entre janeiro a abril de 2017.

5.3 Inibição de Emergência de populações de *Ae. aegypti* do campo

Foram expostas um total de 14.866 larvas do mosquito *Ae. aegypti*. De modo geral, as populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG apresentaram elevada suscetibilidade ao análogo de hormônio juvenil pyriproxyfen (PPF), conforme os resultados das Inibições de Emergência (IE), as quais podem ser observadas na Tab. 3. Observa-se também nessa tabela que as populações da Granja do Torto e Lago Norte apresentaram tolerância ao PPF, principalmente nas doses entre 0,0001 a 0,0007 µg/ml, em comparação com as demais populações, incluindo o grupo controle. A Granja do Torto foi a menos suscetível, ou seja, somente atingiu 50% de IE na dose de 0,005 µg/ml.

A população de referência Rockefeller obteve a maior IE, quando comparadas às demais populações de campo, ou seja, quando expostas as doses entre 0,0001 a 0,03 µg/ml de PPF apresentaram IE variando de 51% a 99%. Ressalta-se que a dose de 0,03 µg/ml inibiu a emergência de 99% dos adultos da linhagem de referência Rockefeller.

Destaca-se que as menores taxas de IE foram para a população de *Ae. aegypti* oriunda do RCG que registrou um valor de 86% de interrupção da emergência de pupas, seguida da população SUAG com um valor de 88% de IE, na dose 0,03 µg/ml (Tab. 3).

As populações da Vila Planalto e Varjão apresentaram valores semelhantes para IE, isto é, ambas as populações demonstraram valores de 92% quando expostas ao composto químico PPF. Também foram registrados valores próximos de IE para as populações de *Ae. aegypti* oriundas da RA do Lago Norte e Granja do Torto, com valores de 90% e 91%, respectivamente.

Tabela 3 - Inibição de emergência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018.

Doses ($\mu\text{g/ml}$)	Rockefeller		Vila Planalto		Granja do Torto		RCG		Lago Norte		Varjão		SUAG	
	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE
0,0001	270	51	270	57	270	28	270	58	270	38	270	44	270	33
0,0005	270	57	270	64	270	36	270	60	270	41	270	51	270	48
0,0007	270	66	270	67	270	35	270	65	270	46	270	57	270	55
0,001	270	76	270	71	270	42	270	67	270	52	270	61	270	58
0,005	270	82	270	76	270	50	270	71	270	58	270	65	270	69
0,007	270	87	270	82	270	65	270	78	270	74	270	81	270	69
0,01	270	89	270	91	270	84	270	79	270	81	270	80	270	82
0,03	270	99	270	92	270	91	270	87	270	90	270	92	270	89

*IE - Inibição de Emergência expresso em %.

A Fig. 27 mostra a média da IE de adultos da espécie *Ae. aegypti*. A população Rockefeller obteve um valor médio de 76%, enquanto que para as populações de campo, houve variação de 74,5% (Vila Planalto) a 54% (Granja do Torto) entre as médias de IE. Ainda, nessa mesma figura é possível observar que as populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes da RCG (70,5%), Varjão (66,3%) e SUAG (66,3%) apresentaram valores médios de IE superiores a 60%, no entanto, as populações oriundas do Lago Norte (59%) e Granja do Torto (54%) obtiveram médias abaixo de 60%.

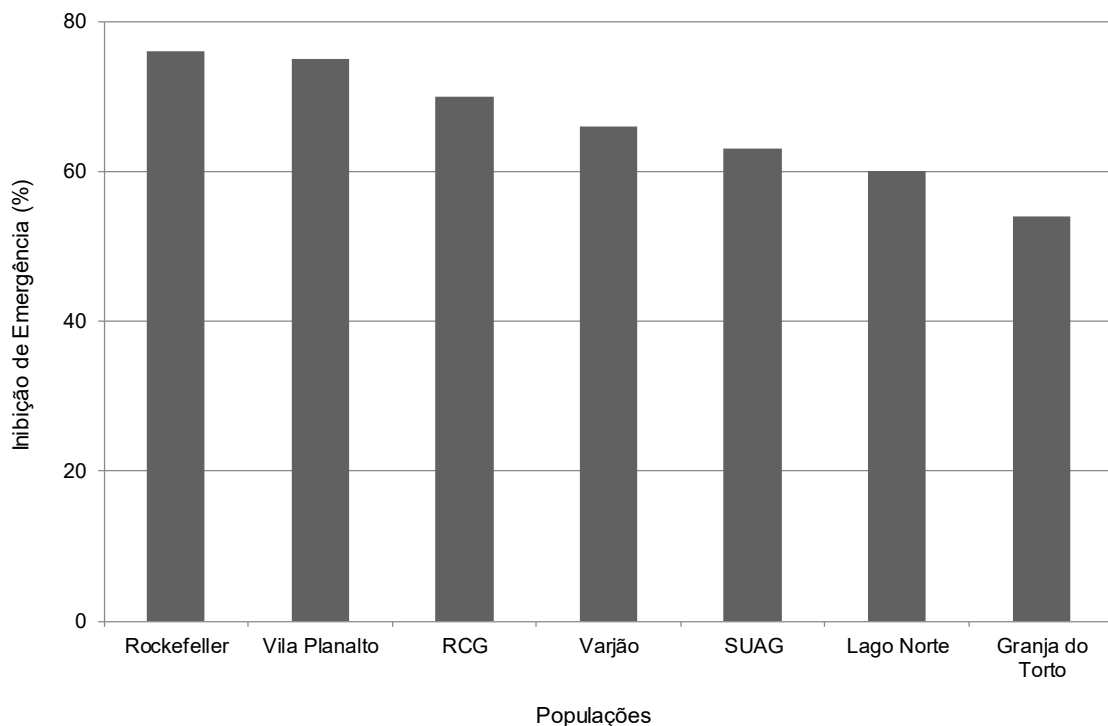


Figura 27. Distribuição média da Inibição de Emergência de pupas da espécie *Aedes aegypti*, em ordem decrescente, expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, Distrito Federal, em 2018.

5.4 Concentração de Inibição, Dose Diagnóstica e Razão de Resistência de populações de *Ae. aegypti* tratados com PPF

Os resultados referentes à Concentração de Inibição (CI) 50%, 90% e 99%, assim como da Razão de Resistência (RR) estão apresentados na Tab. 4. A população de referência Rockefeller obteve uma CI50% de 0,00008 µg/ml, CI90% de 0,00937 µg/ml e CI99% de 0,42952 µg/ml. A Dose Diagnóstica para esse estudo foi de 0,8 µg/ml, ou seja, 2 X a CI99% da população Rockefeller.

Em relação às RRs das seis populações de mosquito *Ae. aegypti* procedentes de campo observa-se que três apresentaram suscetibilidade ao análogo de hormônio juvenil PPF, sendo Vila Planalto (RR 0,8), RCG (RR 0,8) e Varjão (RR 4,0). Duas populações registraram resistência moderada, SUAG (RR 5,0) e Lago Norte (RR 7,0) e a população procedente da RA Granja do Torto mostrou um valor de RR de 11,0, ou seja, acima do esperado, conforme mostra a Tab. 4.

Tabela 4 – Concentração de Inibição e Razão de Resistência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018.

População	n	*CI50% (IC 95%)	*CI90% (IC 95%)	*CI99% (IC 95%)	**RR
Rockefeller	2160	0,00008 (0,00005 - 0,00012)	0,00937 (0,00678 - 0,01396)	0,42952 (0,20672 - 1,11312)	...
Vila Planalto	2160	0,00008 (0,00004 - 0,00012)	0,01698 (0,01128 - 0,02875)	0,99000 (0,52578 - 4,71337)	0.8
Granja do Torto	2160	0,00145 (0,00121 - 0,00173)	0,07633 (0,0182 - 0,121990)	1,92543 (0,09793 - 4,41159)	11.0
RCG	2160	0,00008 (0,00004 - 0,00012)	0,01698 (0,01128 - 0,02875)	1,33976 (0,52578 - 4,71337)	0.8
Lago Norte	2160	0,00074 (0,00058 - 0,00992)	0,07097 (0,04577 - 0,12242)	2,91734 (1,29533 - 8,12623)	7.0
Varjão	2160	0,00035 (0,00025 - 0,00047)	0,05570 (0,03501 - 0,10050)	3,43936 (1,37245 - 11,31435)	4.0
SUAG	2160	0,00042 (0,00030 - 0,00056)	0,07461 (0,04552 - 0,14021)	5,05410 (1,92682 - 17,69615)	5.0

n - Número de expostos.

*CI - Concentração de Inibição.

** - Razão de Resistência = IE 50% campo/IE% Rockefeller.

5.5 Mortalidade de larvas e pupas de populações de *Ae. aegypti*

A população de referência Rockefeller apresentou média de mortalidade de larvas de 0,6% quando tratadas com o hormônio juvenil PPF. Nas populações de campo observa-se que a média de mortalidade de larvas foi entre 1,1% a 3,0%, indicando que a morte de larvas expostas ao PPF é baixa, conforme mostra a Tab. 5.

Por outro lado, os valores médios de mortalidade de pupas foram elevados, tanto na população de referência, quanto nas populações de campo. A população de referência Rockefeller apresentou média de mortalidade de pupas de 75,1%, seguida da população de *Ae. aegypti* da Vila Planalto (72,8%), RCG (68,1%), Varjão (63,8%), SUAG (62,6%) e Lago Norte (59%) Granja do Torto (54,6%).

Tabela 5 – Distribuição média da mortalidade de larvas e pupas de populações de *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses de PPF, em 2018.

População	n	*ML	**MP
Rockefeller	2160	0,6	75,1
Vila Planalto	2160	3,0	72,8
Granja do Torto	2160	1,1	54,6
RCG	2160	1,5	68,1
Lago Norte	2160	1,9	59,0
Varjão	2160	2,0	63,8
SUAG	2160	1,4	62,6

n - número total de larvas de 3º e 4º estágio expostas ao PPF.

*ML - Média de mortalidade de larvas.

**MP - Média de mortalidade de pupas.

5.6 Tempo Letal 50% (TL50%) das populações de referência e campo

A variabilidade do TL50% para as diferentes populações da espécie *Ae. aegypti* tratadas com PPF podem ser observadas na Tab. 6 e 7. TL50% da população Rockefeller variou entre 270 a 102,5 horas nas doses entre 0,0001 a 0,03 µg/ml conforme mostra a Tab. 6.

TL50% da população Rockefeller para a dose de 0,0001 µg/ml foi de 270 horas. Nessa mesma dose observa-se que os TL50% da população da Granja do Torto e Lago Norte foram de 594,1 e 657,69 horas, respectivamente. Comparativamente, as TL50% dessas populações levaram o dobro de tempo, em relação a população Rockefeller para matar 50% das larvas expostas.

A população Rockefeller, na dose de 0,03 µg/ml, obteve um TL50% de 102,5 horas.

Tabela 6 – Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Vila Planalto, Granja do Torto e RCG, em julho de 2018.

Dose (mg/ml)	Rockefeller		Vila Planalto		Granja do Torto		RCG	
	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)
0,0001	270	270,0 (228,4 - 319,2)	270	149,5 (127,7 - 174,9)	270	594,1 (470,8 - 749,8)	270	203,1 (172,2 - 239,6)
0,0005	270	244,1 (209,9 - 283,8)	270	306,1 (262,6 - 356,9)	270	379,8 (314,5 - 458,6)	270	197,7 (169,1 - 231,0)
0,0007	270	148,3 (129,7 - 169,7)	270	297,9 (256,8 - 345,4)	270	402,8 (331,7 - 489,1)	270	176,6 (152,4 - 204,7)
0,001	270	138,3 (120,5 - 158,7)	270	251,3 (218,1 - 289,6)	270	322,9 (268,6 - 388,3)	270	185,0 (158,6 - 215,8)
0,005	270	141,3 (123,7 - 161,3)	270	226,9 (197,7 - 260,5)	270	244,2 (207,0 - 288,0)	270	150,6 (130,8 - 173,4)
0,007	270	128,0 (112,4 - 145,9)	270	198,4 (173,9 - 226,3)	270	184,7 (159,0 - 214,5)	270	145,6 (126,7 - 167,3)
0,01	270	118,9 (104,8 - 134,9)	270	145,38 (128,0 - 165,0)	270	136,9 (120,1 - 156,0)	270	126,5 (110,9 - 144,4)
0,03	270	102,5 (90,9 - 115,5)	270	123,0 (108,7 - 139,2)	270	118,4 (104,5 - 134,3)	270	103,4 (90,3 - 118,3)

n - Número total de indivíduos expostos.

*TL - Tempo Letal.

Tabela 7 – Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Lago Norte, Varjão e SUAG em julho de 2018.

Dose (mg/ml)	n (2160)	Rockefeller	n (2160)	Lago Norte	n (2160)	Varjão	n (2160)	SUAG
		*TL50% (IC95%)		*TL50% (IC95%)		*TL50% (IC95%)		*TL50% (IC95%)
0,0001	270	270,0 (228,4 - 319,2)	270	657,69 (540,0 - 800,88)	270	366,8 (306,0 - 439,7)	270	483,7 (402,3 - 581,7)
0,0005	270	244,1 (209,9 - 283,8)	270	547,12 (456,4 - 655,8)	270	341,0 (285,8 - 407,0)	270	508,5 (422,9 - 611,5)
0,0007	270	148,3 (129,7 - 169,7)	270	597,0 (494,4 - 720,9)	270	262,5 (223,6 - 308,3)	270	311,1 (266,7 - 362,9)
0,001	270	138,3 (120,5 - 158,7)	270	382,5 (325,7 - 449,1)	270	243,6 (208,1 - 285,1)	270	228,4 (199,6 - 261,4)
0,005	270	141,3 (123,7 - 161,3)	270	283,4 (242,6 - 331,0)	270	220,5 (189,7 - 256,3)	270	267,7 (231,8 - 309,2)
0,007	270	128,0 (112,4 - 145,9)	270	250,2 (217,2 - 288,2)	270	135,8 (118,5 - 155,5)	270	235,7 (205,8 - 269,9)
0,01	270	118,9 (104,8 - 134,9)	270	225,6 (197,1 - 258,2)	270	153,7 (134,3 - 175,7)	270	196,6 (172,2 - 224,3)
0,03	270	102,5 (90,9 - 115,5)	270	192,4 (170,0 - 217,8)	270	113,6 (100,3 - 128,7)	270	178,4 (157,0 - 202,6)

n - Número total de indivíduos expostos.

*TL - Tempo Letal.

6 DISCUSSÃO

6.1 Índice de Positividade de Ovos (IPO) e Índice de Densidade de Ovos de populações de mosquitos *Ae. aegypti* das áreas estudadas

Armadilhas do tipo ovitrampas têm sido utilizadas para o levantamento de índices de infestação de populações de *Ae. aegypti* por parte dos serviços de vigilância entomológica estaduais e municipais. O uso da armadilha ovitrampa é indicado pelo Ministério da Saúde para monitoramento de áreas infestadas e não infestadas por *Ae. aegypti* (Brasil, 2002). Vários estudos vêm sendo realizados nos últimos anos com o intuito de testar a sensibilidade deste tipo de armadilha e os resultados apresentados mostraram-se positivos como descrito por Nunes et al. (2010), Monteiro et al. (2014), Oliveira & Musis (2014), Soares et al. (2015) e Barbosa et al. (2017).

Estudos realizados em outros países também apresentaram resultados positivos, de acordo com Gopalakrishnan et al. (2012) que avaliando a performance de iscas na atração de fêmeas para oviposição, na Índia, observaram que adicionar 30% de palha de arroz a infusão de feno aumenta a coleta de ovos em quatro vezes, em comparação com o uso de apenas água. Esses autores também afirmaram que armadilhas do tipo ovitrampas são úteis para compreender a prevalência sazonal e distribuição de mosquitos das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, uma vez que são de fácil manuseio, menos evasivas, possuem atração de longo alcance e são de baixo custo.

Saide et al. (2014) realizaram inquérito entomológico em 1160 imóveis em Mérida, México, com o intuito de avaliar os níveis de ocorrência do mosquito *Ae. aegypti*. A pesquisa revelou que o aumento do IPO e IDO estavam associados com a presença de adultos no interior e peridomicílio dos imóveis.

Na Malásia, Hasnan et al. (2016) quantificaram a distribuição e abundância de populações de *Ae. aegypti* por meio de 360 armadilhas

ovitrampas instaladas em duas áreas (sem e com surto). Os autores observaram que do total de armadilhas instaladas, 216 foram positivas para *Ae. aegypti*, destas 99 (45,8%) foram procedentes da área sem surto e 117 (54,2%) da área com surto, sendo possível identificar a abundância de mosquito da espécie *Ae. aegypti*, juntamente com sua distribuição na área de surto de dengue.

Nesse estudo foi obtido um total de 7.486 ovos da espécie *Ae. aegypti*. Apesar da variabilidade no número de ovos nas seis áreas do Distrito Federal, quando comparado ao estudo de Nunes et al. (2011) que obtiveram um total de 9.820 ovos de fêmeas da espécie *Ae. aegypti*, em um bairro da cidade de Santana, no estado do Amapá sugere-se que as armadilhas tiveram um bom desempenho, permitindo a coleta de ovos em número suficiente para realização dos bioensaios biológicos com PPF.

A variação no número de ovos obtidos em cada área pode ser explicada por meio das diferentes características ambientais e climáticas, levando em consideração de que fêmeas da espécie *Ae. aegypti* buscam locais muito específicos, como áreas sombreadas e úmidas, com temperatura média de 27°C. Essas alterações podem interferir na produtividade das fêmeas como descrito por Oliveira e Muis (2011) que observaram uma queda na captura de ovos da espécie *Ae. aegypti* em uma escola de Cuiabá – MT, Brasil, devido a remoção da vegetação que proporcionava um ambiente favorável a proliferação da espécie.

A área da Vila Planalto é uma região que possui vários imóveis com presença de vegetação no quintal e grande quantidade de entulhos. Tais fatores associados à elevada pluviosidade do mês de janeiro contribuíram para aumentar a quantidade de criadouros (Monteiro et al., 2014) e, conseqüentemente o rendimento das capturas de ovos na Vila Planalto.

Por outro lado, a área da SUAG possui características muito diferentes, pois se trata de um imóvel público constituído por um conjunto de prédios próximo ao cerrado e sem áreas de sombreamento. Dessa forma, foi possível obter 589 ovos em um período de duas semanas, provavelmente devido à menor quantidade de criadouros disponíveis e redução de volume da

água das chuvas, pois as armadilhas foram instaladas em abril quando no DF as chuvas começam a diminuir. Outro fator que talvez possa ter contribuído foi à realização de aplicação espacial de inseticidas com Ultra Baixo Volume (UBV), conforme relatado pelos trabalhadores locais da SUAG.

A sensibilidade das armadilhas ovitrampas pode ser observada no presente estudo, considerando o tamanho das áreas monitoradas, quantidade de armadilhas instaladas (360 unidades) e o tempo de permanência das armadilhas nos pontos de coleta (duas semanas em cada localidade). Nesse trabalho, a média geral de IPO foi de 49,1% e IDO de 39 ovos nas áreas monitoradas. Monteiro et al. (2014) utilizaram 2.508 armadilhas na cidade de Macapá/AP, entre 2011 a 2012, obtendo um IDO médio de 50 e IDO 103 ovos. Recentemente, Barbosa et al. (2017) monitorando a cidade de Natal, no Rio Grande do Norte registrou um IPO médio de 40% e IDO 51 ovos por armadilha.

Ainda, é possível medir o nível de risco de transmissão de uma determinada área por meio dos valores de IPO e IDO, conforme descrito por Oliveira & Muis et al. (2014). Esses autores mencionaram que áreas não propícias a risco possuem $IPO \leq 40\%$ e $IDO \leq 40$ ovos. Áreas de alerta apresentam IPO entre 41% e 60% e IDO de 41 a 60 ovos e áreas de risco possuem $IPO > 60\%$ e $IDO > 60$ ovos.

Apesar do fato da área da Vila Planalto ter obtido um IPO acima de 60%, indicando área de risco, o IDO foi baixo, sugerindo que as oviposições estavam concentradas em pontos específicos e que possivelmente a distribuição das fêmeas da espécie *Ae. aegypti* não estavam dispersas de forma ampla no território. Segundo Soares et al. (2015), os períodos de seca facilitam a dispersão das fêmeas da espécie *Ae. aegypti*, uma vez que a disponibilidade de criadouros é baixa, induzindo as fêmeas a buscarem outros criadouros em locais mais distantes. Tal fato pode explicar a alta dispersão de fêmeas na área do Lago Norte, levando em consideração que o DF passa por períodos de seca prolongada, principalmente entre os meses de maio a outubro.

A grande variação de temperatura e umidade durante os meses de coleta dos ovos, podem ter influenciado na variação do número de ovos

murchos e eclodidos das populações de campo. A granja do Torto foi a região com o segundo maior número de captura de ovos (n=1.520), mas foi a região com maior número de ovos murchos (n=651), possivelmente isto pode ter ocorrido devido a baixa temperatura e baixa humidade durante o período de coleta o que pode ter afetado o tempo de desenvolvimento do embrião, outra possibilidade foi a forma de armazenamento dos ovos após a coleta. Já o Lago Norte foi a região com maior número de ovos capturados (n=1.904) e foi a que registrou o maior número de ovos eclodidos (n=227), a provável causa pode ter sido devido ao clima quente e úmido durante o período de permanência das armadilhas nas áreas de coleta, favorecendo o processo de eclosão acontecesse em um período mais curto (Silva & Silva, 1999; Beserra et al., 2006; Farnesi et al., 2009).

6.2 Inibição de Emergência de populações de *Aedes aegypti* do campo

Nessa pesquisa, a população de referência da linhagem Rockefeller obteve Inibição de Emergência (IE) de pupas de 99%, na dose de 0,03 µg/ml. Esse resultado assemelha-se ao obtido por Seccacini et al. (2008) que ao tratar população de referência Rockefeller com PPF grau técnico (97,8%) encontraram IE de 100%. Em outro estudo utilizando PPF comercial - Sumilav® (0,5%) em bioensaios de campo com a população Rockefeller registrou-se IE de 91,8%, corroborando também com os valores obtidos neste trabalho, conforme Ochipinti et al. (2014). Vythilingam et al. (2005) e Itoh et al. (1994) também detectaram valores de IE próximos ao observados nesta pesquisa.

Ainda, nessa pesquisa a IE das populações de mosquito *Ae. aegypti* procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG variou entre 87% a 92%, demonstrando suscetibilidade ao PPF. Andrichetti et al. (2008) expuseram, sob condições de laboratório, três populações de mosquito *Ae. aegypti* ao PPF grau técnico (98,5%) oriundas de

Salvador/Bahia, Barreiras/Bahia e Bauru/São Paulo, na qual encontraram baixa resistência ao PPF com média de IE de 97,2%.

Itoh et al. (1994) utilizaram as doses de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0 (ppb) para avaliar o padrão de suscetibilidade de duas populações de mosquito *Ae. aegypti* oriundas de Bangkok, na Tailândia. As populações obtiveram IE maior que 50% a partir das concentrações de 0,1 a 10,0 (ppb) e a média de IE foi de 96,7% em comparação a população referência.

Portanto, ao comparar os resultados de IE das populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes de seis áreas do DF, associado com os demais estudos realizados por outros autores, evidencia-se a elevada suscetibilidade das populações de *Ae. aegypti* ao PPF avaliadas neste trabalho.

6.3 Razão de Resistência (RR) e Concentração de Inibição (CI) de populações de *Aedes aegypti* expostas ao PPF

A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza que se a RR for <5 a população é suscetível, RR entre 5 e 10 trata-se de uma população com resistência moderada e RR >10 a população apresenta resistência (WHO 2016). No presente estudo as populações da Vila Planalto e RCG (RR=0,8) e Varjão (RR=4,0) apresentaram um RR <5, sendo consideradas suscetíveis ao PPF. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados por Leyva et al. (2010) que realizaram testes com PPF grau técnico (97%) em quatro populações de mosquito *Ae. aegypti* oriundas de Cuba, cujos valores de RR foram de RR 3,4, 0,9, 0,5 e 1 para as populações de SANtem F13, Boyeros, Cotorro e 10 de Octubre, respectivamente.

Andrighettii et al. (2008) também detectaram baixos níveis de resistência em duas populações de mosquitos *Ae. aegypti* oriundas de Barreiras/BA (RR=1,4) e Bauru/SP (RR=3,6) quando expostas ao PPF, sob condições de laboratório. Os autores consideraram essas populações como

suscetíveis ao PPF. Populações de *Ae. aegypti* capturados de Martinica também apresentaram RR= 2,2 em bioensaios com PPF grau técnico (98,7%), conforme mostra a pesquisa de Marcombe et al. (2011). Oito populações da espécie *Ae. albopictus* procedentes dos Estados Unidos também apresentaram suscetibilidade ao PPF, na qual obtiveram valores de RR entre 1 a 2,36, de acordo com Marcombe et al. (2014).

As populações da SUAG e Lago Norte obtiveram RR de 5,0 e 7,0, respectivamente. A população da Granja do Torto apresentou RR de 11,0 quando comparada da população Rockefeller. De acordo com WHO (2016) essas populações seriam classificadas com resistência moderada e resistente.

No entanto, ressalta-se que os resultados de IE e mortalidade de pupas comprovam que as populações mencionadas acima são suscetíveis ao análogo de hormônio juvenil PPF. Provavelmente, esses resultados podem ser explicados devido a problemas na padronização da curva dose resposta que não permitiram uma boa estimativa da RR.

Outro fator importante que permite evidenciar a suscetibilidade das populações da SUAG, Lago Norte e Granja do Torto trata-se do resultado da Dose Diagnóstica (DD) que foi estimado em 0,8 µg/ml para esse estudo. Na dose 0,03 µg/ml as populações da SUAG, Lago Norte e Granja do Torto obtiveram IE de 88%, 90% e 91%, respectivamente. Certamente, quando expostas à DD de 0,8 µg/ml apresentariam IE% de 100%.

Além disso, a exposição ao produto comercial (Sumilarv® 0,5 G) recomendado pelo Ministério da Saúde (MS) que utiliza uma dose de 0,01 mg/l em condições de campo deverá inibir emergência de pupas, pois trata-se de uma dose elevada, em comparação com a utilizada nos bioensaios biológicos.

Em relação ao valor de CI50% da população de referência Rockefeller obtido nesse estudo (0,00008 µg/ml), nota-se que Ali et al. (1995) estimaram uma CI50% de 0,00011ppb para a espécie *Ae. albopictus* oriunda da Florida (EUA), quando tratadas com PPF grau técnico (97%), em bioensaios biológicos. Hatakoshi et al. (1987) avaliando a inibição de emergência de *Culex pipiens pallens*, *Anopheles stephensi* e *Aedes aegypti* ao composto ativo de hormônio juvenil sintetizado S-31183 registraram valores de CI50% para *Ae.*

aegypti de 0,023 ppb, *Culex pipiens pallens* de 0,0046 ppb e *Anopheles stephensi* de 0,043 ppb.

Marcombe et al. (2011) obtiveram valores de CI50% de 0,11 ppb para população da espécie *Ae. aegypti* de Bora-Bora e de 0,24 ppb para Vauclin, ambos em Martinica. Leyva et al. (2010) ao tratarem quatro populações de campo de mosquito *Ae. aegypti* ao PPF obtiveram CI50% variando de 0,013 a 0,079 ppb. Gómez et al. (2011) que ao tratar duas populações de mosquitos da espécie *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* demonstraram valores de CI50% de 0,008 e 0,016 ppb. Ahmed et al. (2016) que também ao expor uma população de mosquito *Ae. aegypti* obtiveram CI50% 0,0019. Para todos os autores citados acima, os resultados obtidos revelaram alto grau de suscetibilidade das populações tratadas com PPF. Desta forma, tais resultados corroboram aos obtidos neste estudo e convergem para uma elevada suscetibilidade ao análogo de hormônio juvenil PPF.

6.4 Taxa de mortalidade de larvas e pupas de populações da espécie *Ae. aegypti* tratadas com diferentes doses de PPF

Poucos estudos na literatura utilizaram os indicadores de taxa de mortalidade de larvas (ML) e pupas (MP) em testes de suscetibilidade de mosquitos do gênero *Aedes* ao PPF. O presente estudo analisou estes indicadores, possibilitando comprovar que o PPF não atua como larvicida, ao menos nas baixas concentrações utilizadas nesse trabalho. A mortalidade de larvas das populações de campo variou entre 1,1% a 3,0% e de pupas foi de 54,6% a 75,1%. Esses resultados corroboram com Leyva et al. (2010) que demonstraram que somente acima de 1 ppb o PPF tem ação larvicida.

A população referência Rockefeller do presente estudo obteve uma MP de 75,1%. Seccacine et al. (2008) analisando a MP de mosquito *Ae. aegypti* suscetível tratada com PPF observaram 100% de mortalidade de pupas, para doses de 0,2 e 1 ppm de PPF. Essas doses foram muito elevadas

em comparação com as doses utilizadas nesse trabalho para tratar a população referência, onde a menor dose foi 0,0001 µg/ml e a maior 0,03 µg/ml, ou seja, caso a população Rockefeller fosse tratada com doses superiores a 0,03 µg/ml, certamente teria uma inibição semelhante de 100%.

Monnerat et al. (2012) ao avaliar a eficácia de diferentes larvicidas trataram uma população de mosquito *Ae. aegypti* com PPF (Sumilarv® 0.5 G) produto comercial com uma dose de 0,02 ppm, na qual resultou em 91,4% de mortalidade de pupas. Outro estudo com PPF comercial demonstrou que doses inferiores a 0,01 ppb permitiram uma mortalidade de pupas de 98,5%, conforme descrito por Suman et al. (2014). Esses resultados indicam que o PPF é muito eficiente para inibir a emergência de pupas em populações de mosquitos do gênero *Aedes* quando tratados com doses menores que 0,01 ppb.

6.5 Tempo Letal (TL) 50% e 90% de populações de *Ae. aegypti* expostas ao PPF

O Tempo Letal (TL) é a estimativa de tempo médio necessário para que uma população de inseto exposta a um determinado produto químico atinja 50% de mortalidade de larvas, pupas ou adultos. Esse parâmetro é bastante utilizado para avaliar a suscetibilidade de insetos da subfamília Phlebotominae (Henriquez et al., 2009; Marceló et al., 2014). Recentemente, Arzamani et al. (2018) ao avaliar a suscetibilidade de populações de *Phlebotomus sergenti* oriundo de províncias ao norte do Irã, aos inseticidas DDT (4%), permetrina (0,75%) e bendiocarb (0,1%) com base no TL indicaram que a permetrina é eficiente contra *P. sergenti* e bendiocarb e DDT pouco efetivos.

Anteriormente, mencionou-se que existem poucas informações na literatura que utilizaram os indicadores de ML e MP em testes de

suscetibilidade de mosquitos do gênero *Aedes* ao PPF. Para o monitoramento de resistência de *Ae. aegypti* ao PPF utilizando TL as informações são escassas e quase que inexistentes. Gonzalez et al. (2016) utilizaram o TL50% para avaliar a mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* expostas a Bti, espinosade e temephos combinados com atrativos para larvas (1-octen-3ol e 3-methylphenol). Os autores observaram que o Bti obteve os melhores resultados quando combinado com 0,1 mg/ml de 3-methylphenol e que o TL50% do grupo controle diminui de 153 horas para 88,9 horas.

O TL foi utilizado também para avaliar armadilha letal para larvas e adultos de *Ae. aegypti*. Os autores utilizaram PPF e permetrina combinados, na qual se obteve mortalidade de larvas de quase 100%, em aproximadamente 65,5 horas e mortalidade de adultos de 85%, em 1,2 horas (Parker et al. 2017).

Nesse trabalho, a população Rockefeller, na dose de 0,03 µg/ml obteve TL50% de 102,5 horas. Essa TL50% (102 horas) pode ser utilizada como parâmetro comparativo para detectar variações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* de campo. Portanto, sugere-se pela primeira vez, um tempo de 102 horas para atingir 50% da mortalidade ou IE de pupas de *Ae. aegypti*, uma vez que na literatura não foi encontrado estudos específicos que utilizaram TL como meio de avaliar suscetibilidade dessa importante espécie transmissora de arbovírus no Brasil.

As limitações do estudo ocorreram devido ao intenso clima frio que houve em 2017, fazendo com que a criação e manutenção das colônias de *Ae. aegypti* de campo e referência ficassem prejudicadas quanto a produção da geração F1, mesmo utilizando aquecedores elétricos e umidificadores de ar na sala de criação.

O atraso na obtenção da geração F1 de todas as populações limitou o tempo do estudo. Algumas CI50% apresentaram resultados elevados, sendo necessário utilizar novas subdoses nos bioensaios biológicos, a fim de melhor estimar a curva dose resposta. Esses bioensaios não puderam ser realizados, conseqüentemente, gerou deficiências na padronização da Dose Diagnóstica e nas estimativas de Razão de Resistência que foram obtidas por meio do programa estatístico JMP® Trail 14.0.1.

O presente trabalho colaborou no monitoramento de resistência de populações de mosquito *Ae. aegypti* no DF, comprovando alta suscetibilidade das populações do DF ao PPF, até o momento. No entanto, novas áreas do DF necessitam ser monitoradas, em relação a alteração de suscetibilidade da principal espécie transmissora de arboviroses no Brasil – *Ae. aegypti*.

7 CONCLUSÕES

- ✓ O IPO indica que o mosquito *Ae. aegypti* está presente nas seis áreas estudadas no DF e que a quantidade de ovos (IDO) varia de uma localidade para outra, conforme as características do ambiente;
- ✓ As seis populações procedentes do DF são suscetíveis ao PPF com IE acima de 87%. As RR apontaram baixa resistência ao PPF, apesar das populações da SUAG (RR=5), Lago Norte (RR=7) e da Granja do Torto (RR=11) e apresentarem um alto valor de RR;
- ✓ Para este estudo, a Concentração de Inibição (CI) 99% foi de 0,4 µg/ml e a Dose Diagnóstica (DD) de 0,8 µg/ml, ou seja, 2 X a CI99% da população Rockefeller. A mortalidade de larvas e pupas foi de 1,1% a 3,0% e 54,6% a 72,8%, respectivamente. Esses resultados indicam baixa atividade larvicida e elevada ação na inibição de emergência de pupas de *Ae. aegypti*;
- ✓ A princípio a TL50%=102 horas da população de referência Rockefeller pode ser utilizada como parâmetro comparativo para detectar alterações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* de campo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abad-Franch F, Zamora-Perea E, Ferraz G, Padilla-Torres SD, Luz SLB 2015 Mosquito-Disseminated Pyriproxyfen Yields High Breeding-Site Coverage and Boosts Juvenile Mosquito Mortality at the Neighborhood Scale. *PLoS Negl Trop Dis* 9(4): e0003702. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003702>.

Abbott WS 1987. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Americ Mosq Cont Assoc* 3(2): 302–3.

Ahmed MAI, Vogel CFA 2016. The role of octopamine receptor agonists in the synergistic toxicity of certain insect growth regulators (IGRs) in controlling Dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquito. *Acta Tropica* 155:1–5.

Alencar CHM 2008. Infestação pelo *Aedes albopictus* (Skuse), em criadouros naturais e artificiais encontrados em áreas verdes na cidade de Fortaleza-Ceará. Universidade Federal do Ceará UFC, Departamento de Saúde Comunitária, Fortaleza [Dissertação].

Ali A, Nayar JK, Xue RD 1995. Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 11(1): 72–76.

Alphey L, Benedict M, Bellini R, Clark GG, Dame DA, Service MW, et al. 2010. Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. *Vector Borne. Zoonotic Dis.* 10(3): 295-311.

Andrighetti MTM. et al. 2008 Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temephos. *Dengue Bulletin, Geneva* (32) p186-198.

Aragão MB 1972. A resistência aos Inseticidas e sua Medida em Mosquitos. *Rev Soc Bras Med Trop* 6(2).

Aragão MB, Amaral RS, Lima MM 1988. Aplicação Especial de Inseticidas em Saúde Pública. *Cad Saúde Pública* 2(4): 147–166.

Arzamani K, Vatandoost H, Rassi Y, Abai MR, Akhavan AA, Alavinia M, et al. 2017. Susceptibilidade status of wild population of *Phlebotomus sergenti* (Diptera: Psychodidae) to different insecticides in an endemic focus of cutaneous leishmaniasis in northeast of Iran. *J Vector Borne Dis* 54: p282-286.

Barbosa A, Silva MAN 2002. Preferência por local de oviposição de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae), em relação à presença de imaturos da própria espécie, sob condições de laboratório. *Rev Bras Zool* 19(4): 1147–52.

Barbosa IR, Tavares AM, Torres UPS, Nascimento CA, Moura MCBM, Vieira VB, et al. 2017. Identificação de áreas prioritárias para a vigilância e controle de dengue e outras arboviroses transmitidas pelo *Aedes aegypti* no município de Natal-RN: relato de experiência. *Epidemiol Serv Saúde* 26(3): 629–638.

Benedict MQ, Levine RS, Hawley W, Lounibos P 2007. Spread of the Tiger: Global Risk of Invasion by the Mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7(1): 76–85.

Beserra EB, JR Castro FP, Santos JW, Santos TS, Fernandes CRM 2006. Biologia e Exigências Térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Provenientes de Quatro Regiões Bioclimáticas da Paraíba. *Neo trop Ento* 35(6): 853 – 860.

Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. 2013. The global distribution and burden of dengue. *Author manuscripts PMC* 496(7446): 504–507.

Brady OJ, Gething PW, Bhatt S, Messina JP, Brownstein JS, Moyes CL, et al. 2012. Refining the Global Spatial Limits of Human Virus Transmission Dengue by Consensus Based on Evidence. *PLoS Negl Trop Dis* 6(8).

Braga IA, Mello CB, Montella IR, Lima JBP, Júnior AJM, Medeiros PFV, et al. 2005. Efficacy of Methoprene, an insect growth regulator, against Temephos-resistant *Aedes aegypti* populations from different Brazilian locations under laboratory conditions. *J Med Entomol* 42(5): 830–837.

Braga IA, Valle D 2007. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 16(2): 113–118.

Brasil. Ministério da Justiça 2016. Dispõe sobre a adoção de medidas de vigilância em saúde quando verificada situação de iminente perigo à saúde pública pela presença do mosquito transmissor do vírus da dengue, do vírus chikungunya e do vírus da zika; e altera a Lei no 6.437, de 20 de agosto de 1977. LEI No 13.301, de 27 de Junho de 2016. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2016/lei-13301-27-junho-2016-783279-publicacaooriginal-150644-pl.html>>. Acesso em 10 Julh. 2018.

Brasil. Ministério da Saúde 1999. Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998. Boletim Epidemiológico. Edição especial (Ano III).

Brasil. Ministério da Saúde 2001. Controle de Vetores Procedimentos de Segurança. FUNASA. Fundação Nacional de Saúde (1a): p208.

Brasil. Ministério da Saúde 2002. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) p(7).

Brasil. Ministério da Saúde 2009. Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue (DNPCD). p(79-83).

Brasil. Ministério da Saúde 2017. Vírus Zika no Brasil, resposta do SUS. 2(1).

Brasil. Ministério da Saúde. Ofício –Circular nº. 14/2017-GAB/SVS/MS. Nota informativa nº 013/2017 CGPNCMD/DEVIT/SVS com instruções para emprego do larvicida Pyriproxyfen G 0,5% 2017.

Brasil. Ministério da Saúde 2017. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2016. Boletim Epidemiológico 48(3).

Brasil. Ministério da Saúde 2017. Emergência epidemiológica de febre amarela no Brasil, no período de dezembro 2016 a julho de 2017. Boletim Epidemiológico 48(28).

Brasil. Ministério da Saúde 2018. Monitoramento integrado de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas, até a Semana Epidemiológica 15 de 2018. Boletim Epidemiológico 49(22).

Brasil. Ministério da Saúde 2018. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2017. Boletim Epidemiológico 49(2).

Brasil. Organização Pan-Americana da Saúde, OMS. Organização Mundial da Saúde 2013. Dados da dengue no Brasil. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=3159:dados-da-dengue-no-brasil-2013&Itemid=463>. Acesso em 9 julh. 2018.

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2012. Dengue: situação epidemiológica (de janeiro a abril de 2012). Boletim Epidemiológico 43(1).

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2013. Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2000 a 2011. Boletim Epidemiológico 44(1).

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2015. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya até a Semana Epidemiológica (SE) 53 de 2014. Boletim Epidemiológico 46(3).

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2016. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015. Boletim Epidemiológico 47(3).

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2017. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016. Boletim Epidemiológico 48(3).

Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 2018. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2017. Boletim Epidemiológico 49(2).

Brogdon WG, McAllister JC 1998. Insecticide Resistance and Vector Control. Emerging Infectious Diseases 4(4).

Brown JE, Evans BR, Zhwng W, Obas V, Egizi LA, Zhao H, et al. 2014. Human impacts have shaped historical and recent evolution in *Aedes aegypti*, dengue mosquito and yellow fever. *Author manuscripts PMC* 2015 68(2): 514–525.

Bueno FTC 2017. Vigilância e reposta em saúde no plano regional: um estudo preliminar do caso da febre do Zika vírus. *Rev Ciência & Saúde Coletiva* 22(7): p2305-2314.

Camara TNL 2016. Emerging arboviroses and new challenges for public health in Brazil. *Rev Saúde Pública* 50.

Carvalho DO, McKemey AR, Garziera L, Lacroix R, Donnelly CA, Alphey L, et al. 2015. Suppression of a field population of *Aedes aegypti* in Brazil by sustained release of transgenic male mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis*. 9(7).

Carvalho FD, Moreira LA 2017. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species?. *Neotrop Entomol*.

Catão RC, Guimarães RB 2011. Mapeamento da emergência do dengue no Brasil - 1981/82-2008. *Rev Bras Geo Med Saud* 7(13): 173–85.

Cavalcanti LPG, Freitas ARR, Brasil P, Cunha RV 2017. Survival of arbovirus deaths in the Brazil: from dengue to chikungunya. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 112(8).

Chang C, Ortiz K, Ansari A, Gershwin ME 2016. The Zika outbreak of the 21st century. *J Autoim* 30: 1–13.

Chavasse DC, Yap HH 1997. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneve: WHO/CTD/ WHOPE/ (97):2.

Chediak M, Pimenta FG, Coelho GE, Braga IA, Lima JBP, Cavalcante KRJL, et al. 2016. Spatial and temporal survey of the country of resistance to temephos in Brazilian populations of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 111(5).

Consoli RAGB, Oliveira RL 1994. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio Janeiro - RJ: FIOCRUZ (1).

Costa ZGA, Elkhoury ANM, Romano APM, Flannery B 2011. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Rev Pan-Amaz Saúde* 2(1): 11–26.

D'Amato C, Torres JPM, Malm O 2002. DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental uma revisão. *Quím Nova* 25(6).

Darsie RF1986. Identification of *Aedes albopictus* in Guatemala (Diptera, Culicidae). *Mosq Systematics* 18(3.4).

Darsie RF1992. Key Characters for identifying *Aedes Bahamensis* and *Aedes albopictus*? Us in North America, North of Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 8(3).

Depoli PAC, Zequi JAC, Nascimento KLC, Lopes J 2016. Eficácia de Ovitampas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *Entomo Brasiliis* 9(1): 51–4.

Dias LS, Macoris MLG, Andrighetti MTM, Otrera VCG, Dias AS, Bauzer LGSR, et al. 2017. Toxicity of spinosad in populations of *Aedes aegypti* resistant to temephos in Brazil. *PLoS ONE* 12(3).

Dick OB, Martin JLS, Montoya RH, Diego J, Zambrano B, Dayan GH 2012. The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg* 87(4): 584–93.

Diniz MMCSL, Henriques ADS, Leandro RS, Aguiar DL, Beserra EB 2014. Resistência de *Aedes aegypti* ao temefós e desvantagens adaptativas. *Rev Saúde Pública* 48(5): 775–782.

Donalísio MR, Glasser CM 2002. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. *Rev Bras Epidemiol* 5(3): 259–271.

El-Shazly M 2002. Larvicidal effect of the juvenile hormone mimic pyriproxyfen on *Culex pipiens*. *J Am Mosq Control Assoc* 18(4): 321–328.

Fay RW, Perry AS 1965. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News* 25: 276-81.

Farnesi LC, Brito JM, Linss JG, Pelajo-Machado M, Valle D e Rezende GL 2012. Physiological and Morphological Aspects of *Aedes aegypti* Developing Larvae: Effects of the Chitin Synthesis Inhibitor Novaluron. *PLoS ONE* 7: e30363.

Fontoura NG. et al. 2012 The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107 (3) p387-395.

Forattini OP 1986. Identificação de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuser) no Brasil. *Rev Saúde Pública* (20): p244-245.

Forattini O, Brito M 2003. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. *Rev Saúde Pública* 37(5): 676–677.

Garcia GA, David MR, Martins AJ, Freitas RM, Linss JGB, Araújo SC, et al. 2018. The impact of insecticide applications on resistance dynamics: the case of four populations of *Aedes aegypti* from different Brazilian regions. *PLoS Negl Trop Dis* 12(2).

GDF. Secretaria de Saúde, Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde, Gerência de Vigilância em Vetores e Animais Peçonhentos e Ações de Campo 2016. Memorando Circular N° 03/2016. GDF. Governo do Distrito Federal.

Gluber DJ 1998. Reviews Dengue and Hemorrhagic Fever. *Rev Clin Microbiol* 11(3): 480–96.

Gomes AC 1998. Medidas dos Níveis de Infestação Urbana para *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* e *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. *IESUS* 7(3).

Gómez A, Seccacini E, Zerba E, Licastro S 2011. Comparison of the insecticide susceptibilities of laboratory strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 106(8): p993-996.

Gonzalez PV, Harburguer L, Audino PAG, Masuh HM 2016. The use of larvae of *Aedes aegypti* larvae to increase the efficacy of larvicides. *Sprin Nat* (6): p2185-2190.

Gopalakrishnan R, Das M, Baruah I, Veer V, Dutta P 2012. Studies on the ovitraps baited with hay and leaf infusions for the surveillance of dengue vector, *Aedes albopictus* in northeastern India. *Trop Biomed* 29(4): 598–604.

Gossner CM, Haussig JM, Lary CBS, Aaslay KK, Schlagenhaut P, Sudre B 2018. Increased risk of fever infections yellow fever among unvaccinated European travelers due to continuous outbreak in Brazil, July 2017 as of March 2018. *Euro Surveill* 23(11).

Guedes MLP 2012. Culicidae (Diptera) no Brasil: Relações entre diversidade, distribuição e enfermidades. *Eco Australis* 16(2): 283–296.

Hamid PH, Prastowo J, Ghiffari A, Taubert A, Hermosilla C 2017. Development of *Aedes aegypti* resistance to commonly used insecticides in Jakarta, Indonesia. *PLoS ONE* 12(12).

Hasnan A, Dom NC, Rosly H, Tiong CS 2016. Quantifying the Distribution and Abundance of *Aedes* Mosquitoes in Dengue Risk Areas in Shah Alam, Selangor. *Soc Behav Sciences* 234: 154–163.

Hatakoshi M, Kawada H, Nishida S, Kisida H, Nakayama I 1987. Laboratory evaluation of ethoxy]pyridine against 2-[1-(amertvhyale-2o-f(4 -mpohseqnuoixtyopehsenox y)a-nd housefly. *Sanit Zool* 38(4): 271–274.

Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L, Ranson H 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Bio Mol Biology* 34: 653–65.

Henriquez C, Pereira Y, Cocherro S, Bejarano EE 2009. Dosis diagnóstica y umbral de resistencia de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a dos insecticidas utilizados en salud pública en Colombia: deltametrina y lambdacihalotrina. *Rev Soc Entomol Argent* 68(3-4): 287-294.

Holbrook MR 2017. Historical Perspectives on Research Flavivirus. *MDPI* 9(5): 97-99.

Honório NA, Câmara DCP, Calvet GA, Brasil P 2015. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. *Cad Saúde Pública* 31(5): 906–8.

Imperato PJ 2016. The Convergence of a Virus, Mosquitoes, and Human Travel in Globalizing the Zika Epidemic. *J Community Health* 41(3): p674-679.

Itoh T, Kawada H, Abe A, Eshita Y, Rongsriyam Y, Igarashi A 1994. Utilization of bloodfed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval habitats. *J Am Mosq Control Assoc* 10(3): 344–347.

Juliano SA, Lounibos LP 2005. Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecol Lett* 8(5): 558–574.

Kraemer MUG, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQN, Shearer FM, Barker CM, et al. 2015. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (4).

Kuno G 2015. A review of the history of the etiological confusion between dengue chikungunya. *PLoS Negl Trop Dis* 9(11).

Lalle CCE, Castilletti C, Carletti F, Capobianchi MR, Bordi L 2013. Chikungunya virus infection: an overview. *New Micro Bio* 36:211–227.

Lau KW, Chen CD, Lee HL, Rashid YN, Azirun MS 2015. Evaluation of Growth Regulators of Insects Against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Collected in Field (Diptera: Culicidae) from Malaysia. *J Med Entomol* 52(2): 199–206.

Leta S, Beyene TJ, Clercq EM, Amenu K, Kraemer MUG, Revie CW 2017. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. 67 (25–35).

Leyva YR, Coto MMR, Lazcano JL, Insueta OP, Valdés LS 2010. Eficacia del pyriproxyfen para el control de *Aedes (S) aegypti* (Diptera: Culicidae) en cepas con diferentes niveles de resistencia a temefos. *Rev Cubana Med Trop* 62(3): 224–9.

Lima EP, Filho AMO, Lima JWO, Júnior ANR et al. 2006 Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do Estado do Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop* 39 (3): p259-263.

Macoris MLG, Andrighetti MTM, Nalon KCR, Garbeloto VC, Júnior ALC 2005. Standardization of Bioassays for Monitoring Resistance to Insecticides in *Aedes aegypti*. Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN (29).

Malta JMAS, Vargas A, Leite PL, Percio J, Coelho GE, Ferraro AHA, et al. 2017. Síndrome de Guillain-Barré e outras manifestações neurológicas possivelmente relacionadas à infecção pelo vírus Zika em municípios da Bahia, 2015. *Epidemiol Serv Saúde* 26(1): 9–18.

Maoz D, Ward T, Samuel M, Müller T, Ranzinger SR, Toledo J, et al. 2017. Community efficacy of pyriproxyfen as a vector control method for dengue: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 11(7).

Marceló C, Cabrera OL, Santamaría E 2014. Sensitivity indicators of an experimental line of *Lutzomya longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to three insecticides for use in public health in Colombia. *Biomédico* 34(4): 624-630.

Marcombe S, Darriet F, Agnew DP, Etienne M, Yp-Tcha MM, Yébakima A, et al. 2011. Field Efficacy of New Larvicide Products for Control of Multi-Resistant *Aedes aegypti* Populations in Martinique (French West Indies). *J Trop Med* 84(1): p118-126.

Marcombe S, Farajollahi A, Healy SP, Clark GG, Fonseca DM 2014. Insecticide Resistance Status of United States Populations of *Aedes albopictus* and Mechanisms Involved. *PLoS ONE* 9(7).

Marques CDL, Duarte ALBP, Ranzolin A, Dantas AT, Cavalcanti NG, Gonçalves RSG, et al. 2017. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte 1 – Diagnóstico e situações especiais. *Rev Bras Reumato* 57(S2) S421–37.

Medeiros AS, Costa DMP, Branco MSD, Sousa DMC, Monteiro JD, Galvão SPM, et al. 2018. Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte. *PLoS ONE*.13(3).

Melander AL 1914. Can insects become resistant to sprays? *J economic entomol* 7(75): 167–73.

Miyamoto J, Hirano M, Takimoto Y, Hatakoshi M 1993. Insect Growth Regulators for Pest Control, with Emphasis on Juvenile Hormone Analogs. *ACS Symp series* 524(11): p144-168.

Monnerat R, Dumas V, Ramos F, Pimentel L, Nunes A, Sujii E, et al. 2012. Evaluation of Different Larvicides for the Control of *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) under Simulated Field Conditions. *Soc Ent Bras* 7(3).

Monroy BL, Rodriguez SMG, Segura OKV, Garcia GP, Forcada FM, Alvarez LC, et al. 2018. Frequency and intensity of pyrethroid resistance through the CDC bottle bioassay and their association with the frequency of kdr mutations in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. *Pest Manag Sci* doi: 10.1002 / ps.4916.

Monteiro FJC, Carvalho JCT, Souto RNP 2014. Distribuição da Oviposição e Dinâmica Temporal do *Aedes aegypti* (Linnaeus) por Meio de Ovitampas. *Entomo Brasiliis* 7(3): 188–192.

Morais JO, Ribeiro SA, Monteiro SA, Rodrigues FAF, Morais AMB 2017. Avaliação do regulador de crescimento de insetos pyriproxyfen em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Tema em Saúde* 17(1): 403–20.

Moreira MF, Mansur JF, Mansur JF 2012. Resistência e Inseticidas: Estratégias, Desafios e Perspectivas no Controle de Insetos. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Entomologia Molecular. Creat Comm Attrib Lic.

Moreira MF, Mansur JF, Mansur JF 2012. Resistência e Inseticidas: Estratégias, Desafios e Perspectivas no Controle de Insetos. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia em Entomologia Molecular. Disponível em: <http://www.inctem.bioqmed.ufrj.br/images/documentos/biblioteca/Capitulo_15_Resistencia_a_Inseticidas_-_Estrategias_Desafios_e_Perspectivas_no_Controle_de_Insetos.pdf>. Acesso em 13 julh. 2018.

Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, et al. 2017. Contemporary status of resistance to insecticides in the main vectors *Aedes* arbovirus infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis* 11(7).

Mulla MS, Darwarzeh HA, Schreiber ET 1989. Impact of new insect growth regulators and their formulations on mosquito larval development in impoundment and floodwater habitats. Department of Entomology, University of California Riverside. *J Am Mosq Control Assoc* 5(1): 15-20.

Natal D 2002. Bioecologia do *Aedes aegypti*. Faculdade de Saúde Pública/USP. *Biológico* 64(2): p205-207.

Nauen R 2007. Perspective Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Manag Sci* 63:628–33.

Nelson MJ 1986. *Aedes aegypti* Biología y Ecología. Organización Panamericana de La Salud.

Normile D 2013. Surprising New Dengue Virus Throws A Spanner in Disease Control Efforts. 342.

Nunes LS, Trindade RBR, Souto RNP 2011. Avaliação da atratividade de ovitrampas a *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linneus (Diptera: Culicidae) no bairro Hospitalidade, Santana, Amapá. *Bio Amazônia* 1(1): 26–31.

Ochipinti GM, Berti J, Guerra LA, Salazar M, Escobar CZ, Gómez JÁ 2014. Efecto del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de la Pedrera, Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología Y Salud Ambiental* 54(2): 208–219.

Oliveira TES, Muis CR. Análise da flutuação das populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em uma escola de Cuiabá-MT 2014. *Rev Eletr Ges, Edu Tecno Amb – REGET* 18(1): 178-186.

Oo Min SZ, Thaug S, Maung YNM, Aye KM, Aung ZZ, Thu HM, et al. 2018 Efficacy of a new long-lived pyriproxyfen larvicide (SumiLarv®2MR) against *Aedes* mosquitoes in schools in Yangon, Myanmar. *Vectores Parasit* 11(16).

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde, OMS. Organização Mundial de Saúde 2016. Zika – Atualização Epidemiológica PAHO/WHO.

Paixão ES, Teixeira MG, Rodrigues LC 2017. Zika, chikungunya and dengue: the causes and threats of new and emerging diseases arviral. *BMJ Glob Health*. 3(1). e000530.

Palchick S 1996. Chemical control of vectors. In JB Beaty, WC Marquardt (eds), *The Biology of the Disease Vectors*. University Press of Colorado p. 502-511.

Parker CN, Pereira RM, Baldwin RW, Chaskopoulou A, Koehler G 2017. Laboratory Evaluation of a novel lethal ovitrap for controlo d *Aedes aegypti*. *J med Entomol* 54(6): 1666-1673.

Pessoa VEM, Cavalcante ILR, Florindo MIG 2013. *Aedes albopictus* no Brasil: aspectos ecológicos e riscos de transmissão da dengue. *Entomol Trop* 28(2): 75–86.

Portal GDF, SISCULT/DF. História de Brasília. Disponível em: <<http://www.df.gov.br/historia/>>. Acesso em 06 Mai. 2018.

Portal IBGE, Brasil. Distrito Federal Panorama Socioeconômico e demográfico. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/df/panorama>> Acesso em 06 Mai. 2018.

Prokope GMV, Barreiro AM, Mendoza AC, Manzanilla FD, Morales FC, May GG, et al. 2017. Deltamethrin resistance in *Aedes aegypti* results in treatment failure in Merida, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 11(6).

Renteria BL, Troupin A, Colpitts TM 2016. Arbovirose and potential transmission-blocking vaccines. *Vetores Parasit*. 9(516).

Resende MC, Gama RA 2006. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti*. *Rev Soc Bras Med Trop* 39(1): 72–5.

Rey JR, Lounibos P 2015. Ecology of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Americas and streaming. *Rev Biom* 35(2).

Ross RW 1956. The Newala epidemic III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. *Journal Epi Infec* 54(2): 177–191.

Saide PM, Coleman P, McCall PJ, Lenhart A, Prokopec GV, Davies CR 2014. Multi-scale analysis of the associations among egg, larval and pupal surveys and the presence and abundance of adult female *Aedes aegypti* (*Stegomyia*) in the city of Merida, Mexico. *Med Vet Entomol* 28: 264–272.

Salles TS, Sá-Guimarães TE, Alvarenga ESL, Ribeiro VG, Meneses MDF, Salles PFC, et al. 2018. History, epidemiology and diagnosis of dengue in the American and Brazilian context: a review. *Vetores Parasit* 11(264).

Seccacini E, Lucia A, Harburguer L, Zerba E, Licastro S, Masuh H 2008. Efficacy of the formulations of γ riproxifen and diflubenzuron as larvicides Against *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc* 24(3): 398–403.

Shearer FM, Longbottom J, Browner AJ, Pigott DM, Brady OJ, Moritz DP, et al. 2018. Existing and potential risk zones of yellow fever worldwide: a modeling analysis. *Lancet Glob Health* 6(3): 270–8.

Siddall JB 1976. Insect Growth Regulators and Insect Control: A Critical Appraisal. *Env Hea Pers* 14: pp 119-126.

Silva HHG, Silva IG 1999. Influence of eggs quiescence period on the *Aedes aegypti* (Linnaeus,1762) (Diptera,Culicidae) life cycle at laboratory conditions. *Rev Soc Bras Med Trop* 32(4): 349-355.

Silva VC, Freire NMS, Silva JS, Scherer PO, Cunha SP, Alencar J 2009. Estudo comparativo entre larvitrapas e ovitrapas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo Grande, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 42(6): 730–731.

Silva VC, Scherer PO, Falcão SS, Alencar J, Cunha SP, Rodrigues IM, et al. 2006. Diversidade de criadouros e tipos de imóveis frequentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. *Rev Saúde Públ* 40(6): 1106–11.

Soares FA, Silva JC, Oliveira JBBS, Abreu FVS 2015. Study of oviposition behavior of *Aedes aegypti* in two neighborhoods under the influence of semi-arid climate in the municipality of Salinas, state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Patol Trop* 44(1): 77–88.

Suman DS, Farajollahi A, Healy S, Williams GM, Wang Y, Schoeler G, et al. 2014. Point-source and area-wide field studies of pyriproxifen autodissemination against urban container-inhabiting mosquitoes. *Acta Tropica* 135:96–103.

Sumitomo Chemical Co. Ltd. Informação Técnica SumiLarv. 2012.

Tauil PL 2002. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Rev Saúde Públ* 18(3): 867–871.

Tauil PL 2010. Aspectos críticos do controle de febre amarela no Brasil. *Rev Saúde Públ* 44(3): 555–558.

Tauil PL 2014. Condições para a transmissão da febre do vírus chikungunya. *Epidemiol Serv Saúde* 23(4): 773–774.

Terra MR, Silva RS, Pereira MGN, Lima AF. *Aedes aegypti* e as Arbovíroses Emergentes no Brasil 2017. *Rev UNINGÁ* 30(3): 52–60.

Tunaz H, Uygun N 2003. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. *Turk J Agric For* 28(2004): 377-387.

Valle D, Oliveira RL 2016. Considerações técnicas sobre a aplicação aérea de inseticidas em área urbana. Nota Técnica nº 4/2016/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA. *Instituto Oswaldo Cruz* (1).

Vasconcelos PFC. Febre Amarela 2003. *Rev Soc Bras Med Trop* 36(2): 275–93.

Vignuzzi M, Higgs S 2017. The Bridges and Blockades to Evolutionary Convergence on the Road to Predicting Chikungunya Virus Evolution. *Annu Rev Virol* 4:181–200.

Vythilingam I, Luz BM, Hanni R, Beng TS, Huat TC 2005. Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator pyriproxyfen (Sumilarv 0.5G) against dengue vectors. *J Am Mosq Control Assoc* 1(3): 296–300.

Waliszewski SM, Gomez-Arroyo S, Infanzon RM, Villalobos-Pietrini R, Hart MM 2003. Comparison of organochlorine pesticide levels between abdominal and breast adipose tissue. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 71(1): 156-162.

Wermelinger ED, Carvalho RW 2016. Métodos e procedimentos usados no controle de *Aedes aegypti* na bem-sucedida campanha de profilaxia da febre

amarela de 1928 e 1929 no Rio de Janeiro. *Epidemiol Serv Saúde* 25(4): 837–844.

WHO. World Health Organization, La Santé 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807.

WHO. World Health Organization 1982. Critères d'Hygiène de l'Environnement: DDT et ses Derivés. Grande Bretagne. Organisation Mondiale De La Santé (9).

WHO. World Health Organization 1997. Chemical Methods for control of vector and pests of public health importance.

WHO. World Health Organization 1999. Environmental Health Criteria 217 Microbial Pest Control Agent *Bacillus thuringiensis*.

WHO. World Health Organization 2005. Pyriproxyfen in Drinking-water, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/0304/113.

WHO. World Health Organization 2013. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Organisation mondiale de La Santé 88(27): 269–84.

WHO. World Health Organization 2016. Monitoring and managing insecticide resistance in Aedes mosquito populations. Interim guidance for entomologists. WHO,/ZIKV/VC/ 16.1, Genova.

WHO. World Health Organization 2016. Statement on the first meeting of the International Health Regulations (IHR 2005) Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations. Saudi Med J 37(3): 332–333.

WHO. World Health Organization 2017. Global vector control response 2017–2030, Switzerland p53. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259205/1/9789241512978-eng.pdf>>. Acesso em: 10 Julh. 2018.

WHO. World Health Organization 2017. Global vector control response: an integrated approach for the control of vector-borne. Disponível em: <http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R16-en.pdf>. Acesso em 11 Julh. 2018.

Yap ZHA, Chen CD, Azirun MS, Low VL 2018. Pyrethroid resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in Southeast Asia: present situation and prospects for management. *Parasites & Vectors* 11(332).

Zara ALSA, Santos SM, Oliveira ESF, Carvalho RG, Coelho GE 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol Serv Saúde* 25(2): 391–404.

Apêndice 1. Ficha de anotação de mortalidade.

Ensaio Nº: 02										Investigador: Bruno		População: Vila Planalto				Espéc: <i>Ae. aegypti</i>	
Data: 22/03/2018		Hrs: 13:50		T°C: 26,0°C				UR: 65%									
Controle		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,0001		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,0005		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,0007		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,001		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,005		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,007		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,01		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
Data:		Hrs:		T°C:				UR:									
0,03		VIVO				MORTO											
	Qty	L	P	A	TV	L	P	A	TM								
R1	30																
R2	30																
R3	30																
Total	90																
População total não exposta:					90												
População total exposta:					720												

ANÁLISE DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE SEIS POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* DO DISTRITO FEDERAL AO ANÁLOGO DE HORMÔNIO JUVENIL PYRIPROXYFEN

Bruno Lopes Carvalho¹, Rayssa Nádia Leite Germano¹, Kátia Maria Leal Braga² Evaldo Rosano Ferreira de Araújo², Marcos Takashi Obara³.

Núcleo de Medicina Tropical Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil¹.
Laboratório de Entomologia Médica, Ministério da Saúde, CGLAB/SVS/MS, Brasília, Distrito Federal, Brasil². Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Distrito Federal³.

brunolopesbio26@gmail.com¹, mmb.nardia@gmail.com¹,
katiabraga@globo.com² evaldorfaraujo@gmail.com²,
marcos.obara@gmail.com³

Revista: Parasites & Vectors

Resumo

Contexto:

O estudo avaliou o perfil de suscetibilidade de seis populações da espécie *Aedes aegypti* ao análogo de hormônio juvenil pyriproxyfen, no Distrito Federal, Brasil.

Resultados:

As populações procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG apresentaram elevada suscetibilidade ao PPF, com média de Inibição de Emergência (IE) de 92%. A população de referência obteve IE de 99% e Concentração de Inibição (CI) 99% de 0,4 µg/ml. A dose-diagnóstica (DD) deste estudo foi de 0,8 µg/ml. A mortalidade de larvas e pupas foi de 1,1% a 3,0% e 54,6% a 72,8%, respectivamente. A Razão de Resistência (RR) foi de 0,8 para Vila Planalto e RCG; 4,0 para a população do Varjão; 5,0 para SUAG; 7,0 para o Lago Norte e 11 para Granja do Torto. Apesar dessas últimas populações apresentarem valores de RR acima de 10, quando expostas a DD (0,8 µg/ml), provavelmente o valor da IE atingirá 100%. Por fim, sugere-se utilização da TL50%=102 horas da população de referência Rockefeller como parâmetro comparativo para detectar alterações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* de campo.

Conclusões:

As seis populações de mosquito *Ae. aegypti* do Distrito Federal apresentaram elevado nível de suscetibilidade ao PPF. No entanto, novas áreas do DF necessitam ser monitoradas, em relação à alteração de suscetibilidade da principal espécie transmissora de arboviroses no Brasil – *Ae. aegypti*.

Palavras-chave

Aedes aegypti, suscetibilidade, resistência, pyriproxyfen, IGR

Introdução

Os vírus transmitidos por mosquitos são denominados de “arbovírus”, sendo responsáveis pelas principais doenças de importância para saúde pública no Brasil e no mundo, tais como, Febre Amarela, Dengue, Chikungunya e Zika devido ao grande impacto produzido na saúde e na economia (OPAS/ OMS, 2016; Camara, 2016; Renteria et al., 2016). Leta et al. (2017) relataram a ocorrência de ao menos uma das doenças produzidas por estes arbovírus em 146 países e ocorrência de múltiplas doenças em 123 destes países, sendo seus principais vetores os mosquitos da espécie *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894).

Ae. aegypti por sua vez, é o principal vetor de arboviroses no Brasil e está distribuído em todas as unidades federativas do país (Zara et al., 2016). Os fatores ambientais, socioeconômico, biológicos e não biológicos favorecem a dispersão e proliferação desta espécie, além dos seus hábitos urbanos, endofilia e endofagia, domiciliação e estratégia de oviposição em criadouros artificiais, na quais potencializam seu poder de dispersão das arboviroses (Barbosa & Silva, 2002; Silva et al., 2009).

Historicamente, o controle da espécie *Aedes aegypti* foi realizado com o organoclorado diclorodifeniltricloreto (DDT), organofosforados (malathion, fenitrothion), carbamato (bendiocarb), piretróides (cipermetrina, deltametrina e alfacipermetrina), inseticidas biológicos (*Bacillus thuringiensis*) e inseticidas reguladores de crescimento também chamados de Insect Growth Regulator (IGR) (Zara et al., 2016). Atualmente, existe registro de resistência estabelecida para organofosforados e piretróides em diversas populações de *Ae. aegypti*, no Brasil (Medeiros et al., 2018; Fontoura et al., 2012; Macoris et al., 2007; Moyes et al., 2017).

Para reduzir as chances de desenvolvimento de resistência em populações de *Ae. aegypti* houve no Brasil a substituição gradativa dos inseticidas neurotóxicos por reguladores de crescimento (ou Insect Growth

Regulator – IGR) como o diflubenzuron, novaluron e atualmente o pyriproxyfen (Braga & Valle, 2007).

No Brasil o PPF tem sido utilizado, no controle de larvas, desde o segundo semestre de 2014. Esse produto começou a ser utilizado no Distrito Federal (DF), em 2016, sendo que seu uso é cada vez mais frequente e comum em todo o DF (Brasil, 2017; GDF, 2016).

Apesar do uso recente já existe registro de resistência moderada de *Ae. aegypti* ao IGR methoprene, em 2015, na Malásia (Lau et al., 2015). No Distrito Federal, a primeira pesquisa de resistência ao PPF foi realizada em 2012, quando uma população resistente ao temefós, procedente de Planaltina foi submetido à bioensaios de campo para detectar resistência cruzada ao *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTi) e PPF, conforme mostra Monnerat et al. (2012). Os resultados obtidos mostraram suscetibilidade ao PPF, porém sua eficácia diminuiu a 80%, após 60 dias de exposição.

Existem poucas informações a respeito do perfil de suscetibilidade da espécie *Ae. aegypti* ao PPF que evidencie o desenvolvimento de resistência em populações oriundas do DF. Essa informação é de extrema importância para nortear as atividades de controle do principal vetor de arbovírus no Brasil – *Ae. aegypti*.

Nesse contexto, o objetivo foi analisar a suscetibilidade de populações de *Ae. aegypti* procedentes de seis áreas do Distrito Federal (DF) ao análogo de hormônio juvenil PPF.

Métodos

Área de estudo - O estudo foi realizado no Distrito Federal (DF), situado na região Centro-Oeste do Brasil, Latitude: – 15,7941 e Longitude: - 47,8825. Foram selecionadas seis Regiões do Distrito Federal, na qual a Diretoria de Vigilância Ambiental (DIVAL) fez uso do PPF no controle de larvas e pupas de *Ae. aegypti*, nos últimos 3 anos. As Regiões foram às seguintes: Região 1 - Vila

Planalto; Região 2 - Granja do Torto; Região 3 – 1º Regimento de Cavalaria de Guardas (RCG) localizado no Setor Militar Urbano; Região 4 – Lago Norte; Região 5 – Varjão e Região 6 – Complexo da Subsecretaria de Justiça do Distrito Federal (SUAG-DF), antiga rodoferroviária, situado no Setor de Indústria e Abastecimento.

Obtenção das amostras de campo - Foram instaladas 60 armadilhas do tipo ovitrapa (Fay & Perri, 1965), com adição de feno a 10% para aumentar o rendimento de captura dos ovos (Silva et. a., 2009; Depoli et al., 2016). Todas as armadilhas permaneceram por duas semanas em cada área em locais protegidos de chuva, sombreado e com pouca movimentação de pessoas e animais (Nunes et al., 2011).

População Suscetível - Foi utilizada a população Rockefeller de *Ae. aegypti*, obtida do insetário do Núcleo de Entomologia da Diretoria de Vigilância Ambiental/DIVAL/SES/DF.

Produto químico escolhido - Pyriproxyfen (PPF), grau técnico 97%, fornecido pela empresa ROGAMA NEOGENV® Company.

Bioensaios biológicos - Os bioensaios biológicos foram conduzidos de acordo com WHO (1981) e adaptações de WHO (2005) e WHO (2016). As doses utilizadas foram de 0,0001; 0,0005; 0,0007; 0,001; 0,005; 0,007; 0,01 e 0,03 µg/ml. Para cada dose foram expostas um total 270 larvas de 3º e 4º estádios e o grupo controle foi de 90 larvas. Todas as larvas foram selecionadas de maneira mais homogênea possível para padronização da idade fisiológica e cronológica. As larvas foram colocadas em copos de 400 ml com 250 ml de água destiladas, cobertos com uma rede de malha fina presa a borda com uma liga elástica e alimentadas com 3 mg de ração Natural Guabi®. O registro de mortalidade foi realizado a cada 48 horas, por um único pesquisador, sendo finalizado somente quando todas as pupas realizassem a emergência para adultos, no grupo controle. Todos os bioensaios foram realizados em duplicatas em três dias diferentes. A temperatura (25°C a 30°C) e umidade relativa do ar (70% a 80%) foram controladas por aquecedor e umidificador de ar comum.

Análises estatísticas - Foi utilizado o programa JMP® Trial 14.0.1 para estimar a Inibição de Emergência (IE%) das populações tratadas com PPF (Leyva, 2010), Razão de Resistência (RR), onde IE%50 da população de campo foi dividido pelo IE%50 da população suscetível e o Tempo Letal (TL) necessário para que as populações de tratadas atingissem 50% e 90% de mortalidade ou IE. Outros dados também foram analisados, tais como, média de mortalidade de larvas (ML%), média de mortalidade de pupas (MP%) (Ochipinti et al., 2014; Gomes, 1998). O critério adotado foi de RR <5 indica uma população de campo suscetível, RR entre 5 e 10 resistência moderada e RR >10 alta resistência (WHO, 2016; Lau et al., 2015)

Resultados

Foram expostas um total de 15.120 larvas do mosquito *Ae. aegypti*. De modo geral, as populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG apresentaram elevada suscetibilidade ao análogo de hormônio juvenil PPF, conforme os resultados da IE, as quais podem ser observadas na Tabela 1. A população de referência Rockefeller obteve a maior IE, quando comparadas às demais populações de campo, ou seja, na dose de 0,03 µg/ml observa-se a IE de 99% dos adultos da linhagem de referência Rockefeller.

A média da IE de pupas da espécie *Ae. aegypti* para população Rockefeller foi de 76%, enquanto que para as populações de campo, houve variação de 74,5% (Vila Planalto) a 54% (Granja do Torto), conforme mostra a Fig. 1.

A Dose Diagnóstica para esse estudo foi de 0,8 µg/ml, ou seja, 2 X a CI99% da população Rockefeller. A Razão de Resistência (RR) foi de 0,8 para Vila Planalto e RCG; 4,0 para a população do Varjão; 5,0 para SUAG; 7,0 para o Lago Norte e 11,0 para Granja do Torto (Tab. 2). Apesar dos valores de RR acima de 10 nas duas últimas populações, quando expostas a DD (0,8 µg/ml) serão suscetíveis ao PPF. Nas populações de campo registra-se média

de mortalidade de larvas entre 1,1% a 3,0%, indicando que a morte de larvas expostas ao PPF é baixa, conforme mostra a Tab 3. Enquanto que, os valores médios de mortalidade de pupas foram de 75,1% para população Rockefeller, seguida da população de *Ae. aegypti* da Vila Planalto (72,8%), RCG (68,1%), Varjão (63,8%), SUAG (62,6%) e Lago Norte (59%) Granja do Torto (54,6%).

TL50% da população Rockefeller variou entre 270 a 102,5 horas nas doses entre 0,0001 a 0,03 µg/ml conforme mostra a Tab 4. TL50% da população Rockefeller para a dose de 0,0001 µg/ml foi de 270 horas. Nessa mesma dose observa-se que os TL50% da população da Granja do Torto e Lago Norte foram de 594,1 e 657,69 horas, respectivamente. Comparativamente, as TL50% dessas populações levaram o dobro de tempo, em relação a população Rockefeller para matar 50% das larvas expostas. A população Rockefeller, na dose de 0,03 µg/ml, obteve um TL50% de 102,5 horas.

Discussão

A Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza que se a RR for <5 a população é suscetível, RR entre 5 e 10 trata-se de uma população com resistência moderada e RR >10 a população apresenta resistência (WHO 2016). No presente estudo as populações da Vila Planalto e RCG (RR=0,8) e Varjão (RR=4,0) apresentaram um RR <5, sendo consideradas suscetíveis ao PPF. Esses resultados corroboram com os resultados encontrados por Leyva et al. (2010) que realizaram testes com PPF grau técnico (97%) em quatro populações de mosquito *Ae. aegypti* oriundas de Cuba, cujos valores de RR foram de RR 3,4, 0,9, 0,5 e 1 para as populações de SANtem F13, Boyeros, Cotorro e 10 de Octubre, respectivamente.

Andrighettii et al. (2008) também detectaram baixos níveis de resistência em duas populações de mosquitos *Ae. aegypti* oriundas de Barreiras/BA (RR=1,4) e Bauru/SP (RR=3,6) quando expostas ao PPF, sob condições de laboratório. Os autores consideraram essas populações como suscetíveis ao PPF. Populações de *Ae. aegypti* capturados de Martinica

também apresentaram RR= 2,2 em bioensaios com PPF grau técnico (98,7%), conforme mostra a pesquisa de Marcombe et al. (2011). Oito populações da espécie *Ae. albopictus* procedentes dos Estados Unidos também apresentaram suscetibilidade ao PPF, na qual obtiveram valores de RR entre 1 a 2,36, de acordo com Marcombe et al. (2014).

As populações da SUAG e Lago Norte obtiveram RR de 5,0 e 7,0, respectivamente. A população da Granja do Torto apresentou RR de 11,0 quando comparada da população Rockefeller. De acordo com WHO (2016) essas populações seriam classificadas com resistência moderada e resistente.

No entanto, ressalta-se que os resultados de inibição de emergência e mortalidade de pupas comprovam que as populações mencionadas acima são suscetíveis ao análogo de hormônio juvenil PPF. Provavelmente, esses resultados podem ser explicados devido a problemas na padronização da curva doses resposta, não permitindo uma boa estimativa da RR.

Outro fator importante que comprova a suscetibilidade das populações da SUAG, Lago Norte e Granja do Torto trata-se do resultado da Dose Diagnóstica (DD) que foi estimado em 0,8 µg/ml para esse estudo. Na dose 0,03 µg/ml as populações da SUAG, Lago Norte e Granja do Torto obtiveram IE de 88%, 90% e 91%, respectivamente. Certamente, com a exposição à DD de 0,8 µg/ml apresentariam IE% de 100%.

Nessa pesquisa, a população de referência da linhagem Rockefeller obteve Inibição de Emergência (IE) de pupas de 99%, na dose de 0,03 µg/ml. Esse resultado assemelha-se ao obtido por Seccacini et al. (2008) que ao tratar população de referência Rockefeller com PPF grau técnico (97,8%) encontraram IE de 100%. Em outro estudo utilizando PPF comercial - Sumilav® (0,5%) em bioensaios de campo com a população Rockefeller registrou-se IE de 91,8%, corroborando também com os valores obtidos neste trabalho, conforme Ochipinti et al. (2014). Vythilingam et al. (2005) e Itoh et al. (1994) também detectaram valores de IE próximos ao observados nesta pesquisa.

Ainda, nessa pesquisa a IE das populações de mosquito *Ae. aegypti* procedentes da Vila Planalto, Granja do Torto, RCG, Lago Norte, Varjão e SUAG variou entre 87% a 92%, demonstrando suscetibilidade ao PPF. Andrighetti et al. (2008) expuseram, sob condições de laboratório, três populações de mosquito *Ae. aegypti* ao PPF grau técnico (98,5%) oriundas de Salvador/Bahia, Barreiras/ Bahia e Bauru/São Paulo, na qual encontraram baixa resistência ao PPF com média de IE de 97,2%.

Itoh et al. (1994) utilizaram as doses de 0,001; 0,01; 0,1; 1,0 e 10,0 (ppb) para avaliar o padrão de suscetibilidade de duas populações de mosquito *Ae. aegypti* oriundas de Bangkok, na Tailândia. As populações obtiveram IE maior que 50% a partir das concentrações de 0,1 a 10,0 (ppb) e a média de IE foi de 96,7% em comparação a população referência.

Ao comparar os resultados de IE das populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes de seis áreas do DF, associado com os demais estudos realizados por outros autores, evidencia-se a elevada suscetibilidade das populações de *Ae. aegypti* ao PPF avaliadas neste trabalho.

Em relação ao valor de CI50% da população de referência Rockfeller obtido nesse estudo (0,00008 µg/ml), nota-se que Ali et al. (1995) estimaram uma CI50% de 0,00011ppb para a espécie *Ae. albopictus* oriunda da Florida (EUA), quando tratadas com PPF grau técnico (97%), em bioensaios biológicos. Hatakoshi et al. (1987) avaliando a inibição de emergência de *Culex pipiens pallens*, *Anopheles stephensi* e *Ae. aegypti* ao composto ativo de hormônio juvenil sintetizado S-31183 registraram valores de CI50% para *Ae. aegypti* de 0,023 ppb, *Culex pipiens pallens* de 0,0046 ppb e *Anopheles stephensi* de 0,043 ppb.

Marcombe et al. (2011) obtiveram valores de CI50% de 0,11 ppb para população da espécie *Ae. aegypti* de Bora-Bora e de 0,24 ppb para Vauclin, ambos em Martinica. Leyva et al. (2010) ao tratarem quatro populações de campo de mosquito *Ae. aegypti* ao PPF obtiveram CI50% variando de 0,013 a 0,079 ppb. Gómez et al. (2011) que ao tratar duas populações de mosquitos da espécie *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* demonstraram valores de CI50% de 0,008 e 0,016 ppb. Ahmed et al. (2016)

que também ao expor uma população de mosquito *Ae. aegypti* obtiveram CI50% 0,0019. Para todos os autores citados acima, os resultados obtidos revelaram alto grau de suscetibilidade das populações tratadas com PPF. Desta forma, tais resultados corroboram aos obtidos neste estudo e convergem para uma elevada suscetibilidade ao análogo de hormônio juvenil PPF.

Poucos estudos na literatura utilizaram os indicadores de taxa de mortalidade de larvas (ML) e pupas (MP) em testes de suscetibilidade de mosquitos do gênero *Aedes* ao PPF. O presente estudo analisou estes indicadores, possibilitando comprovar que o PPF não atua como larvicida, ao menos nas baixas concentrações utilizadas nesse trabalho. A mortalidade de larvas das populações de campo variou entre 1,1% a 3,0% e de pupas foi de 54,6% a 75,1%. Esses resultados corroboram com Leyva et al. (2010) que demonstraram que somente acima de 1 ppb o PPF tem ação larvicida.

A população referência Rockefeller do presente estudo obteve uma MP de 75,1%. Seccacine et al. (2008) analisando a MP de mosquito *Ae. aegypti* suscetível tratada com PPF observaram 100% de mortalidade de pupas, para doses de 0,2 e 1 ppm de PPF.

Monnerat et al. (2012) ao avaliar a eficácia de diferentes larvicidas trataram uma população de mosquito *Ae. aegypti* com PPF (Sumilarv® 0.5 G) produto comercial com uma dose de 0,02 ppm, na qual resultou em 91,4% de mortalidade de pupas. Outro estudo com PPF comercial demonstrou que doses inferiores a 0,01 ppb permitiram uma mortalidade de pupas de 98,5%, conforme descrito por Suman et al. (2014). Esses resultados indicam que o PPF é muito eficiente para inibir a emergência de pupas em populações de mosquitos do gênero *Aedes* quando tratados com doses menores que 0,01 ppb.

O Tempo Letal (TL) é a estimativa de tempo médio necessário para que uma população de inseto exposta a um determinado produto químico atinja 50% de mortalidade de larvas, pupas ou adultos. Esse parâmetro é bastante utilizado para avaliar a suscetibilidade de insetos da subfamília Phlebotominae (Henriquez et al., 2009; Marceló et al., 2014). Recentemente, Arzamani et al. (2018) ao avaliar a suscetibilidade de populações de

Phlebotomus sergenti oriundo de províncias ao norte do Irã, aos inseticidas DDT (4%), permetrina (0,75%) e bendiocarb (0,1%) com base no TL indicaram que a permetrina é eficiente contra *P. sergenti* e bendiocarb e DDT pouco efetivos.

Anteriormente, mencionou-se que existem poucas informações na literatura que utilizaram os indicadores de ML e MP em testes de suscetibilidade de mosquitos do gênero *Aedes* ao PPF. Para o monitoramento de resistência de *Ae. aegypti* ao PPF utilizando TL as informações são escassas e quase que inexistentes. Gonzalez et al. (2016) utilizaram o TL50% para avaliar a mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* expostas a Bti, espinosade e temephos combinados com atrativos para larvas (1-octen-3ol e 3-methylphenol). Os autores observaram que o Bti obteve os melhores resultados quando combinado com 0,1 mg/ml de 3-methylphenol e que o TL50% do grupo controle diminui de 153 horas para 88,9 horas.

O TL foi utilizado também para avaliar armadilha letal para larvas e adultos de *Ae. aegypti*. Os autores utilizaram PPF e permetrina combinados, na qual obteve-se mortalidade de larvas de quase 100%, em aproximadamente 65,5 horas e mortalidade de adultos de 85%, em 1,2 horas (Parker et al. 2017).

Nesse trabalho, a população Rockefeller, na dose de 0,03 µg/ml obteve TL50% de 102,5 horas. Essa TL50% (102 horas) pode ser utilizada como parâmetro comparativo para detectar variações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* de campo. Portanto, sugere-se pela primeira vez, um tempo de 102 horas para atingir 50% da mortalidade ou IE de pupas de *Ae. aegypti*, uma vez que esse parâmetro não é comumente utilizado para monitorar a suscetibilidade dessa importante espécie transmissora de arbovírus no Brasil.

As limitações do estudo ocorreram devido ao intenso clima frio que houve em 2017, fazendo com que houvesse atraso na obtenção da geração F1 de todas as populações. Algumas CI50% apresentaram resultados elevados, sendo necessário utilizar novas subdoses nos bioensaios biológicos, a fim de melhor estimar a curva dose resposta. Esses bioensaios não puderam ser realizados, conseqüentemente, gerou deficiências na padronização da

Dose Diagnóstica e nas estimativas de Razão de Resistência. O presente trabalho colaborou no monitoramento de resistência de populações de mosquito *Ae. aegypti* no DF, comprovando alta suscetibilidade das populações do DF ao PPF, até o momento.

Conclusões

As seis populações de mosquito *Ae. aegypti* do Distrito Federal apresentaram elevado nível de suscetibilidade ao PPF. Sugere-se a utilização da TL50%=102 horas da população de referência Rockefeller como parâmetro comparativo para detectar alterações de suscetibilidade em populações da espécie *Ae. aegypti* procedentes de campo. Por fim, novas áreas do DF necessitam ser monitoradas, em relação a alteração de suscetibilidade da principal espécie transmissora de arboviroses no Brasil – *Ae. aegypti*.

Agradecimentos

A ROGAMA/ NEOGEN® COMPANY e a Murilo Amaral, representante comercial da empresa, por fornecer o produto químico, Pyriproxyfen grau técnico (97%). A Diretoria de Vigilância Ambiental – DIVAL do Distrito Federal. A Kátia Maria Leal Braga e Evaldo Rosano Ferreira de Araújo por disponibilizarem o laboratório de Entomologia médica do Ministério da Saúde CGLAB/SVS/MS e ao Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores da Faculdade de Medicina da UnB.

Financiamento

Apoio financeiro da Fundação de Apoio a Pesquisa do Distrito Federal - Governo do Distrito Federal/FAP/DF.

Lista de abreviações

OPAS: Organização Pan-Americana de Saúde **DDT:** diclorodifeniltricloretoano
IGR: Insect Growth Regulator **OMS:** Organização Mundial de Saúde **PPF:**

Pyriproxyfen **BTi**: *Bacillus thuringiensis israelensis* **DF**: Distrito Federal **DIVAL**: Diretoria de Vigilância Ambiental **RCG**: Regimento de Cavalaria de Guardas **SUAG**: Subsecretaria de Justiça do Distrito Federal **WHO**: World Health Organization **SES**: Secretaria de Vigilância em Saúde **RR**: Razão de Resistência **TL**: Tempo Letal **ML**: Mortalidade de Larvas **MP**: Mortalidade de Pupas **IE**: Inibição de Emergência **CI**: Concentração de Inibição **IC**: Intervalo de Confiança **DD**: Dose Diagnóstico **BA**: Bahia **SP**: São Paulo **UnB**: Universidade de Brasília **ppb**: partículas por bilhão.

Declarações

Disponibilidade de dados e materiais

Todos os conjuntos de dados analisados durante este estudo estão incluídos no artigo e no arquivo Adicional 1 .

Contribuição dos autores

Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito.

BL coordenou e realizou coleta de material biológico (ovos de mosquitos *Ae. aegypti*) no campo, dos bioensaios, análises de dados estatísticos e elaborou o manuscrito, KM e ER auxiliaram na coleta de material biológico (ovos de mosquitos *Ae. aegypti*) no campo e manutenção das colônias de mosquito *Ae. aegypti* em laboratório, RN auxiliou nos bioensaios e na manutenção das colônias de mosquito *Ae. aegypti* em laboratório, MT concebeu, coordenou todas as atividades de campo, experimentos, análises e realizou revisão crítica do manuscrito.

Interesses competitivos

Os autores declaram não ter interesses conflitantes.

Consentimento para publicação

Não aplicável.

Aprovação ética e consentimento para participar

O estudo foi conduzido dentro das normas e políticas do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília, seguindo a ética da pesquisa científica,

como o estudo foi realizado com insetos não houve a necessidade de passar pelo comitê de ética. Todas as pesquisas e coleções entomológicas foram realizadas em terras privadas ou em residências particulares após a obtenção do consentimento oral dos residentes. Não foram necessárias autorizações específicas para as coletas de mosquitos. Esses estudos não envolveram espécies ameaçadas ou protegidas.

Acesso Aberto

Este artigo é distribuído sob os termos da Licença Internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), que permite o uso irrestrito, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que você dê crédito apropriado ao (s) autor (es) original (is) e à fonte, forneça um link para a licença Creative Commons e indique se foram feitas alterações. A renúncia de Dedicção de Domínio Público da Creative Commons (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) se aplica aos dados disponibilizados neste artigo, a menos que seja estabelecido de outra forma.

Arquivos adicionais

Tabela 1 - Inibição de emergência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018.

Doses ($\mu\text{g/ml}$)	Rockefeller		Vila Planalto		Granja do Torto		RCG		Lago Norte		Varjão	
	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE	n (2160)	*IE
0,0001	270	51	270	57	270	28	270	58	270	38	270	44
0,0005	270	57	270	64	270	36	270	60	270	41	270	51
0,0007	270	66	270	67	270	35	270	65	270	46	270	57
0,001	270	76	270	71	270	42	270	67	270	52	270	61
0,005	270	82	270	76	270	50	270	71	270	58	270	65
0,007	270	87	270	82	270	65	270	78	270	74	270	81
0,01	270	89	270	91	270	84	270	79	270	81	270	80
0,03	270	99	270	92	270	91	270	87	270	90	270	92

*IE - Inibição de Emergência expresso em %.

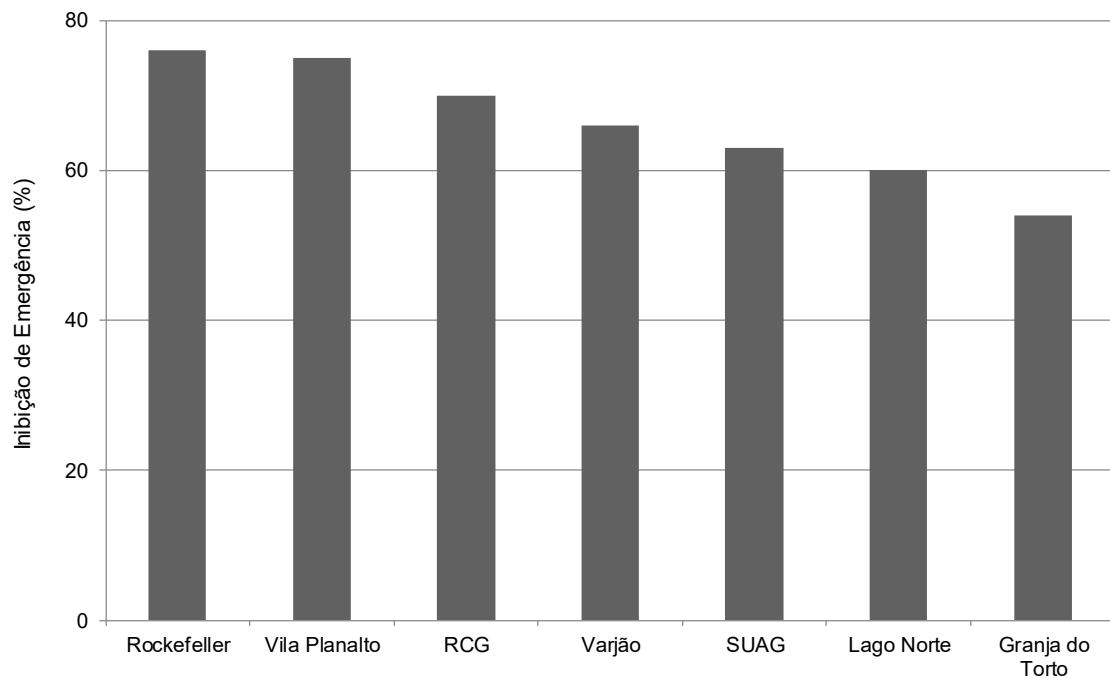


Figura 1. Distribuição média da Inibição de Emergência de pupas da espécie *Aedes aegypti*, em ordem decrescente, expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, Distrito Federal, em 2018.

Tabela 2 – Concentração de Inibição e Razão de Resistência de populações de mosquito *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses do análogo de hormônio juvenil PPF, em 2018

População	n	*CI50% (IC 95%)	*CI90% (IC 95%)	*CI99% (IC 95%)	**RR
Rockefeller	2160	0,00008 (0,00005 - 0,00012)	0,00937 (0,00678 - 0,01396)	0,42952 (0,20672 - 1,11312)	...
Vila Planalto	2160	0,00008 (0,00004 - 0,00012)	0,01698 (0,01128 - 0,02875)	0,99000 (0,52578 - 4,71337)	0.8
Granja do Torto	2160	0,00145 (0,00121 - 0,00173)	0,07633 (0,0182 - 0,121990)	1,92543 (0,09793 - 4,41159)	11.0
RCG	2160	0,00008 (0,00004 - 0,00012)	0,01698 (0,01128 - 0,02875)	1,33976 (0,52578 - 4,71337)	0.8
Lago Norte	2160	0,00074 (0,00058 - 0,00992)	0,07097 (0,04577 - 0,12242)	2,91734 (1,29533 - 8,12623)	7.0
Varjão	2160	0,00035 (0,00025 - 0,00047)	0,05570 (0,03501 - 0,10050)	3,43936 (1,37245 - 11,31435)	4.0
SUAG	2160	0,00042 (0,00030 - 0,00056)	0,07461 (0,04552 - 0,14021)	5,05410 (1,92682 - 17,69615)	5.0

n - Número de expostos.

*CI - Concentração de Inibição.

** - Razão de Resistência = IE 50% campo/IE% Rockefeller.

Tabela 3 – Distribuição média da mortalidade de larvas e pupas de populações de *Aedes aegypti* expostos a diferentes doses de PPF, em 2018.

População	n	*ML	**MP
Rockfeller	2160	0,6	75,1
Vila Planalto	2160	3,0	72,8
Granja do Torto	2160	1,1	54,6
RCG	2160	1,5	68,1
Lago Norte	2160	1,9	59,0
Varjão	2160	2,0	63,8
SUAG	2160	1,4	62,6

n - número total de larvas de 3^o e 4^o estágio expostas ao PPF.

*ML - Média de mortalidade de larvas.

**MP - Média de mortalidade de pupas.

Tabela 4 – Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Vila Planalto, Granja do Torto e RCG, em julho de 2018.

Dose (mg/ml)	Rockefeller		Vila Planalto		Granja do Torto		RCG	
	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)
0,0001	270	270,0 (228,4 - 319,2)	270	149,5 (127,7 - 174,9)	270	594,1 (470,8 - 749,8)	270	203,1 (172,2 - 239,6)
0,0005	270	244,1 (209,9 - 283,8)	270	306,1 (262,6 - 356,9)	270	379,8 (314,5 - 458,6)	270	197,7 (169,1 - 231,0)
0,0007	270	148,3 (129,7 - 169,7)	270	297,9 (256,8 - 345,4)	270	402,8 (331,7 - 489,1)	270	176,6 (152,4 - 204,7)
0,001	270	138,3 (120,5 - 158,7)	270	251,3 (218,1 - 289,6)	270	322,9 (268,6 - 388,3)	270	185,0 (158,6 - 215,8)
0,005	270	141,3 (123,7 - 161,3)	270	226,9 (197,7 - 260,5)	270	244,2 (207,0 - 288,0)	270	150,6 (130,8 - 173,4)
0,007	270	128,0 (112,4 - 145,9)	270	198,4 (173,9 - 226,3)	270	184,7 (159,0 - 214,5)	270	145,6 (126,7 - 167,3)
0,01	270	118,9 (104,8 - 134,9)	270	145,38 (128,0 - 165,0)	270	136,9 (120,1 - 156,0)	270	126,5 (110,9 - 144,4)
0,03	270	102,5 (90,9 - 115,5)	270	123,0 (108,7 - 139,2)	270	118,4 (104,5 - 134,3)	270	103,4 (90,3 - 118,3)

n - Número total de indivíduos expostos.

*TL - Tempo Letal.

Tabela 5 – Comparação de tempos letais 50% entre as populações Rockefeller, Lago Norte, Varjão e SUAG em julho de 2018.

Dose (mg/ml)	Rockefeller		Lago Norte		Varjão		SUAG	
	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)	n (2160)	*TL50% (IC95%)
0,0001	270	270,0 (228,4 - 319,2)	270	657,69 (540,0 - 800,88)	270	366,8 (306,0 - 439,7)	270	483,7 (402,3 - 581,7)
0,0005	270	244,1 (209,9 - 283,8)	270	547,12 (456,4 - 655,8)	270	341,0 (285,8 - 407,0)	270	508,5 (422,9 - 611,5)
0,0007	270	148,3 (129,7 - 169,7)	270	597,0 (494,4 - 720,9)	270	262,5 (223,6 - 308,3)	270	311,1 (266,7 - 362,9)
0,001	270	138,3 (120,5 - 158,7)	270	382,5 (325,7 - 449,1)	270	243,6 (208,1 - 285,1)	270	228,4 (199,6 - 261,4)
0,005	270	141,3 (123,7 - 161,3)	270	283,4 (242,6 - 331,0)	270	220,5 (189,7 - 256,3)	270	267,7 (231,8 - 309,2)
0,007	270	128,0 (112,4 - 145,9)	270	250,2 (217,2 - 288,2)	270	135,8 (118,5 - 155,5)	270	235,7 (205,8 - 269,9)
0,01	270	118,9 (104,8 - 134,9)	270	225,6 (197,1 - 258,2)	270	153,7 (134,3 - 175,7)	270	196,6 (172,2 - 224,3)
0,03	270	102,5 (90,9 - 115,5)	270	192,4 (170,0 - 217,8)	270	113,6 (100,3 - 128,7)	270	178,4 (157,0 - 202,6)

n - Número total de indivíduos expostos.

*TL - Tempo Letal.

Referências

1. OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde, OMS. Organização Mundial de Saúde. Zika – Atualização Epidemiológica. <https://www.paho.org/bra/images/stories/SalaZika/boletim%20013.pdf?ua=1> (2016). Acessado em 15 de julho de 2018.
2. Camara T,N,L. Emerging arboviroses and new challenges for public health in Brazil. *Rev Saúde Pública*. 2016, 50:36.
3. Renteria BL, Troupin A, Colpitts TM 2016. Arbovirose and potential transmission-blocking vaccines. *Vetores Parasit*. 2016; DOI 10.1186/s13071-016-1802-0.
4. Leta S, Beyene TJ, Clercq EM, Amenu K, Kraemer MUG, Revie CW 2017. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Int Infect Dis*. 2018; doi:10.1016/j.ijid.2017.11.026.
5. Zara ALSA, Santos SM, Oliveira ESF, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol Serv Saúde*. 2016; 25(2): 391–404.
6. Barbosa A, Silva MAN. Preferência por local de oviposição de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae), em relação à presença de imaturos da própria espécie, sob condições de laboratório. *Rev Bras Zool*. 2002; 19(4): 1147–52.
7. Silva VC, Freire NMS, Silva JS, Scherer PO, Cunha SP, Alencar J. Estudo comparativo entre larvitampas e ovitampas para avaliação da presença de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em Campo Grande, Estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009; 42(6): 730–731.
8. Medeiros AS, Costa DMP, Branco MSD, Sousa DMC, Monteiro JD, Galvão SPM, et al. Dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in urban areas in the state of Rio Grande do Norte. *PLoS ONE*. 2018, 13:3.
9. Fontoura NG. et al. The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012; 107(3): p387-395.
10. Macoris MLG, Andrighetti MTM, Nalon KCR, Garbeloto VC, Júnior ALC. Standardization of Bioassays for Monitoring Resistance to Insecticides in *Aedes aegypti*. Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN. 2005, 29.

11. Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, et al. Contemporary status of resistance to insecticides in the main vectors *Aedes arbovirus* infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017, 11:7.
12. Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde*. 2007; 16(2): 113–118.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Ofício –Circular nº. 14/2017-GAB/SVS/MS. Nota informativa nº 013/2017 CGPNCMD/DEVIT/SVS com instruções para emprego do larvicida Pyriproxyfen G 0,5% 2017.
14. GDF. Secretaria de Saúde, Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde, Gerência de Vigilância em Vetores e Animais Peçonhentos e Ações de Campo 2016. Memorando Circular Nº 03/2016. GDF. Governo do Distrito Federal.
15. Lau KW, Chen CD, Lee HL, Rashid YN, Azirun MS. Evaluation of Growth Regulators of Insects Against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Collected in Field (Diptera: Culicidae) from Malaysia. *J Med Entomol*. 2015; 52(2): 199–206.
16. Monnerat R, Dumas V, Ramos F, Pimentel L, Nunes A, Sujii E, et al. Evaluation of Different Larvicides for the Control of *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) under Simulated Field Conditions. *Soc Ent Bras*. 2012, 7:3.
17. Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News*. 1965; 25: 276-81.
18. Depoli PAC, Zequi JAC, Nascimento KLC, Lopes J. Eficácia de Ovitampas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *Entomo Brasilis*. 2016; 9(1): 51–4.
19. Nunes LS, Trindade RBR, Souto RNP. Avaliação da atratividade de ovitampas a *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae) no bairro Hospitalidade, Santana, Amapá. *Bio Amazônia*. 2011; 1(1): 26–31.
20. WHO. World Health Organization. Organisation Mondiale de La Santé. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/69615>. Acessado em 15 de julho de 2018.
21. WHO. World Health Organization. Pyriproxyfen in Drinking-water, Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/0304/113. 2008. http://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/pyriproxyfen-background.pdf. Acessado em 8 de julho de 2018.
22. WHO. World Health Organization. Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations. Interim

guidance for entomologists. WHO,/ZIKV/VC/ 16.1, Genova. 2016. <http://www.who.int/csr/resources/publications/zika/insecticide-resistance/en/>. Acessado em 5 de julho de 2018.

23. Leyva YR, Coto MMR, Lazcano JL, Insueta OP, Valdés LS. Eficacia del pyriproxyfen para el control de *Aedes (S) aegypti* (Diptera: Culicidae) en cepas con diferentes niveles de resistencia a temefos. *Rev Cubana Med Trop.* 2010; 62(3): 224–9.
24. Ochipinti GM, Berti J, Guerra LA, Salazar M, Escobar CZ, Gómez JÁ. Efecto del regulador de crecimiento pyriproxyfen sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de la Pedrera, Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología Y Salud Ambiental.* 2014; 54(2): 208–219.
25. Gomes AC. Medidas dos Níveis de Infestação Urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. *IESUS.* 1998, 7:3.
26. Andrighetti MTM. et al. Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temefos. *Dengue Bulletin, Geneva.* 2008; 32: p186-198.
27. Marcombe S, Darriet F, Agnew DP, Etienne M, Yp-Tcha MM, Yébakima A, et al.. Field Efficacy of New Larvicide Products for Control of Multi-Resistant *Aedes aegypti* Populations in Martinique (French West Indies). *J Trop Med.* 2011; 84(1): p118-126.
28. Marcombe S, Farajollahi A, Healy SP, Clark GG, Fonseca DM. Insecticide Resistance Status of United States Populations of *Aedes albopictus* and Mechanisms Involved. *PLoS ONE.* 2014, 9:7.
29. Seccacini E, Lucia A, Harburguer L, Zerba E, Licastro S, Masuh H. Efficacy of the formulations of pyriproxyfen and diflubenzuron as larvicides Against *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc.* 2008; 24(3): 398–403.
30. Vythilingam I, Luz BM, Hanni R, Beng TS, Huat TC. Laboratory and field evaluation of the insect growth regulator pyriproxyfen (Sumilarv 0.5G) against dengue vectors. *J Am Mosq Control Assoc.* 2005; 1(3): 296–300.
31. Itoh T, Kawada H, Abe A, Eshita Y, Rongsriyam Y, Igarashi A. Utilization of bloodfed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval habitats. *J Am Mosq Control Assoc.* 1994; 10(3): 344–347.
32. Ali A, Nayar JK, Xue RD. Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc.* 1995; 11(1): 72–76.

33. Hatakoshi M, Kawada H, Nishida S, Kisida H, Nakayama I. Laboratory evaluation of ethoxy]pyridine against 2-[11-amertvhyale-2o-f(4 -mpohseqnuoixtyopehsenox y) and housefly. Sanit Zool. 1987; 38(4): 271–274.
34. Gómez A, Seccacini E, Zerba E, Licastro S. Comparison of the insecticide susceptibilities of laboratory strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Men Inst Oswaldo Cruz. 2011; 106(8): p993-996.
35. Ahmed MAI, Vogel CFA. The role of octopamine receptor agonists in the synergistic toxicity of certain insect growth regulators (IGRs) in controlling Dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquito. Acta Tropica. 2016; 155:1–5.
36. Suman DS, Farajollahi A, Healy S, Williams GM, Wang Y, Schoeler G, et al.. Point-source and area-wide field studies of pyriproxyfen autodissemination against urban container-inhabiting mosquitoes. Acta Tropica. 2014; 135:96–103
37. Henriquez C, Pereira Y, Cochero S, Bejarano EE. Dosis diagnóstica y umbral de resistencia de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a dos insecticidas utilizados en salud pública en Colombia: deltametrina y lambdacihalotrina. Rev Soc Entomol Argent. 2009; 68(3-4): 287-294.
38. Marceló C, Cabrera OL, Santamaría E. Sensitivity indicators of an experimental line of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to three insecticides for use in public health in Colombia. Biomédico . 2014; 34(4): 624-630.
39. Arzamani K, Vatandoost H, Rassi Y, Abai MR, Akhavan AA, Alavinia M, et al.. Susceptibilidad status of wild population of *Phlebotomus sergenti* (Diptera: Psychodidae) to different insecticides in an endemic focus of cutaneous leishmaniasis in northeast of Iran. J Vector Borne Dis. 2017; 54: p282-286.
40. Gonzalez PV, Harburguer L, Audino PAG, Masuh HM. The use of larvae of *Aedes aegypti* larvae to increase the efficacy of larvicides. Sprin Nat. 2016; (6): p2185-2190.
41. Parker CN, Pereira RM, Baldwin RW, Chaskopoulou A, Koehler G. Laboratory Evaluation of a novel lethal ovitrap for control of *Aedes aegypti*. J med Entomol. 2017; 54(6): 1666-1673.

Direito autoral

© Autor (es). 2018