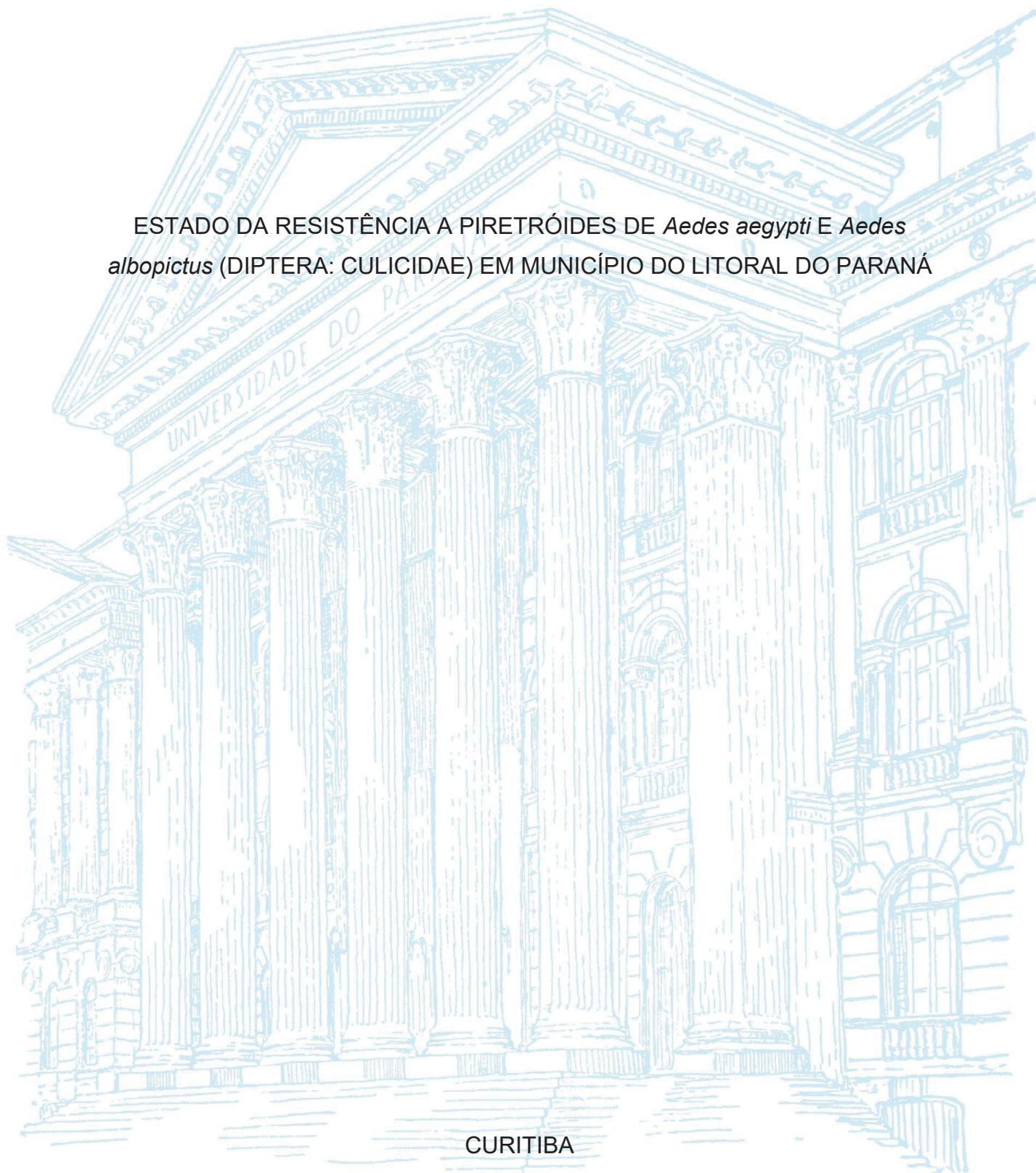


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANE MARIA VINK

ESTADO DA RESISTÊNCIA A PIRETRÓIDES DE *Aedes aegypti* E *Aedes albopictus* (DIPTERA: CULICIDAE) EM MUNICÍPIO DO LITORAL DO PARANÁ



CURITIBA

2021

JULIANE MARIA VINK

ESTADO DA RESISTÊNCIA A PIRETRÓIDES DE *Aedes aegypti* E *Aedes albopictus* (DIPTERA: CULICIDAE) EM MUNICÍPIO DO LITORAL DO PARANÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva
Coorientadora: Dra. Angela Maria Palacio Cortés

CURITIBA

2021

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Vink, Juliane Maria

Estado da resistência a piretróides de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em município do litoral do Paraná / Juliane Maria Vink. – Curitiba, 2024.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva.
Coorientadora: Dra. Angela Maria Palacio Cortés.

1. Técnicas de silenciamento de genes. 2. Inseticidas. 3. Controle de vetores de doenças. 4. Dengue. I. Silva, Mario Antônio Navarro da, 1963-. II. Palacio Cortés, Angela Maria, 1975-. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia. IV. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva CRB-9/1406



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ZOOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JULIANE MARIA VINK** intitulada: "**Estado da resistência a piretróides de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) em município do Litoral do Paraná.**", sob orientação do Prof. Dr. MARIO ANTONIO NAVARRO DA SILVA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 16 de Junho de 2021.

Assinatura Eletrônica

17/06/2021 18:17:57.0

MARIO ANTONIO NAVARRO DA SILVA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

17/06/2021 15:50:59.0

JOÃO ANTÔNIO CYRINO ZEQUI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

Assinatura Eletrônica

17/06/2021 15:57:39.0

ANDREY JOSE DE ANDRADE

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico esse trabalho a todos os pesquisadores que
sofreram agressões psicológicas durante sua caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a todos da minha família, especialmente ao meu marido Lucas que me amparou nos momentos que mais precisei e com esse suporte possibilitou que redescobrísemos a amizade e o amor. Obrigada meu amor!

Ao meu filho Pedro quero dizer que apesar das ausências meu coração esteve e estará sempre com você. Você é meu raio de sol, faz meu mundo colorido apenas com um sorriso, me arrasta para terra firme, e me lembra que a vida é o aqui e o agora, que o tempo passa rápido demais. Obrigada meu amor! Espero que ao me acompanhar, a vivência acadêmica tenha enriquecido, também, a sua percepção de mundo, e a importância do conhecimento na formação do cidadão.

Agradeço ao professor Mário Navarro por ter me recebido no laboratório e me auxiliado na execução do trabalho. A minha co-orientadora Angela Maria Palacio por ter me auxiliado em todos os passos, desde os procedimentos de bancada até a construção da escrita. Estendo meus agradecimentos a todos os amigos que fazem parte do LAMFIC², cada um tem um espaço especial no meu coração e minhas memórias.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia da UFPR e a CAPES pelo suporte financeiro a pesquisa, por reconhecer sua importância principalmente no momento em que vivemos, onde a ciência tem papel fundamental em apontar soluções para grave crise de saúde pública que estamos vivendo em nosso país.

RESUMO

Em Culicidae estão presentes espécies responsáveis pela transmissão de uma série de agentes etiológicos que determinam doenças nos seres humanos. A exemplo os arbovírus, Zika, Chikungunya e Dengue que são transmitidos pelo *Aedes aegypti* em áreas urbanas, determinando epidemias recorrentes. Medidas eficazes de monitoramento e controle da densidade de mosquitos vetores são críticas para alcançar e sustentar a redução da morbidade atribuível a essas doenças. Entretanto, o uso intensivo de inseticidas, como método prioritário de controle de vetores, principalmente da classe dos piretróides (PY), utilizado em sprays espaciais, exerce uma pressão seletiva nos mosquitos acentuando a propagação dos insetos que conseguem sobreviver e se recuperar dos efeitos do princípio ativo utilizado. A resistência é um problema técnico, já que limita a eficácia do próprio inseticida, o que pode comprometer a sua utilização em programas de controle. Neste estudo investigou-se a ocorrência, frequência e distribuição espacial e temporal de mutações “*knockdown*” (*kdr*) que ocorrem no gene do canal de sódio voltagem-dependente (Na_v) presente nos axônios neurais, sítio-alvo dos PY em populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* de estratos de Paranaguá-PR. O DNA de 447 exemplares de mosquitos, dos anos 2017 e 2018, foram individualmente extraídos, amplificados, e genotipados via PCR alelo específica (AS-PCR). Avaliou-se as frequências genotípicas e alélicas para os sítios *kdr* 1016 e 1534 de *Aedes aegypti* (115) e, 1534 de *Aedes albopictus* (351). Do total de *Aedes aegypti*, de dezembro de 2017 (50) e abril de 2018 (65), 86% e 72%, respectivamente, apresentaram heterozigose, Val⁺/Ile^{*kdr*}, para o sítio 1016 do Na_v , e; em 74% e 95% houve predomínio do genótipo resistente Cys/Cys^{*kdr*}, para o sítio 1534. Ao agrupar esses dois sítios constituintes de um único *locus*, o alelo R2 foi o mais frequente entre os estratos da cidade, e também entre os meses analisados, apresentando frequências superiores a 50%. Em *Aedes albopictus* detectou-se baixas frequências de mutação *kdr*, com valor máximo de 6% em novembro de 2017. Portanto, tanto *Aedes aegypti* quanto *Aedes albopictus* devem ser monitorados continuamente quanto à resistência aos inseticidas utilizados no controle vetorial. A detecção de resistência ao princípio ativo de uso corrente deve ser prioritária entre as atividades de monitoramento dos vetores dípteros em áreas urbanas.

Palavras-chave: “*knockdown*”; inseticida; controle de vetores; dengue.

ABSTRACT

In the Culicidae are present species responsible for the transmission of a series of etiological agents that determine human diseases. Like the arboviruses, Zika, Chikungunya and Dengue that are transmitted by *Aedes aegypti* in urban areas, determining recurrent epidemics. Effective measures to monitoring and control the density of vector mosquitoes are critical to achieving and sustaining the reduction in morbidity attributable to these diseases. However, the intensive use of insecticides, as a priority method of vector control, mainly of the class of pyrethroids (PY), used in space sprays, exerts a selective pressure on mosquitoes, accentuating the spread of insects that manage to achieve and recover from the effects of active ingredients. Resistance is a problem technical, since it limits the effectiveness of the insecticide itself, which can compromise its use in control programs. In this study, the occurrence, frequency and spatial and temporal distribution of “knockdown” (*kdr*) mutations that occur in the voltage-gated sodium channel gene (Na_v) present in the neural axons, a target site for PY in groups of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* were investigated from Paraguá-PR's strats. The DNA of 447 specimens of mosquitoes were individually extracted, amplified, and genotyped via specific allele PCR (AS-PCR) from the years 2017 and 2018. Studies are described as genotype and allele frequencies for the *kdr* 1016 and 1534 sites of *Aedes aegypti* (115) and, 1534 of *Aedes albopictus* (351). Of the total of *Aedes aegypti*, from December 2017 (50) and April 2018 (65), 86% and 72%, respectively, heterozygous source, Val⁺/Ile^{kdr}, for the Na_v site 1016, and; in 74% and 95% there was a predominance of the resistant genotype Cys/Cys^{kdr}, for site 1534. When grouping these two sites constituting a single locus, the R2 allele was the most frequent among the strata of the city, and also between the months, with frequencies above 50%. In *Aedes albopictus*, low frequencies of *kdr* mutation were detected, with a maximum value of 6% in November 2017. Therefore, both *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* must be monitored continuously for resistance to insecticides used in vector control. Detection of resistance to currently used active ingredients [of insecticides] should be a priority among the monitoring activities of dipterous vectors in urban areas.

Keywords: “knockdown”; insecticide; vector control; dengue.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Distribuição global prevista de <i>Aedes aegypti</i> . O mapa mostra a probabilidade de ocorrência (de 0 azul a 1 vermelho).....	33
FIGURA 2 - Distribuição global prevista de <i>Aedes albopictus</i> . O mapa mostra a probabilidade de ocorrência (de 0 azul a 1 vermelho).....	34
FIGURA 3 - Estruturas químicas de a) permetrina (C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃) e b) deltametrina (C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃).....	39
FIGURA 4 - Frequência de resistência a deltametrina em <i>Aedes aegypti</i> na América do Sul, 2006-2015. Os círculos indicam os resultados de bioensaios usando 0,05% de inseticida por 1 hora, e os triângulos os resultados de bioensaios não padronizados, incluindo diferentes doses diagnósticas e estimativas de exposição.....	43
FIGURA 5 - Canal de sódio voltagem-dependente (<i>Nav</i>). M (metionina), F (fenilalanina): resíduos de aminoácidos.....	45
FIGURA 6 – Localização da cidade de Paranaguá em relação ao Brasil (A) e ao estado do Paraná em vermelho (B). Paranaguá estratificada com os pontos de coleta (C) e, Paranaguá dividida em 16 estratos (D).....	48
FIGURA 7 – Localização dos estratos amostrados no município de Paranaguá em 2017 e 2018. A. Genotipagem de <i>Aedes aegypti</i> foi realizada utilizando 105 indivíduos procedentes dos estratos 5, 10, 11, 13 e 14. B. Genotipagem de <i>Aedes albopictus</i> foi realizada utilizando 321 indivíduos procedentes de todos os estratos exceto o três.....	51
FIGURA 8 - Produtos de amplificação para o sítio kdr 1016.....	55
FIGURA 9 - Produtos de amplificação para o sítio kdr 1534.....	57
FIGURA 10 - Operação para determinar frequências genotípicas [<i>f</i> (x)] em uma determinada população.....	58
FIGURA 11 – Frequência dos alelos selvagem (1534Phe) e mutante (1534Cys) para a mutação Phe1534Cys do canal de sódio voltagem-dependente de <i>Aedes albopictus</i> procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando seu estrato de origem. E: Estrato...	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Grupos de inseticidas pré-qualificados para utilização no controle de vetores conforme seu ingrediente ativo.....	40
TABELA 2 - Mutações nas proteínas do canal de sódio associadas à resistência aos piretróides em <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> encontradas no Brasil. V: valina, M: metionina, I: isoleucina, C: cisteína.....	46
TABELA 3 – Número de machos e fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> pertencentes a cada um dos estratos do município de Paranaguá no mês de dezembro de 2017 e abril de 2018.....	50
TABELA 4 – Número de machos e fêmeas de <i>Aedes albopictus</i> pertencentes a cada um dos estratos do município de Paranaguá nos anos de 2017 e 2018	52
TABELA 5 - Iniciadores utilizados para a mutação Val1016Ile.....	54
TABELA 6 - Iniciadores utilizados para a mutação Phe1534Cys.	55
TABELA 7 – Alelos encontrados no agrupamento genotípico dos sítios 1016 e 1534 do Nav.....	58
TABELA 8 - Frequência genotípica de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1016	60
TABELA 9 - Frequência genotípica de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1534	60
TABELA 10 - Frequência genotípica de <i>Aedes aegypti</i> procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando os sítios 1016 e 1534 ligados. a comparação entre os genótipos é incidida pelo qui-quadrado (x^2) e a probabilidade	62
TABELA 11- Frequência genotípica de <i>Aedes albopictus</i> procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1534	64

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ACE	- Agentes de Combate a Endemias
ACh	- Acetilcolina
AChE	- Acetilcolinesterase
ACS	- Agentes Comunitários de Saúde
A.	- <i>Aedes</i>
Anvisa	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHC	- Benzenohexacloro
CA	- Carbamatos
DDT	- Dicloro-difenil-tricloroetano
Fiocruz	- Fundação Oswaldo Cruz
GABA	- Ácido gama-aminobutírico
HCB	- <i>Haut Conseil des Biotechnologies</i> (Alto Conselho Francês de Biotecnologia)
IIT	- <i>Incompatible Insect Technique</i> (Técnica do Inseto Incompatível)
Na _v	- Canal de sódio
OC	- Organoclorados
OP	- Organofosforados
PAHO	- <i>Pan American Health Organization</i> (Organização Pan-Americana da Saúde)
PAT	- Projeto Aedes Transgênico
PY	- Piretróides
RIDL	- <i>Release of Insect Carrying a Dominant Lethal Gene</i> (“Liberação de inseto carregando um gene letal dominante”)
SIT	- <i>Sterile Insect Technique</i> (Técnica de Inseto Estéril)
WMP	- <i>World Mosquito Program</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

® - Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	30
1.1 JUSTIFICATIVA	32
1.2 OBJETIVOS	32
Objetivo geral	32
Objetivos específicos	32
2 REVISÃO DE LITERATURA	33
2.1 OS VETORES	33
2.1.1 <i>Aedes Aegypti</i>	33
2.1.2 <i>Aedes albopictus</i>	34
2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DOS VETORES	35
2.2.1 Controle ambiental / mecânico	36
2.2.2 Controle biológico	36
2.2.4 Controle químico	38
2.3 RESISTÊNCIA	41
2.3.1 Monitoramento da resistência	41
2.3.2 Resistência aos piretróides	43
2.4 MUTAÇÕES KDR	45
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 LOCAL DE ESTUDO	46
3.2 COLETAS	48
3.3 TRIAGEM DE ARMADILHAS E OBTENÇÃO DE ADULTOS	49
3.4 EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	52
3.5 AMPLIFICAÇÃO POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) ..	53
3.5.1 PCR alelo-específica para mutações Val1016Ile	53
3.5.2 PCR alelo-específica para mutações Phe1534Cys	55
3.6 DETERMINAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS	57
3.6.1 Frequência genotípica	57
3.6.2 Frequência alélica	58
3.6.3 Teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)	59
4 RESULTADOS	60
4.1 <i>Aedes aegypti</i>	60
4.2 <i>Aedes albopictus</i>	63

5 DISCUSSÃO	66
6 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS.....	70
ANEXO 1- TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÃO DE OVITAMPAS NOS DOMICÍLIOS	78

1 INTRODUÇÃO

No Brasil entre os anos de 2016 a 2018, o número de casos de dengue registrados foi superior a 1,9 milhão segundo boletins oficiais do Ministério da Saúde (MS, 2018; MS, 2017). No mesmo período, foram reportados cerca de 540 e 240 mil casos de Chikungunya e Zika. O principal vetor responsável pela transmissão desses arbovírus no Brasil é o *Aedes Aegypti*. Em outros países é o *Aedes albopictus* que se destaca ao ocupar esse papel (PEREIRA et al., 2020).

As duas espécies, *A. aegypti* e *A. albopictus*, são ecologicamente homólogas e simpátricas, ambas podem coexistir na mesma região e utilizar os mesmos tipos de criadouros. Contudo, a segunda apresenta maior grau de exofilia e de hábitos silvestres, apresentando menor nível de domiciliação do que a primeira (FORATTINI, 1986). *Aedes albopictus* também está presente em todas as regiões brasileiras, incluindo pelo menos 59% dos municípios e mais de 24 estados (CARVALHO et al., 2014; PANCETTI et al., 2015).

O monitoramento desses culicídeos é fator determinante no controle e prevenção de epidemias. Sendo que, no Brasil, problemas como: deficiência na estrutura de saneamento, falta de regularidade no abastecimento de água, coleta irregular de resíduos, além de questões sociais e culturais prejudicam o controle vetorial (TEIXERA et al., 1999).

Há uma variedade de métodos para o controle vetorial, mas, a abordagem clássica, através da aplicação de inseticidas é, mundialmente, a mais utilizada, devido ao custo-benefício, e seu potencial controle de estágios imaturos e adultos, dependendo do princípio ativo utilizado. Sendo que, as aplicações espaciais são preconizadas para controle de surtos e epidemias, conforme estabelecido na “estratégia global para prevenção e controle da dengue, 2012-2020” (GOLSTEIN et al., 2019).

Entretanto, a utilização do mesmo princípio ativo por longos períodos, além do impacto negativo sobre organismos não alvos, também pode selecionar as populações resistente de mosquitos (MS, 2009-b).

Essa condição de resistência a um princípio ativo presente no inseticida é definida por mudanças que aumentam a capacidade dos insetos sobreviverem e, se recuperarem dos efeitos de um ou vários princípios ativos, fator que compromete o sucesso dos programas nacionais de controle ao influenciar na eficácia do método,

dando abertura, dessa forma, a surtos epidêmicos (WHO, 2020-a).

A dispersão da resistência nos principais vetores, *A. aegypti* e *A. albopictus*, para as quatro principais classes de inseticidas neurotóxicos (carbamatos, organoclorados, organofosforados e piretróides) está emergente nas Américas, África e Ásia, segundo evidências disponíveis para a distribuição geográfica da resistência (MOYES et al., 2017).

O controle de populações de mosquitos adultos é realizado principalmente usando piretróides e organofosforados devido à ação rápida combinada à sua baixa toxicidade para mamíferos, incluindo humanos (RINKEVICH et al., 2013; DU et al., 2016). No entanto, o uso intensivo principalmente de piretróides em *sprays* espaciais deu origem a muitas populações com níveis variados de resistência em todo o mundo, geralmente mais baixos na Ásia, África e EUA e mais altos na América Latina (SMITH et al., 2016; SAAVEDRA-RODRIGUEZ et al., 2018).

Os mecanismos mais comuns de resistência a inseticidas são: (1) a resistência metabólica, caracterizada pelo aumento da transformação da molécula inseticida através da atividade de sistemas enzimáticos. A transformação de piretróides por exemplo é realizada pelo citocromo P450; (2) a resistência aos sítios-alvo, que consiste na alteração dos aminoácidos responsáveis pela ligação da molécula inseticida em seu local de ação, sendo as modificações na estrutura do canal de sódio voltagem-dependente (*Nav*) ou, também chamadas mutações *knockdown* (*kdr*), as causadas pelos piretróides e organoclorados; (3) a resistência na penetração cuticular do inseticida devido ao espessamento da cutícula; (4) a resistência comportamental onde determinadas espécies desenvolvem a capacidade de sobreviver às aplicações de inseticidas pela adaptação comportamental (MARTINS et al., 2009; DUSFOUR et al., 2015).

A identificação da condição de resistência nas diferentes regiões e países é considerada um elemento norteador para o sucesso na implementação de estratégias de controle químico de vetores de arbovírus de interesse na saúde pública (CORBEL et al., 2017). Logo, no presente estudo foi investigada a prevalência e distribuição das mutações *kdr* de resistência a piretróides no canal de sódio voltagem-dependente de *A. aegypti* e *A. albopictus* entre os anos 2017 e 2018 na cidade portuária de Paranaguá - PR, na qual é recorrente a ocorrência de casos de dengue.

1.1 JUSTIFICATIVA

O uso intensivo e prolongado do limitado número de princípios ativos existentes para realizar o controle de mosquitos vetores de arbovírus pode acarretar no desequilíbrio ecológico, problemas técnicos no controle do próprio vetor, e ainda, prejuízos à saúde humana. Por isso é importante avaliar o estado da resistência aos piretróides, classe de inseticida utilizada por programas de controle, em populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* nas áreas urbanas.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Identificar as mutações *kdr* presentes nos segmentos IIS6 e IIS6 do canal de sódio (*Nav*) em populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* procedentes de Paranaguá-PR.

Objetivos específicos

- Verificar a frequência e distribuição da mutação Val1016Ile no *Nav*, de *Aedes aegypti*;
- Verificar a frequência e distribuição da mutação Phe1534Cys no *Nav*, de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

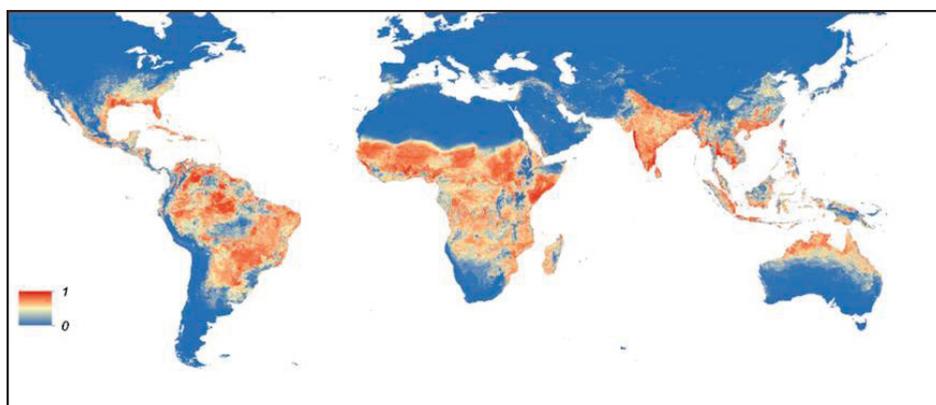
2.1 OS VETORES

Aedes Stegomyia aegypti (Linnaeus, 1762) e *Aedes Stegomyia albopictus* (Skuse, 1895) são espécies que pertencem à ordem Diptera, família Culicidae. Seu desenvolvimento é marcado pela metamorfose completa, passando pelas fases de ovo, quatro instares larvais, pupa e adulto (RUPPERT et al., 2005). Na fase adulta, as fêmeas exercem a hematofagia para obtenção de nutrientes com finalidade de que ocorra o desenvolvimento dos ovários e a maturação de seus ovos, apresentando preferência pelo sangue humano. A hematofagia confere às fêmeas a capacidade de transmitir diversos patógenos que podem ser adquiridos de vertebrados infectados ou pela transmissão vertical (HARRINGTON et al., 2001).

2.1.1 *Aedes Aegypti*

Aedes aegypti é originário das florestas da África sendo descrito inicialmente no Egito onde sua forma ancestral apresentava características zoofílicas (LOUNIBOS, 1981; TABACHNICK, 1991). Em 2015 estava presente em praticamente todo o continente americano, no sudeste da Ásia, e na Índia (KRAMER et al., 2015) (Figura 1), completamente adaptado ao ambiente urbano.

FIGURA 1 - Distribuição global prevista de *Aedes aegypti*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência (de 0 azul a 1 vermelho).



FONTE: KRAMER et al. (2015).

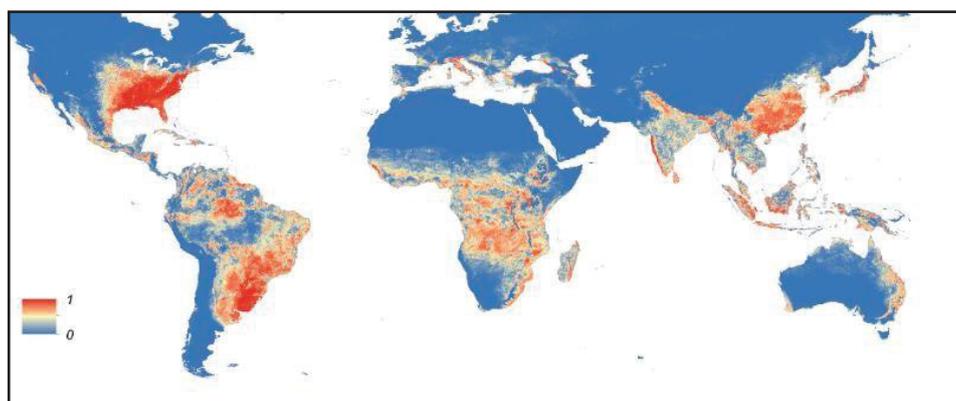
No Brasil, *A. aegypti* foi erradicado em duas ocasiões entre os anos 1958 e 1973. Entretanto, em 1976, surgiram novamente registros da reintrodução do vetor devido a falhas na vigilância epidemiológica associadas ao crescimento populacional acelerado do país. Desde então *A. aegypti* está presente em todas as Unidades da Federação (OSANI et al., 1983).

A importância de *A. aegypti* na saúde pública é atribuída à sua capacidade de transmitir arbovírus como o da dengue, febre amarela, Chikungunya, Zika, Mayaro e o vírus da encefalite equina venezuelana (FIGUEIREDO, 2007; MARCONDES et al., 2016). A transmissão desses vírus é favorecida pela rápida adaptação e proliferação do vetor à urbanização crescente que abriga cidades densamente povoadas assim como fatores socioeconômicos e ambientais (GOULD et al., 2017).

2.1.2 *Aedes albopictus*

Aedes albopictus também conhecido como tigre asiático é originário da Ásia. Sua alta plasticidade biológica e comportamental tem favorecido sua distribuição geográfica sendo em 2015 descrito em regiões temperadas como América do Norte e Europa, e em regiões tropicais e subtropicais como América do Sul e África (REITER et al., 1987; KRAMER et al., 2015); (Figura 2).

FIGURA 2 - Distribuição global prevista de *Aedes albopictus*. O mapa mostra a probabilidade de ocorrência (de 0 azul a 1 vermelho).



FONTE: KRAMER et al. (2015).

Aedes albopictus apresenta comportamento exofílico, sendo encontrado preferencialmente em áreas rurais e silvestres onde as bromélias, buracos de árvores e bambu são os locais preferenciais para o desenvolvimento das larvas. Mas também pode estar presente em ambientes urbanos e co-ocorrer com *A. aegypti* em reservatórios de água artificiais (CARVALHO et al., 2014).

O primeiro registro de *A. albopictus* no Brasil ocorreu em 1986, quando o Laboratório de Entomologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo recebeu da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), um material de Culicidae para identificação (FORATTINI, 1986).

O controle e monitoramento de *A. albopictus* não era priorizado por não ser considerado vetor natural de arbovírus nas américas (CARVALHO et al., 2014). No entanto, experimentos demonstraram que as populações do Brasil e de outros países americanos são altamente competentes na transmissão de arbovírus como dengue, febre amarela e Chikungunya (MITCHELL et al., 1987; MILLER et al., 1989; MITCHELL et al., 1990; VEGA-RUA et al., 2014).

Aedes albopictus atua como vetor em regiões rurais e provavelmente como vetor urbano secundário mantendo a circulação de diversos vírus durante temporadas inter epidêmicas (BEZERRA et al., 2016; RICAS REZENDE et al., 2020).

2.2 MÉTODOS DE CONTROLE DOS VETORES

O controle vetorial é a principal ferramenta utilizada para prevenir a transmissão de arbovírus como dengue, Zika, Chikungunya, e febre amarela, uma vez que não existem quimioterápicos ou vacinas eficientes. Portanto, a erradicação ou redução da população vetorial a níveis baixos tem sido o objetivo em países da América Latina desde 1881, quando foi identificado que a febre amarela urbana era transmitida por *A. aegypti* (COSTA et al, 2011).

Os principais métodos para controlar a população de vetores de arbovírus podem ser agrupados em três tipos: mecânico, biológico e químico (ZARA et al. 2016).

2.2.1 Controle ambiental/mecânico

O controle mecânico é realizado através de práticas capazes de eliminar o vetor e os criadouros ou reduzir o contato do mosquito com o homem e animais domésticos. Compreende técnicas amplamente utilizadas e bastante eficazes que resultam em melhoras ao longo prazo uma vez que envolvem ações de saneamento básico e de educação ambiental como: drenagem e retificação de criadouros, coleta e destino adequado de lixo e destruição de criadouros temporários (ZARA et al. 2016).

O controle mecânico também inclui a instalação de telas em portas e janelas com finalidade de impedir a entrada dos insetos nos domicílios, e a utilização de armadilhas do tipo ovitrampas (BALDACCHINO et al., 2015).

2.2.2 Controle biológico

O controle biológico é baseado na utilização de inimigos naturais específicos como predadores, parasitos ou patógenos com potencial para reduzir a população vetorial (FUNASA, 2001). A descoberta de bactérias patogênicas às larvas deu novos rumos ao controle biológico de culicídeos. Por exemplo *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) é utilizado como larvicida e pode ser associado com o *Lysinibacillus sphaericus* (Lsph), anteriormente conhecido como *Bacillus sphaericus*. A atividade larvicida de Bti e Lsph são devidas a toxinas que atuam em sinergismo e são ativadas no intestino da larva, onde causam ruptura das membranas celulares e morte dos organismos devido a sepsis (GUIDI et al., 2013).

Outro método de controle biológico é a Técnica do Inseto Incompatível (*Incompatible Insect Technique – IIT*) a qual consiste em infectar o *A. aegypti* com cepas específicas da bactéria *Wolbachia* a qual tem a capacidade de reduzir pela metade o tempo de vida de um mosquito adulto e também influenciar diretamente a suscetibilidade do inseto à infecção por uma variedade de patógenos de insetos e humanos (MCMENIMAN et al., 2009; ZARA et al., 2016). A *Wolbachia* adicionalmente tem potencial de produzir incompatibilidade citoplasmática completa, devido a isso se mosquitos machos portadores de *Wolbachia* acasalam com mosquitos fêmeas não infectadas, os ovos descendentes não eclodirão; em contraste, as fêmeas infectadas com a bactéria produzem embriões viáveis quando acasaladas com machos infectados ou não infectados, resultando em uma vantagem reprodutiva em relação

às fêmeas não infectadas. Ainda, a presença da bactéria no *Aedes* se mostrou capaz de suprimir ou eliminar a transmissão de arbovírus, pela competição por aminoácidos entre o mosquito hospedeiro e o vírus, o que não implica a indução de mutações no patógeno (SINKINS, 2013; GARCIA et al., 2020).

2.2.3 Controle genético e autocida

A Técnica de Inseto Estéril (Sterile Insect Technique - SIT) tem sido utilizada para o controle de pragas agrícolas e vetores de doenças. O método conta com especificidade de espécie, já que se trata da liberação em massa de insetos estéreis que irão competir por parceiros com machos selvagens; uma fêmea selvagem acasalada com um macho estéril reduz o potencial reprodutivo da população selvagem, resultando num declínio das gerações subsequentes.

Se um número suficiente de machos estéreis for liberado por tempo suficiente, a população-alvo entrará em colapso, levando a sua supressão ou até mesmo eliminação total na área-alvo (DYCK et al., 2005).

Em 2012, o Brasil iniciou a produção e liberação de *A. aegypti* estéreis em áreas testes, a partir de insetos produzidos na biofábrica Moscamed em Juazeiro (BA). Mesmo assim, essa técnica ainda é uma opção estratégica pouco explorada no país. Há necessidade que as instituições públicas e privadas interajam continuamente com o setor produtivo e a sociedade para viabilizar o aporte de recursos (IMPERATO e RAGA, 2015).

Um programa de controle semelhante ao anterior é a “liberação de insetos carregando um gene letal dominante” (*Release of Insect Carrying a Dominant Lethal Gene* - RIDL), sistema transgênico espécie-específico. Simplificadamente, a prática consiste na liberação de insetos homozigotos para um gene letal dominante, esses indivíduos acasalando com os silvestres resulta numa progênie heterozigótica para o gene letal dominante e, assim induz a letalidade nos organismos portadores do transgene, ocorrendo o declínio populacional (ALPHEY e ANDREASEN, 2002).

No Brasil, essa técnica foi aplicada pelo Projeto *Aedes* Transgênico (PAT), o qual contou com liberações em campos abertos dos mosquitos transgênicos desenvolvidos pela empresa britânica Oxitec, *Aedes aegypti* OX513A, nas cidades baianas de Jacobina e Juazeiro, e posteriormente de iniciativas pontuais de controle nos municípios de Piracicaba e Indaiatuba, em São Paulo, e Juiz de Fora (MG).

A técnica RIDL foi avaliada durante mais de um ano e apontou uma queda de 95% da população de adultos de *Aedes* em Juazeiro (BA) (CARVALHO et al., 2015). No entanto, para suprimir completamente as populações de vetores, uma alternativa seria implementar sequencialmente uma estratégia de supressão para reduzir significativamente as populações de mosquitos, seguida pela implementação de uma estratégia de substituição populacional (CORBEL et al., 2016).

2.2.4 Controle químico

O controle químico é a última alternativa a ser implementada, principalmente quando os outros métodos não conseguem manter a população dos vetores em níveis reduzidos. Pressupõe o uso de moléculas, normalmente orgânicas e ou sintéticas, para eliminar ou controlar as populações dos vetores, com ação neurotóxica ou ação sobre o desenvolvimento dos insetos pela inibição da síntese de quitina de larvas e adultos ou agir como análogos de hormônio juvenil.

Os inseticidas explorados para o uso em saúde pública estão distribuídos principalmente entre as classes: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides, todos com ação neurotóxica. Sua utilização permanece sendo o método de controle de vetores mais utilizado, devido a eficácia e ação rápida (BALDACCHINO et al., 2015).

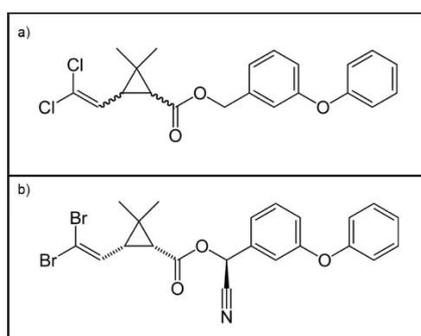
Os compostos organoclorados (OC) causam alterações dos canais de sódio nas membranas neuronais; inibição da ligação do ácido gama-aminobutírico (GABA) aos seus receptores; e aumento na liberação de alguns neurotransmissores aumentando a sensibilidade do neurônio a pequenos estímulos (BRAGA e VALLE, 2007).

Os organofosforados (OP) atuam inibindo irreversivelmente a acetilcolinesterase (AChE) nas sinapses químicas. A AChE atua na degradação do neurotransmissor acetilcolina (ACh), que por sua vez é responsável por estimular receptores pós-sinápticos, devendo se desligar do receptor ao fim do estímulo para liberá-lo para estímulos futuros e, assim, evitar respostas repetitivas e descontroladas após um único estímulo. Ao ser bloqueada a ação da AChE ocorre um acúmulo de acetilcolina gerando envenenamento do sistema nervoso, uma vez que a junção neuromuscular do inseto não é colinérgica como nos mamíferos (VINHAL e SOARES, 2018).

Os carbamatos (CA) agem de forma semelhante aos OP, no entanto formam um complexo reversível com a acetilcolinesterase, e podem apresentar seletividade contra as AChE de diferentes espécies. Também podem inibir a aliesterase (uma esterase alifática, cuja função exata é desconhecida) (WARE e WHITACRE, 2004).

Os piretróides (PY) são moduladores de canais de sódio afetando a transmissão no axônio. A geração atual de PY inclui compostos com baixa toxicidade a mamíferos e altamente efetivos em baixa dosagem. Os PY tipo I carecem do grupamento alfa-ciano e inclui compostos como aletrina, permetrina, tetrametrina, cismetrina e d-fenotrin; e os PY tipo II apresentam o grupo alfa-ciano, como a cipermetrina, deltametrina, fenvalerato e fenpropanate (Figura 3) (WARE e WHITACRE, 2004; SODERLUND, 2012).

FIGURA 3 - Estruturas químicas de a) permetrina (C₂₁H₂₀Cl₂O₃) e b) deltametrina (C₂₂H₁₉Br₂NO₃).



FONTE: Adaptado de MOYES et al. (2017).

Atualmente a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulga lista de produtos pré-qualificados obtidos do resultado da avaliação da eficácia, segurança e qualidade dos mesmos no controle de vetores com base nas informações enviadas pelos fabricantes e a inspeção dos locais de fabricação, (Tabela 1) (WHO, 2020).

Nota-se que os PY são os mais recomendados pela OMS devido à sua eficiência e à possibilidade de admitir sinergistas que potencializam sua ação e aumenta a eficácia no controle. Como são seguros para mamíferos empregados nos tratamentos de pulverização residual e espacial, geralmente em antecipação ou durante uma epidemia, estão disponíveis para os cidadãos para serem usados em domicílios (i.e., inseticidas domésticos, repelentes e mosquiteiros impregnados) (VONTAS et al., 2012; SMITH et al., 2016).

Apesar dos PY apresentarem compostos químicos biodegradáveis e não cumulativos têm limitações quando seu uso é contínuo. A primeira limitação é o desenvolvimento da condição de resistência nos insetos e, a segunda é o número limitado de novas moléculas comercializadas para essa finalidade. Conseqüentemente existem poucos inseticidas disponíveis, por isso sua utilização deve ser realizada com muita cautela para evitar a seleção da resistência nos insetos (SMITH et al., 2016).

TABELA 1 - Grupos de inseticidas pré-qualificados para utilização no controle de vetores conforme seu ingrediente ativo.

Grupo	Ingrediente ativo	Tipo de produto	Formulação
Piretróides	Alfacipermetrina	IRS, kit ITN, LLIN	WP, SC, WG; LN
	Bifentrina	IRS	WP
	Clotianidina	IRS	WG; WP; SB
	Deltametrina	IRS; LLIN; spray espacial	WG; WG; SC; LN; EW
	Etofenprox	IRS; kit ITN	WP; EW
	Lambdacialotrina	IRS; kit ITN; spray espacial	WP; CS; EC
	d, d, trans-cifenoctrina	spray espacial	EC
	Permetrina	LLIN; spray espacial	LN; EW
	Praletrina	spray espacial	UL
	S-Bioaletrina	spray espacial	EW
Carbamatos	Bendiocarb	IRS	WP; SB
Organofosforados	Pirimifós-metil	IRS; larvicida	CS; EC
	Malation	spray espacial	EW; UL
	Temefós	Larvicida	EC; GR;
Benzoiluréicos	Diflubenzuron	Larvicida	DT; WP; GR
	Novaluron	Larvicida	EC
Spinosinas	Spinosad	Larvicida	DT; EC; ER; SC
Neonecotinóides	Imidacloprida	spray espacial	UL
Outros	Piriproxifem	Larvicida	GR; MR
	Piriproxifeno	LLIN	LN
	Clorfenapir	LLIN	LN
	Butóxido de piperonila	spray espacial	EW

Borrifação residual intradomiciliar (IRS – “Intradomiliary Residual Spraying”); Kit de rede para tratamento de inseticidas (kit ITN); Rede tratada com inseticida de longa duração (LLIN – “Long-lasting Insecticide”); CS= cápsulas em suspensão; DT= Tablete para aplicação direta; EC= concentrado emulsionável; EW= emulsão de óleo em água; GR= granulado; LN= redes de inseticida duradouro; MR= liberação de matriz; SB= Isca; SC= suspensão concentrada; SG= granulado solúvel; UL= ultrabaixo volume; WG= granulado dispersível; WP= pó molhável.

FONTE: Adaptado de WHO (2020).

2.3 RESISTÊNCIA

O controle vetorial é muitas vezes confundido com controle químico vetorial, e a consequência acaba sendo o uso intensivo de inseticidas, que acarreta a disseminação de genótipo da resistência.

A resistência a inseticidas é o resultado de mutações ao acaso, que podem ser passadas de uma geração a outra, logo é hereditária, e é pré-adaptativa. Assim, um pequeno número de indivíduos que possui características que permitem sua sobrevivência, chamados de indivíduos resistentes, sob doses de inseticidas normalmente letais são selecionados, aumentando sua proporção, e aqueles que não possuem uma alteração no seu ADN, chamados de indivíduos suscetíveis, acabam sendo eliminados diminuindo sua abundância (BRAGA e VALLE, 2007).

Os principais mecanismos de resistência aos piretróides em mosquitos do gênero *Aedes* foram identificados como resistência metabólica e resistência ao sítio-alvo. A resistência metabólica indica a atividade aumentada de enzimas de transformação como esterases não específicas, glutatona S-transferase e oxidases de função mista. E a resistência ao sítio-alvo é devida a mutações no canal de sódio voltagem-dependente, também chamada resistência “*knockdown*” ou simplesmente *kdr* (MARTINS et al., 2009; DUSFOUR et al., 2015).

O efeito “*knockdown*” nos insetos pode ser definido como “*movimentos rápidos e involuntários, seguidos de paralisia e morte*” (BUSVINE, 1951). A resistência devida ao *kdr* se manifesta em todos os estágios da vida, enquanto a resistência metabólica pode ser específica do estágio de vida (HARDSTONE et al., 2007).

2.3.1 Monitoramento da resistência

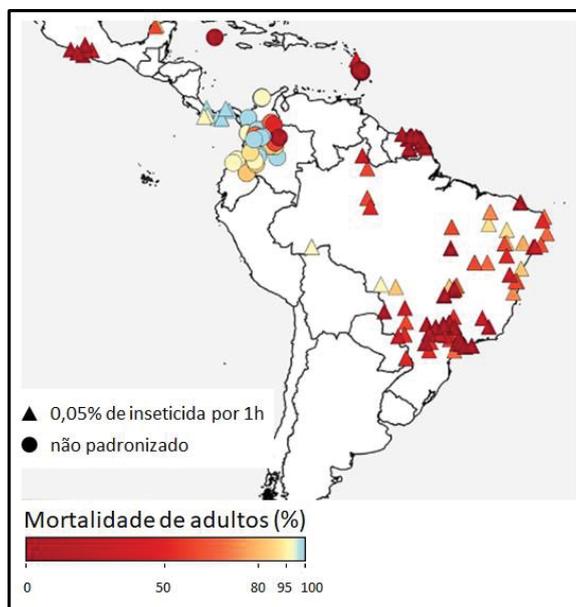
Desde 1967 as populações de *Aedes* no Brasil estão sujeitas a pressão de seleção de diversos inseticidas. No caso dos PY a resistência foi observada pela primeira vez em 2000 (DA-CUNHA et al., 2005). Mesmo assim, até 2009, com exceção do estado de São Paulo, a deltametrina (PY) era empregada em todo o país em aplicações espaciais e residuais. Após a disseminação da resistência a deltametrina foi substituída pelo malation (OP) para o controle de adultos de *Aedes* spp. (MS, 2009b).

Entre os anos 1999 e 2012 o Ministério da Saúde, atuando através do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), coordenou a criação da Rede Nacional de Monitoramento de Resistência a Inseticidas em *A. aegypti* (MoReNAa), uma parceria entre o governo e laboratórios de pesquisas, com objetivo de monitorar o status de suscetibilidade das populações pelo Brasil. O resultado é que essa rede detectou resistência a todos os inseticidas utilizados pelo PNCD (LIMA et al., 2011).

Na atualidade o rastreamento da resistência em escala global é coordenado pela Rede Mundial de Resistência a Inseticidas, “*Worldwide Insecticide resistance Network*” - WIN, a qual é apoiada pelo Programa Especial de Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (TDR) da OMS e pelo Departamento de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN). A WIN tem por objetivo fornecer evidências e conhecimentos para apoiar recomendações para o gerenciamento de resistência e implantação de métodos alternativos de controle de vetores de arbovírus. Adicionalmente a rede conta com a cooperação de 16 instituições internacionalmente reconhecidas em pesquisa vetorial da África, Mediterrâneo Oriental, Europa, América do Sul, Sudeste Asiático, América do Norte e Pacífico Ocidental (CORBEL et al., 2017).

Em 2017, a WIN fez uma revisão a nível global da resistência aos inseticidas nos vetores dos arbovírus, e encontrou que uma cobertura de dados é encontrada para populações de *A. aegypti* em grande parte das Américas e Ásia. E ainda, que a prevalência de resistência à deltametrina, inseticida mais utilizado para o controle de adultos, é consistentemente alta no Brasil e na Guiana Francesa FIGURA 4. Mas, os autores ressaltam que o conjunto de dados é altamente tendencioso, agrupado no tempo e no espaço, e contém valores gerados usando métodos diferentes (MOYES et al., 2017).

FIGURA 4 - Frequência de resistência a deltametrina em *Aedes aegypti* na América do Sul, 2006-2015. Os círculos indicam os resultados de bioensaios usando 0,05% de inseticida por 1 hora, e os triângulos os resultados de bioensaios não padronizados, incluindo diferentes doses diagnósticas e estimativas de exposição.



FONTE: Adaptado de MOYES et al. (2017).

A falta de dados padronizados acessíveis que documentem os níveis de resistência a inseticidas associado à ausência de estudos sobre o impacto operacional da resistência, impede uma análise mais abrangente do status dessa ameaça. No entanto, os países que possuem programas de monitoramento conseguiram demonstrar que a capacidade de controlar os vetores está reduzindo (RANSON et al., 2010).

Portanto, o monitoramento precoce da frequência das mutações pode ser utilizado como uma estratégia de gerenciamento de resistência, fundamental para preservar a eficácia dos inseticidas (HADDI et al., 2017).

2.3.2 Resistência aos piretróides

Os piretróides e o DDT apresentam em comum os canais de sódio voltagem-dependentes (Na_v) do sistema nervoso como alvo, desta forma a resistência a um composto pode resultar em resistência cruzada a outro molécula (BRENGUES et al., 2003). Por exemplo, apesar do DDT estar banido desde 1985 no Brasil, as alterações

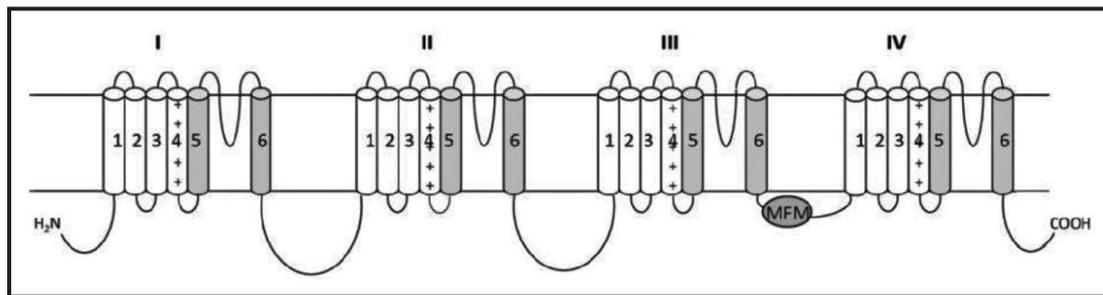
causadas pela sua utilização no passado podem facilitar o rápido desenvolvimento de resistência aos PY nos insetos.

O Na_v é uma proteína transmembranar presente nos axônios neuronais, composto por quatro domínios homólogos (I-IV), cada um com seis segmentos hidrofóbicos em α -hélice (S1 a S6), que participam ativamente do processo de ativação e fechamento do Na_v (CATTERALL, 2000).

Os Na_v permanecem inativos e fechados em repouso, mas desenvolvem mudanças conformacionais e estruturais em resposta a despolarização inicial da membrana, causando um fenômeno cíclico de ativação ou abertura e fechamento dos canais durante o processo de transmissão sensorial fisiológica. A abertura transitória do Na_v permite o fluxo de íons sódio a favor do gradiente de concentração, promovendo uma corrente transmembrana de despolarização neuronal, levando a membrana axonal mais próxima ao limiar para geração do potencial de ação (SCHMIDT e SCHMIDT, 2016).

A figura 5 mostra o canal de sódio. Os S1 – S4 constituem o módulo sensor de tensão. No "+" representa um resíduo de aminoácido carregado positivamente que age como sensor de voltagem do canal. Os segmentos S5, S6 e os loops P reentrantes na membrana conectam os segmentos S5 e S6 formando o módulo de poros (preenchimento em cinza). Após a despolarização da membrana, os segmentos S4 se movem na direção extracelular, o que inicia uma mudança conformacional durante a qual as metades do terminal C dos segmentos S6 (a porta de ativação) se afastam do eixo dos poros - abrindo assim a porta de ativação. Ligantes intracelulares curtos entre os segmentos S4 e S5 transferem os movimentos dos módulos sensores de voltagem para os segmentos S5 e S6 durante o bloqueio do canal. A partícula de inativação está localizada no ligante intracelular curto que conecta os domínios III e IV.

FIGURA 5 - Canal de sódio voltagem-dependente (Na_v). M (metionina), F (fenilalanina): resíduos de aminoácidos.



FONTE: DU et al. (2016).

A maioria dos Na_v é inativada rapidamente após sua abertura, porém, sob efeito dos PY a abertura dos canais de sódio dos insetos é prolongada, essa modificação causa hiperexcitabilidade e/ou bloqueio da condução nervosa (SMITH et al., 2016).

2.4 Mutações KDR

Diversas mutações nos canais de sódio têm sido identificadas e associadas à resistência do tipo *kdr* nas últimas três décadas. *A. aegypti* apresenta 11 mutações no canal sódio voltagem-dependente (“Voltage-Gated Sodium Channel” – VGSC) associadas a resistência a PY (CHEN et al. 2019). Um fenômeno comum é a ocorrência de múltiplas mutações no mesmo indivíduo de *A. aegypti*. Por exemplo V1016G / S989P tem sido descrita no sudeste da Ásia (PANG et al., 2015, ISHAK et al., 2015), V1016G / F1534C em Singapura (PANG et al., 2015) e S989P / V1016G / F1534C no sul da China, Tailândia, Myanmar, Indonésia (KAWADA et al., 2014; LI et al., 2015). Já em *A. albopictus* têm sido descritas cinco mutações detectadas nas posições 1532 e 1534 (DU et al., 2016; AGUIRRE-OBANDO et al., 2017).

A mutação mais difundida em *A. aegypti* é a F1534C a qual ocorre em três continentes sugerindo uma única origem seguida da sua disseminação mundial. A mutação F1534C é frequentemente encontrada em América do Sul e do Norte ocorrendo conjuntamente com V1016I (LINSS et al., 2014; CHAPADENSE et al., 2015; DUSFOUR et al., 2015; BONA et al., 2016). Adicionalmente, a F1534C tem sido identificada na África (KAWADA et al., 2016) e em co-ocorrência com V1016G na Ásia

e Oriente Médio. Essas associações formam o conjunto das mutações melhor estudado em relação à resistência aos PY.

A mutação V1016I parece melhorar o fenótipo da resistência aos PY conferido por F1534C, em vez de ser diretamente causal como a alteração na própria região 1534. Devido a sua associação comprovada com o fenótipo da resistência a detecção dessas duas mutações isoladamente ou em combinação é de grande importância para o manejo da resistência (MARCOMBE et al., 2009).

Em populações de *A. aegypti* do México, Brasil e a Guiana Francesa, assim como do Guadalupe no Caribe, foi estudada a associação entre os sítios 1016 e 1534 e foi observado que a resistência aos PY dessas populações estaria relacionada à seleção múltipla das duas mutações *kdr*. Portanto são considerados três alelos: Nav^S (1016 Val⁺ + 1534 Phe⁺), Nav^{R1} (1016 Val⁺ + 1534 Cys^{*kdr*}) e Nav^{R2} (1016 Ile^{*kdr*} + 1534 Cys^{*kdr*}) (LINSS et al., 2014; DUSFOUR et al., 2015; VERA-MALLOOF et al., 2015).

A tabela 2 sintetiza as mutações de *A. aegypti* e *A. albopictus* procedentes do Brasil

TABELA 2 - Mutações nas proteínas do canal de sódio associadas à resistência aos piretróides em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* encontradas no Brasil. V: valina, M: metionina, I: isoleucina, C: cisteína.

Espécies	IIS4-5	IIS6	IIIS6	Mutações	Referência
<i>Aedes aegypti</i>	G923	I1011		V+M	Brengues et al. (2003)
		I1011		M	Brengues et al. (2003); Aj et al. (2009)
		V1016	F1534	I+C	Linss et al. (2014); Chapadense et al. (2015);
<i>Aedes albopictus</i>			F1534	C	Aguirre-Obando et al. (2017)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE ESTUDO

O estado do Paraná possui 199.298 km² (IBGE, 2019), sendo a planície litorânea composta por 6.600 km². O litoral paranaense esta composto pelos municípios de Guaraqueçaba, Antonina, Morretes, Paranaguá, Pontal do Paraná, Matinhos e Guaratuba (ANGULO et al., 2006).

Paranaguá está localizada às coordenadas geográficas a 25°31'12" de latitude sul e 48°30'32" de longitude oeste do meridiano de Greenwich (Figura 6). Limita-se ao norte com Antonina e Guaraqueçaba através da Baía de Paranaguá; ao sul com Guaratuba e Matinhos; ao leste com Pontal do Paraná e ao oeste com Morretes. O município ocupa uma área de 826,4 Km² e sua população projetada em 2016 era de 156.174 habitantes (IBGE, 2020).

Paranaguá é uma cidade portuária com expansão inicial no sentido leste-noroeste devido à localização da baía de Paranaguá, posteriormente nos anos 1980 e 1990 expandiu-se em direção à BR 277 e à PR 407 (CERDEIRA, 1999).

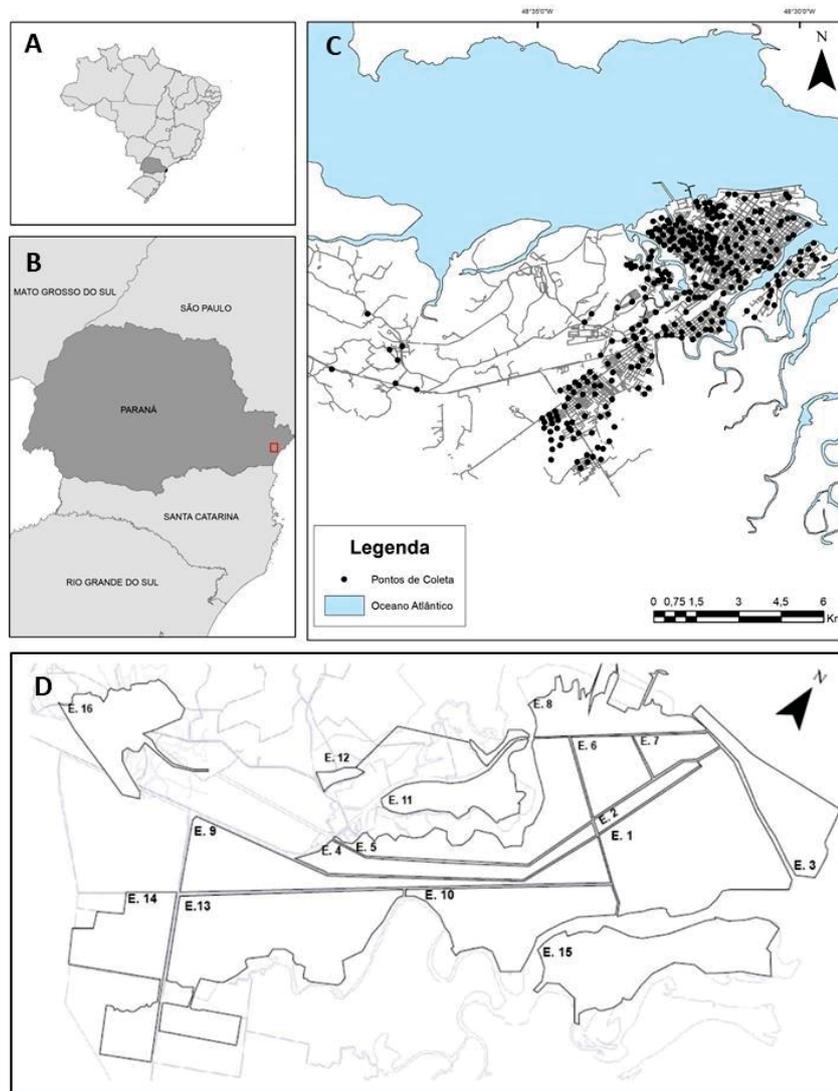
A partir de 1990 intensificaram-se ocupações irregulares e desordenadas, atingindo principalmente as margens e afluentes dos rios e manguezais, ao longo da PR 407 e PR 417, contornando a cidade. Esta área de invasão do entorno é predominada por população de baixa renda, em condições precárias de vida e moradia (ANDRIGUETTO FILHO, 1999).

O clima em Paranaguá é do tipo Cfa (Clima Subtropical Úmido – Mesotérmico), caracterizando-se por apresentar uma temperatura média, no mês mais quente, superior a 22°C, e no mês mais frio inferior a 18°C. Também existe uma tendência de concentração de chuvas nos meses de verão (CAVIGLIONE et al., 2000).

A vegetação local predominante é a Floresta Ombrófila Densa e na orla marinha predomina a vegetação de praia, mangues e restingas. É uma área rica em estuários e mangues (IAP, 1998).

A cidade de Paranaguá foi previamente dividida em 16 estratos considerando barreiras físicas como rios, grandes avenidas e vias férreas (Figura 6.D). Na medida do possível e com as informações disponíveis buscou-se atender ao preconizado no manual “Levantamento rápido de índices para *A. aegypti* - LIRAA- para vigilância entomológica do *A. aegypti* no Brasil” (MS, 2013), ou seja, áreas com características sócio-ambientais semelhantes.

FIGURA 6 – Localização da cidade de Paranaguá em relação ao Brasil (A) e ao estado do Paraná em vermelho (B). Paranaguá estratificada com os pontos de coleta (C) e, Paranaguá dividida em 16 estratos (D).



3.2 COLETAS

Os espécimens de Culicidae utilizados neste trabalho, têm como origem o material coletado durante a execução do macroprojeto realizado no município de Paranaguá em parceria entre o Laboratório de Morfologia e Fisiologia de Culicidae e Chironomidae (LAMFIC²) do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), a 1ª Regional de Saúde de Paranaguá, Secretaria de Estado da Saúde (SESA) e a Secretaria Municipal de Saúde de Paranaguá. O projeto visou

realizar o monitoramento das populações de *A. aegypti* e *A. albopictus* na cidade de Paranaguá entre junho de 2017 e novembro de 2018.

O monitoramento da atividade de *A. aegypti* e *A. albopictus* foi realizado utilizando a armadilha de oviposição proposta por Fay & Eliason (1966) devido a sua alta sensibilidade na detecção da atividade de oviposição mesmo sem uso de atraentes. Outra vantagem das armadilhas são custo unitário reduzido e o requerimento mínimo de recursos humanos no processo de instalação, sendo possível cobrir grandes áreas de monitoramento.

As armadilhas foram distribuídas em cada estrato respeitando certa equidistância e conservando um distanciamento mínimo de 250m entre cada uma. Na área urbana do município foram instaladas 331 armadilhas, onde cada estrato recebeu aproximadamente 20 armadilhas (Figura 6.C).

Em cada ciclo de monitoramento as armadilhas permaneceram durante quatro dias no peridomicílio dos imóveis, ação realizada mediante documento de autorização assinada pelo proprietário do imóvel. Após esse período eram recolhidas por pesquisadores do LAMFIC², agentes da saúde da Primeira Regional de Paranaguá (SESA) e da Prefeitura Municipal de Paranaguá para logo serem transportadas para o LAMFIC², local de realização da triagem e subseqüentes análises.

O monitoramento do vetor nos diferentes ciclos não alterou qualquer rotina dos trabalhos realizados pelo município ou estado, como ações de remoção de potenciais criadouros dos mosquitos ou aplicação de inseticidas destinados a reduzir o número de alados de *Aedes* spp., visto que durante janeiro e fevereiro de 2018 houve aplicação de cinco ciclos do serviço de borrifação ultra baixo volume (UBV) – conhecido como fumacê, uma solução do inseticida cipermetrina (PY) e óleo mineral na forma de uma fumaça densa e esbranquiçada, borrifada com bombas grandes acopladas a veículos, com finalidade de eliminar a forma adulta do mosquito.

3.3 TRIAGEM DE ARMADILHAS E OBTENÇÃO DE ADULTOS

As palhetas que compunham cada ovitrampa eram inspecionadas e o número de ovos registrado. Essas palhetas eram acondicionadas em lugar seco por pelo menos sete dias, e após esse período eram submersas em copos plásticos de 770 mL contendo água desclorada e ração alevinos Aqua line® Supra juvenil com 42% de proteína, para induzir a eclosão dos ovos. Os procedimentos para a emergência das

larvas foram conduzidos sob temperatura de 25°C ± 1, umidade 80% ± 10 e fotoperíodo 12:12 horas.

Os adultos recém-emergidos eram identificados por espécie, sexo, e catalogados conforme estrato de origem, para logo serem armazenados em tubos de 1,5 mL a -80°C. Com os alados de *Aedes* spp foram realizados vários estudos que compunham o projeto de monitoramento das populações de *A. aegypti* e *A. albopictus*, e, conforme a disponibilidade do remanescente, uma amostragem randomizada de diferentes pontos de coleta foi selecionada para realizar a genotipagem das mutações *kdr*, objetivo da presente dissertação. Igualmente a disponibilidade do número de adultos das duas espécies foi influenciada pela flutuação populacional das espécies em campo.

A genotipagem de *A. aegypti* foi realizada utilizando 115 indivíduos procedentes dos estratos 5, 10, 11, 13 e 14, selecionados devido a maior disponibilidade de material (Figura 7.A). Da coleta de dezembro de 2017 foram selecionados 50 adultos e da coleta de abril de 2018 foram selecionados 65 (Tabela 3).

TABELA 3 – Número de machos e fêmeas de *Aedes aegypti* pertencentes a cada um dos estratos do município de Paranaguá no mês de dezembro de 2017 e abril de 2018.

Estratos	<i>Aedes aegypti</i>					
	dezembro 2017			abril 2018		
	♂	♀	Total	♂	♀	Total
5	8	3	11	5	8	13
10	7	8	15	3	10	13
11	7	3	10	5	5	10
13	3	1	4	4	10	14
14	2	8	10	5	10	15
Total			50			65

A genotipagem de *A. albopictus* foi realizada utilizando 321 indivíduos procedentes de 15 estratos, selecionados devido a maior disponibilidade de material (Figura 7.B). Em 2017 foram analisados 175 adultos, sendo 32 mosquitos coletados em setembro, 29 em outubro, 64 em novembro, e 50 em dezembro. Em 2018 foram avaliados 176 adultos, sendo 27 exemplares de janeiro, 36 de fevereiro, 43 de março e 70 de abril (Tabela 4).

FIGURA 7 – Localização dos estratos amostrados no município de Paranaguá em 2017 e 2018. **A.** Genotipagem de *Aedes aegypti* foi realizada utilizando 105 indivíduos procedentes dos estratos 5, 10, 11, 13 e 14. **B.** Genotipagem de *Aedes albopictus* foi realizada utilizando 321 indivíduos procedentes de todos os estratos exceto o três.

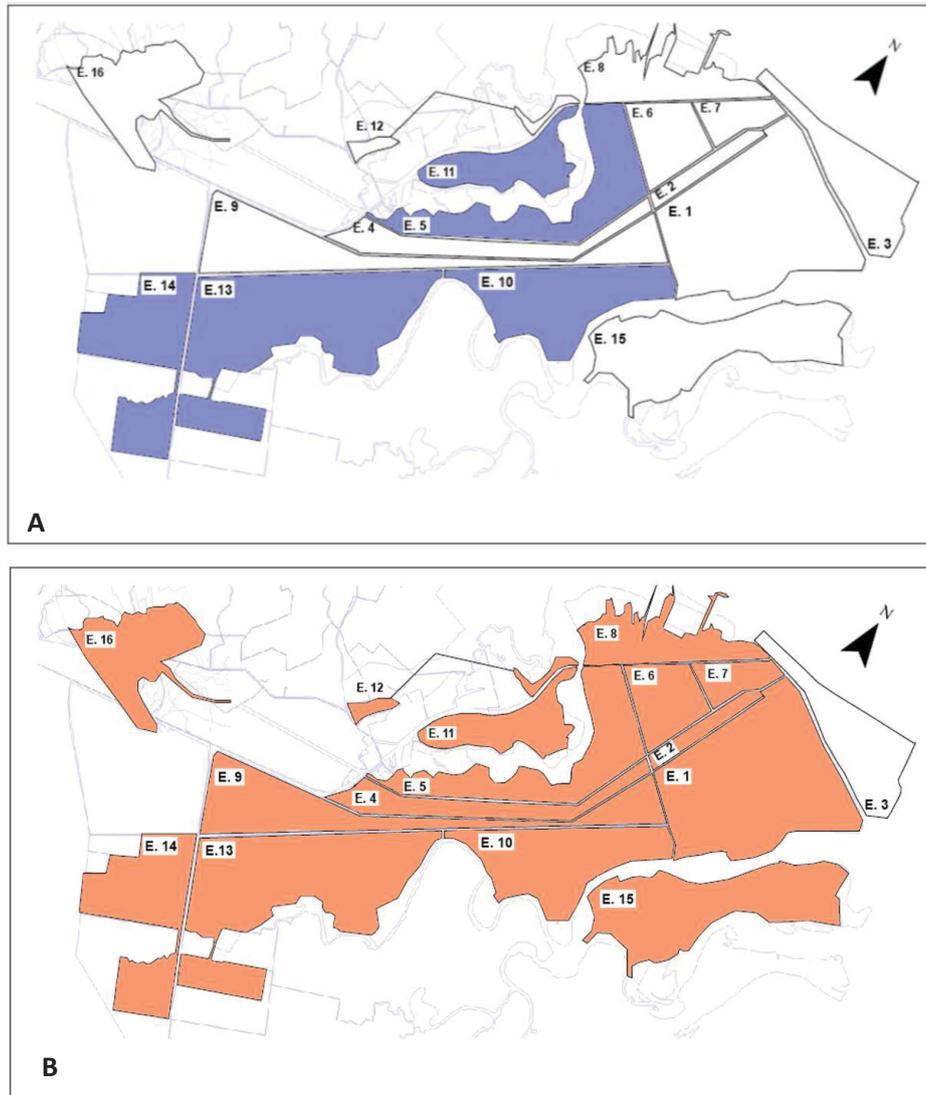


TABELA 4 – Número de machos e fêmeas de *Aedes albopictus* pertencentes a cada um dos estratos do município de Paranaguá nos anos de 2017 e 2018.

<i>Aedes albopictus</i>												
Estratos	2017											
	setembro			outubro			novembro			dezembro		
	♂	♀	total	♂	♀	total	♂	♀	total	♂	♀	total
1	-	-	-	-	-	-	18	-	18	2	6	8
5	15	-	15	-	-	-	-	-	-	5	5	10
6	4	-	4	-	-	-	-	-	-	1	-	1
7	-	-	-	-	-	-	5	4	9	5	4	9
8	12	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	6	-	6	-	-	-	-	6	6
10	-	-	-	-	-	-	8	-	8	-	-	-
11	-	-	-	9	-	9	10	-	10	5	-	5
12	1	-	1	-	-	-	2	3	5	1	-	1
13	-	-	-	9	-	9	9	5	14	-	6	6
15	-	-	-	5	-	5	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	4
Total	32	-	32	29	-	29	52	12	64	23	27	50
Estratos	2018											
	janeiro			fevereiro			março			abril		
	♂	♀	total	♂	♀	total	♂	♀	total	♂	♀	total
1	-	-	-	3	-	3	6	-	6	-	-	-
2	-	-	-	1	-	1	7	-	7	-	-	-
4	1	-	1	-	-	-	4	-	4	-	-	-
5	5	-	5	3	-	3	-	-	-	8	-	8
6	2	-	2	-	-	-	2	-	2	-	-	-
7	2	-	2	-	-	-	1	-	1	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	3	-	3	8	-	8
9	7	-	7	4	-	4	6	-	6	7	2	9
10	1	-	1	2	-	2	2	-	2	5	-	5
11	3	-	3	4	2	6	5	-	5	8	1	9
12	2	-	2	3	-	3	-	-	-	-	-	-
13	2	-	2	4	-	4	3	-	3	5	-	5
14	1	-	1	2	-	2	1	-	1	12	-	12
15	1	-	1	7	-	7	3	-	3	4	2	6
16	-	-	-	1	-	1	-	-	-	4	4	8
Total	27	-	27	36	-	36	43	-	43	61	9	70

3.4 EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS

A extração do ADN foi realizada individualmente utilizando-se o kit de *DNeasy Blood & Tissue* (QIAGEN), seguindo as recomendações do fabricante. Em cada tubo plástico tipo *ependorf* de 1,5mL, contendo um adulto, foram adicionados 30 µL de *Buffer ATL*, tampão para lise de tecidos, e em seguida houve a maceração em homogeneizador. Foram adicionados mais 150 µL de *Buffer ATL* para completar o

volume total de 180 µL do tampão, e mais 20 µL de *proteinase K* com a finalidade de desnaturar as enzimas hidrolíticas que degradam o ADN, durante a extração.

A mistura foi agitada com auxílio de vórtex e direcionada para a incubação a 56°C durante 1h30min. Concluído esse período, o conteúdo foi novamente misturado no vórtex e foram adicionados 200 µL Buffer AL. Uma segunda incubação foi realizada durante 10 min a 70°C. Seguidamente foram adicionados 200 µL de etanol 96%, e a solução misturada no vórtex. A mistura foi transferida à coluna de filtração, e esta centrifugada por 1min a 6.000 x g. Em seguida o tubo de coleta foi descartado com o filtrado e a coluna recolocada em um novo tubo. À coluna foram adicionados 500 µL de tampão de lavagem AW1 e em seguida centrifugou-se por 1 min a 6.000 x g. O filtrado foi descartado, e outros 500 µL do segundo tampão de lavagem AW2 foram acrescentados. Seguidos por uma centrifugação a 20.000 x g por 3 min.

O tubo de coleta com o filtrado foi descartado e a coluna acondicionada num novo micro tubo. Por fim o ADN presente no filtro da coluna foi eluído com 30 µL tampão A. A amostra foi incubada por 1 min a temperatura ambiente e centrifugada duas vezes a 6.000 x g por 1min para a eluição do ADN no micro tubo coletor.

A qualidade das extrações do ADN foi avaliada considerando a concentração de ácidos nucleicos ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$) de cada amostra e a presença de impurezas em função das relações A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} . Estes parâmetros foram medidos utilizando um espectrofotômetro, NanoDrop®.

3.5 AMPLIFICAÇÃO POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

3.5.1 PCR alelo-específica para mutações Val1016Ile

As reações PCR alelo-específica (AS-PCR) foram realizadas para avaliar a presença da mutação Val1016Ile. Os iniciadores utilizados encontram-se descritos na tabela 5.

As reações de PCR foram realizadas em um volume de 12 µL. Cada reação estava composta por 2U da enzima Taq *Thermus aquaticus* (Sigma-Aldrich®), 10X do tampão contendo 100 mM Tris-HCl; pH 8,3; 500 mM KCl; 15 mM MgCl₂; 5 µM dos iniciadores comuns e específicos (1016Val e 1016Ilekdr), 200 µM dNTP (Invitrogen®), 100 ng de ADN e água Milli-Q em quantidade suficiente para completar o volume final.

O ciclo de desnaturação inicial foi de 95°C por 12 minutos, depois a reação foi seguida de 39 ciclos a 95°C por 20 segundos, anelamento a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 30 segundos; seguidos de extensão final a 72°C durante 5 minutos (MARTINS et al, 2009; SAAVEDRA-RODRIGUEZ et al, 2007).

TABELA 5 - Iniciadores utilizados para a mutação Val1016Ile.

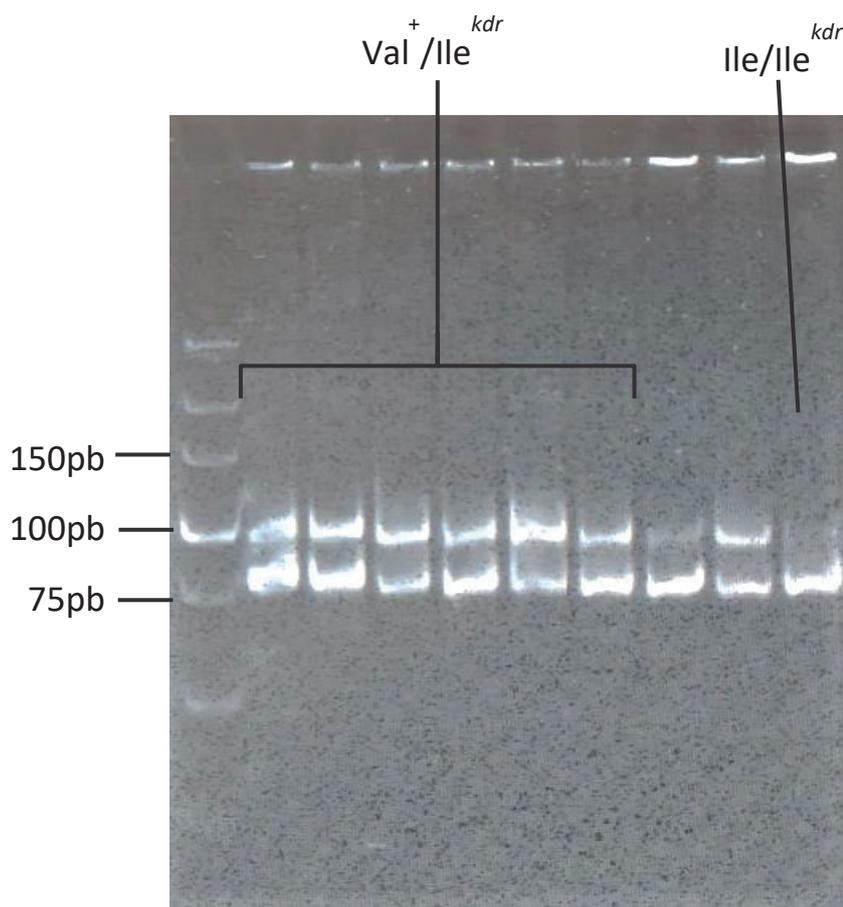
Iniciadores	Referências
Val ⁺ 5'- GCG GGC AGG GCG GCG GGG GCG GGG CCA CAA ATTGTT TCC CAC CCG CAC CGG - 3'	Saavedra-Rodriguez et al. (2007), Martins et al. (2009).
Ile ^{kdr} 5'- GCG GGC ACA AAT TGT TTC CCA CCC GCA CTG A -3'	
Val/Ile 5'- GGA TGA ACC GAA ATT GGA CAA AAG C -3'	

(⁺) alelos selvagens; (^{kdr}) alelos mutantes.

A amplificação dos alelos foi verificada em eletroforese vertical em gel de poliacrilamida a 10%, contendo 4 µL de amostra da PCR, 2 µL do *Ultra Low Range ADN Ladder* 25 pb (Invitrogen®), corados com 1 µL de safer dye (KASVI®). As condições de corrida foram 170 V por 50min.

As bandas de eletroforese em gel de produtos AS-PCR correspondentes as mutações eram diferenciadas entre homozigotos, onde bandas de 78 e 98pb correspondem, respectivamente aos alelos mutante (1016Ile) e selvagem (1016Val), ou heterozigotos figura 8 (A autora, 2021).

FIGURA 8 - Produtos de amplificação para o sítio *kdr* 1016.



FONTE: A autora (2021).

3.5.2 PCR alelo-específica para mutações Phe1534Cys

As reações PCR alelo-específica realizadas para avaliar a presença da mutação Phe1534Cys utilizaram os iniciadores descritos na tabela 6.

TABELA 6 - Iniciadores utilizados para a mutação Phe1534Cys.

Primers	Referência
Phe ⁺ 5'- TCTACTTTGTGTTCTTCATCATATT - 3'	
Cys ^{<i>kdr</i>} 5'- TCTACTTTGTGTTCTTCATCATGTG - 3'	HARRIS et al., (2010)
Phe/Cys 5'- TCTGCTCGTTGAAGTTGTCGAT - 3'	

(⁺) alelos selvagens; (^{*kdr*}) alelos mutantes.

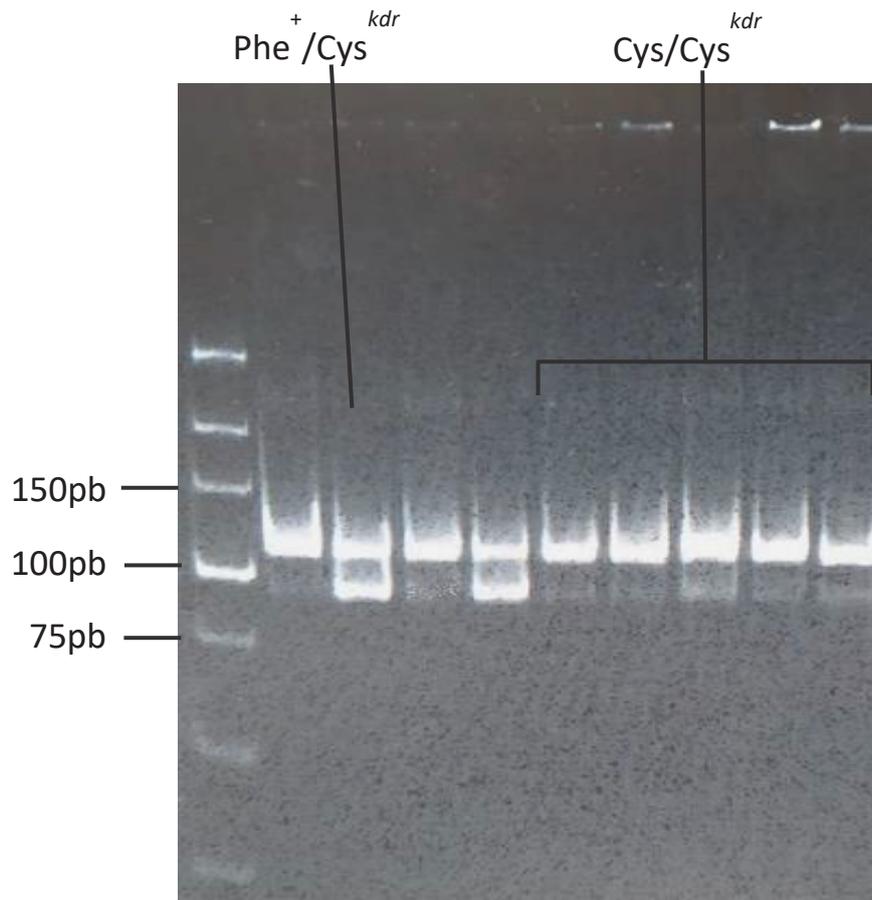
As reações de PCR foram realizadas em um volume de 12 μ L. Cada reação estava composta por 2U da enzima Taq *Thermus aquaticus* (Sigma-Aldrich[®]), 10X do tampão contendo 100 mM Tris-HCl; pH 8,3; 500 mM KCl; 15 mM MgCl₂; 0,24 μ M do iniciador comum, 0,12 e 0,24 μ M dos iniciadores específicos (1534Phe e 1534Cys^{kd_r}), 200 μ M de dNTP (Invitrogen), 100 ng de ADN e água Milli-Q em quantidade suficiente para completar o volume final.

As reações seguiram os parâmetros otimizados por LINSS et al. (2014): um ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, 32 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento a 54°C por 40 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos; seguidos de extensão final a 72°C por 5 minutos.

Após a realização da PCR os alelos amplificados foram verificados em eletroforese vertical em gel de poliacrilamida a 10%, contendo 4 μ L de amostra da PCR, 2 μ L do *Ultra Low Range DNA Ladder* 25pb (Invitrogen[®]), corados com 1 μ L de safer dye (KASVI[®]). As condições de corrida foram 170 V durante 50 min.

As bandas de eletroforese em gel de produtos AS-PCR correspondentes as mutações eram distinguidas entre homozigotos, onde bandas de 90 e 110pb correspondem, respectivamente, aos alelos selvagem (1534Phe) e mutante (1534Cys^{kd_r}), ou heterozigotos figura 9 (A autora, 2021).

FIGURA 9 - Produtos de amplificação para o sítio kdr 1534



FONTE: A autora (2021).

3.6 DETERMINAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS

3.6.1 Frequência genotípica

As frequências genotípicas [$f(x)$], a qual refere-se as proporções dos diferentes genótipos (AA, Aa ou aa) em uma determinada população foram calculadas com a seguinte fórmula:

$$f(x) = \frac{\text{número de indivíduos com genótipo "x"}}{\text{número total de indivíduos}}$$

De forma independente foram calculadas as mutações 1016 Val/Val⁺, Val⁺/Ile^{kdr} e Ile^{kdr}/Ile^{kdr} e 1534 Phe/Phe⁺, Phe⁺/Cys^{kdr} e Cys/Cys^{kdr}, ambas para *A. aegypti*, e

apenas o sítio 1534 para *A. albopictus*. Depois de forma conjunta foi calculado para *A. aegypti* considerando os sítios 1016 e 1534 constituintes de um único locus, avaliando a ocorrência de seis genótipos em mosquitos individuais (Tabela 7).

TABELA 7 – Alelos encontrados no agrupamento genotípico dos sítios 1016 e 1534 do Nav.

Alelos	Sigla
Val/Val ⁺ + Phe/Phe ⁺	SS
Val/Val ⁺ + Phe ⁺ /Cys ^{kdr}	SR1
Val ⁺ /Ile ^{kdr} + Phe ⁺ /Cys ^{kdr}	SR2
Val/Val ⁺ + Cys/Cys ^{kdr}	R1R1
Val ⁺ /Ile ^{kdr} + Cys/Cys ^{kdr}	R1R2
Ile/Ile ^{kdr} + Cys/Cys ^{kdr}	R2R2

(⁺) alelos selvagens; (^{kdr}) alelos mutantes.

FIGURA 10 - Operação para determinar frequências genotípicas [$f(x)$] em uma determinada população.

O fenótipo *kdr* é uma característica recessiva, ou seja, é necessário que o indivíduo seja homocigoto para a mutação *kdr* ser resistente aos PY (Dong et al. 2014). Desta forma, a partir da análise das AS-PCR para os sítios 1016 e 1534, considerou-se os genótipos SS, SR1 e SR2 (para suscetibilidade) e R1R1, R2R2 e R1R2 (para resistência aos PY) (Tabela 7).

3.6.2 Frequência alélica

As frequências alélicas [$f(y)$], a qual refere-se à proporção de ocorrência de diferentes alelos (A ou a) de um determinado gene observado em uma determinada população foram calculados com base nas seguintes fórmulas:

$$f(A) = \frac{2 \times \text{n}^\circ \text{ de indivíduos com genótipo AA} + \text{n}^\circ \text{ de indivíduos com genótipo Aa}}{2 \times \text{n}^\circ \text{ total de indivíduos}}$$

$$f(a) = \frac{2 \times \text{n}^\circ \text{ de indivíduos com genótipo aa} + \text{n}^\circ \text{ de indivíduos com genótipo Aa}}{2 \times \text{n}^\circ \text{ total de indivíduo}}$$

As frequências alélicas foram calculadas para os sítios 1016 e 1534 de *A. aegypti* e para 1534 de *A. albopictus*.

3.6.3 Teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)

O equilíbrio de Hardy -Weinberg descreve a influência da reprodução ao acaso nas frequências alélicas e genotípicas numa população infinitamente grande. O equilíbrio foi avaliado pela equação clássica, sendo a hipótese nula de equilíbrio verificada por um teste qui-quadrado (χ^2) com um ou três graus de liberdade, respectivamente, quando três ou seis genótipos foram evidenciados (HARTL e CLARK, 2010).

4 RESULTADOS

4.1 *Aedes aegypti*

A população de *A. aegypti*, no sítio 1016 apresentou o predomínio de heterozigose Val⁺/Ile^{kdr} com números próximos em dezembro de 2017 e abril de 2018, 84% e 72%, respectivamente (Tabela 8). No mesmo período o sítio 1534 apresentou predomínio do genótipo resistente, Cys/Cys^{kdr}, sendo o valor de 2018 aproximadamente 1,2 vezes superior ao observado em 2017 (Tabela 9).

TABELA 8 - Frequência genotípica de *Aedes aegypti* procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1016.

Genótipos	2017	2018
	dezembro	abril
Val/Val ⁺	0,04 (2)	0,05 (3)
Val ⁺ /Ile ^{kdr}	0,84 (42)	0,72 (47)
Ile/Ile ^{kdr}	0,12 (6)	0,23 (15)
Total	1 (50)	1 (65)

(⁺) alelos selvagens; (^{kdr}) alelos mutantes.

TABELA 9 - Frequência genotípica de *Aedes aegypti* procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1534.

Genótipos	2017	2018
	dezembro	abril
Phe/Phe ⁺	0,02 (1)	0,02 (1)
Phe ⁺ /Cys ^{kdr}	0,24 (12)	0,03 (2)
Cys/Cys ^{kdr}	0,74 (37)	0,95 (62)
Total	1 (50)	1 (65)

(⁺) alelos selvagens; (^{kdr}) alelos mutantes.

Baseado na composição dos genótipos, observou-se a presença de cinco genótipos nas populações avaliadas, estando ausente apenas o genótipo suscetível

SR1 (Val/Val⁺ + Phe⁺/Cys^{kdR}), tanto no mês de dezembro de 2017 quanto em abril de 2018.

A frequência genotípica espacial, ou seja, em relação aos estratos apontou para predomínio da resistência nos dois períodos analisados. Em 2018 os genótipos resistentes (R1R1, R1R2 e R2R2) ultrapassaram os 90%, atingindo 100% em dois estratos (13 e 14) entre os cinco avaliados.

Em relação ao tempo transcorrido entre uma amostragem e outra observou-se o surgimento do genótipo R1R1 nos estratos 5 e 10, com baixa frequência, de 8% e 15% respectivamente, e desaparecimento do mesmo genótipo no estrato 11.

Entre os anos também ocorreram alterações na frequência no genótipo R1R2, o qual aumentou em 22% no estrato 10, em 20% no estrato 11, e em 18% no estrato 13; e reduziu em 28% no estrato 5, e 10% no estrato 14.

O genótipo R2R2 ampliou sua frequência em 22% no estrato 5, 8% no estrato 10, e 30% no estrato 14 de 2018 em comparação a 2017.

O único estrato onde ocorreu aumento em dois genótipos (R1R2 e R2R2) de 2017 para 2018 foi o estrato 10.

As populações dos estratos avaliados nos anos de 2017 e 2018 estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, considerando um nível de significância de 5%.

TABELA 10 - Frequência genotípica de *Aedes aegypti* procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando os sítios 1016 e 1534 ligados. a comparação entre os genótipos é incidida pelo qui-quadrado (χ^2) e a probabilidade.

Estratos	dezembro 2017								
	Frequências de genótipos*						Genótipos resistentes	Total (n)	HWE**
	SS	SR1	SR2	R1R1	R1R2	R2R2			
5	0,09	0	0	0	0,82	0,09	0,91	11	1,67
10	0	0	0,53	0	0,40	0,07	0,47	15	0,75
11	0	0	0,20	0,10	0,50	0,20	0,80	10	0,23
13	0	0	0	0	0,75	0,25	1	4	0,36
14	0	0	0,20	0	0,70	0,10	0,80	10	0,67
Estratos	abril 2018								
	Frequências de genótipos*						Genótipos resistentes	Total (n)	HWE**
	SS	SR1	SR2	R1R1	R1R2	R2R2			
5	0	0	0,08	0,08	0,54	0,31	0,92	13	0,10
10	0	0	0,08	0,15	0,62	0,15	0,92	13	0,09
11	0,10	0	0	0	0,70	0,20	0,90	10	1,40
13	0	0	0	0	0,93	0,07	1	14	0,75
14	0	0	0	0	0,60	0,40	1	15	0,18

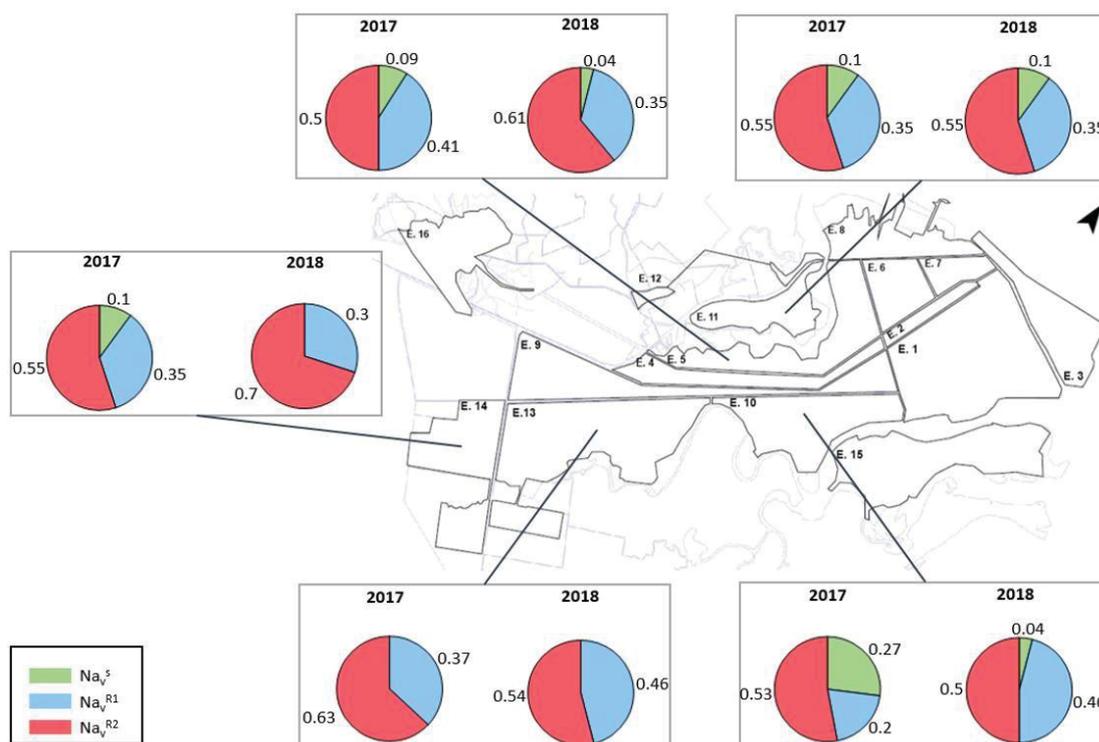
* SS (Val/Val⁺ + Phe/Phe⁺); SR1 (Val/Val⁺ + Phe⁺/Cys^{kdr}); SR2 (Val⁺/Ile^{kdr} + Phe⁺/Cys^{kdr}); R1R1 (Val/Val⁺ + Cys/Cys^{kdr}); R1R2 (Val⁺/Ile^{kdr} + Cys/Cys^{kdr}); R2R2 (Ile/Ile^{kdr} + Cys/Cys^{kdr});

** Equilíbrio do Hardy-Weinberg: teste do qui-quadrado (χ^2) com 3 graus de liberdade.

Considerando a distribuição espacial foi observado o predomínio dos alelos para resistência. Esta predominância também ocorre no tempo, ou seja, decorridos três meses da primeira observação o percentual de alelos resistentes na população continuou superior a 50%.

Em relação aos alelos de suscetibilidade é possível observar que estavam ausentes ou em frequência inferior a 0,3%. No intervalo de tempo analisado houve redução ou manutenção do reduzido percentual de presença de alelos de suscetibilidade Figura 10.

FIGURA 10 - Frequência e distribuição dos alelos kdr NA_V^S , NA_V^{R1} E NA_V^{R2} das populações de *Aedes aegypti* de Paranaguá de acordo com os estratos de amostragem, dezembro de 2017 e abril de 2018.



A presença dos genótipos de resistência dispersos espacialmente na população de *A. aegypti* nos diferentes estratos do município indicam a ampla distribuição da mutação, que também é mantida no tempo, uma vez que foram analisadas diferentes gerações quando considerado o tempo transcorrido entre as amostragens.

4.2 *Aedes albopictus*

No ano de 2017 foram avaliados em média 43,7 indivíduos e em 2018 foram avaliados em média 44 adultos. O genótipo resistente (Cys/Cys^{kdr}) foi observado no mês de novembro de 2017, representando 6% do total de adultos analisados nesse mês. Já em 2018 a resistência foi observada em abril, em 1% dos indivíduos analisados desse mês (Tabela 11).

As frequências alélicas do alelo 1534Phe foram maiores em todos os meses em relação às frequências do alelo 1534Cys, sendo de 100% nos meses de setembro, outubro e dezembro de 2017, e janeiro, fevereiro de 2018 (Figura 11).

TABELA 11- Frequência genotípica de *Aedes albopictus* procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando o sítio 1534.

Genótipos	2017				
	setembro	outubro	novembro	dezembro	
Phe/Phe ⁺	1,0 (32)	1,0 (29)	0,92 (59)	1,0(50)	
Phe ⁺ /Cys ^{kdr}	0	0	0,02 (1)	0	
Cys/Cys ^{kdr}	0	0	0,06 (4)	0	
Total	1 (32)	1 (29)	1 (64)	1 (50)	\bar{x} 43,75

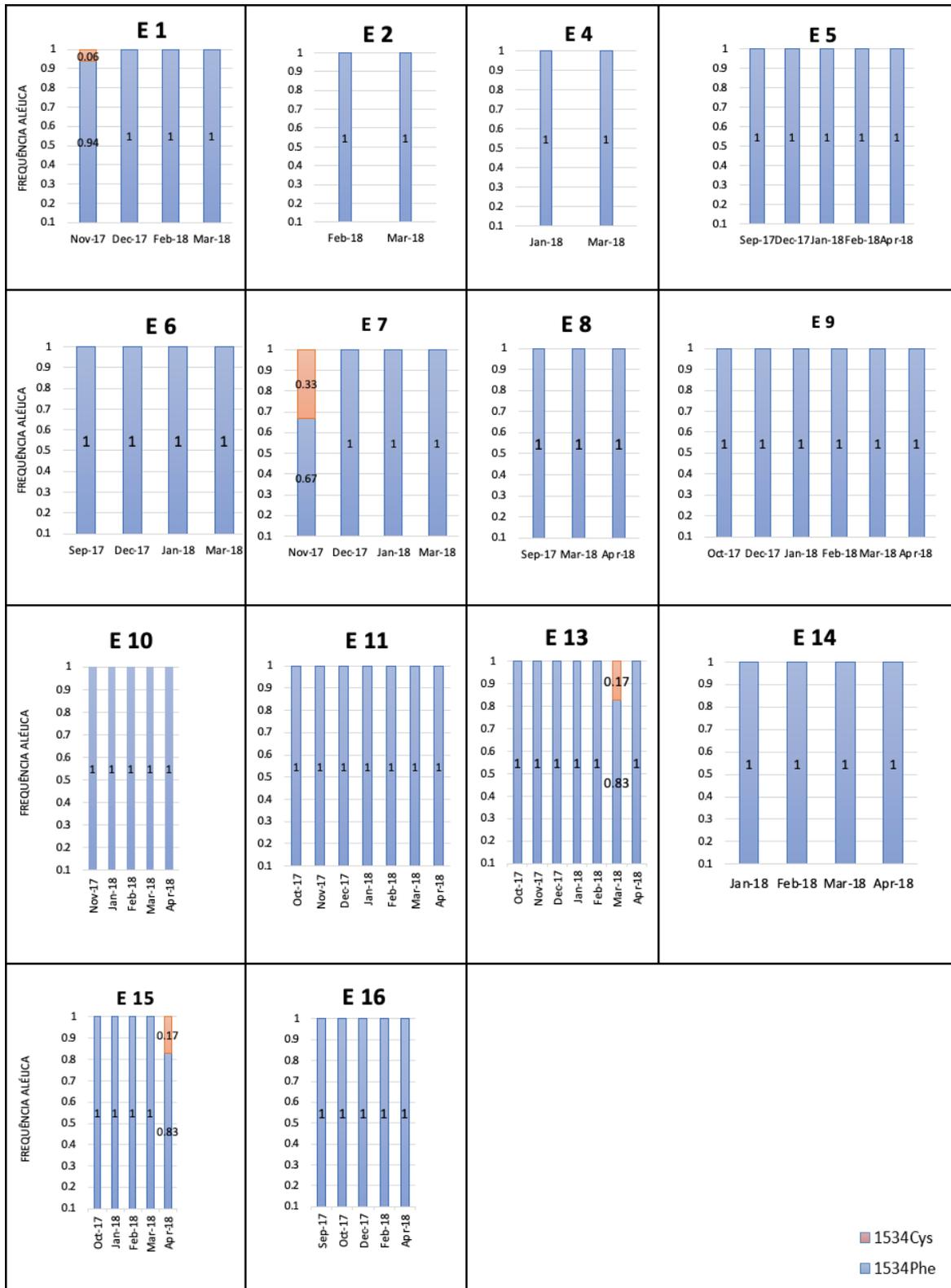
Genótipos	2018				
	janeiro	fevereiro	março	abril	
Phe/Phe ⁺	1,0 (27)	1,0 (36)	0,98 (42)	0,99 (69)	
Phe ⁺ /Cys ^{kdr}	0	0	0,02 (1)	0	
Cys/Cys ^{kdr}	0	0	0	0,01 (1)	
Total	1 (27)	1 (36)	1 (43)	1 (70)	\bar{x} 44

(⁺) alelos selvagens; (^{kdr}) alelos mutantes.

Novembro de 2017 foi o mês com maior frequência do alelo de resistência, com 33% de 1534Cys no estrato 7; 6% de 1534Cys no estrato 1; e 1% de 1534Cys no estrato 12 (Figura 12).

A frequência alélica de 1534Cys foi de 17% em março de 2018 no estrato 13 e também em abril do mesmo ano no estrato 15 (Figura 11).

FIGURA 11 – Frequência dos alelos selvagem (1534Phe) e mutante (1534Cys) para a mutação Phe1534Cys do canal de sódio voltagem-dependente de *Aedes albopictus* procedentes de Paranaguá em 2017 e 2018 considerando seu estrato de origem. E: Estrato.



5 DISCUSSÃO

Paranaguá foi foco de atenção nos anos 2015/2016 devido à gravidade da epidemia de dengue que se abateu sobre a população do município nesses anos. Embora o fato tenha sido registrado não se encontra paralelo na história recente do município.

Em momentos de emergência de saúde pública em decorrência de número elevado de casos de dengue, inclusive com o registro de óbitos, a redução da densidade vetorial passa a ser considerado prioritária. Assim, o controle químico acaba sendo frequentemente indicado como ferramenta de primeira opção para impedir o contato vetor hospedeiro.

Diante da necessidade de compatibilizar as análises nacionais com as observações locais, foram levadas a efeito a análise de susceptibilidade de inseticidas da classe dos PY em Paranaguá, município do litoral do estado do Paraná, que abriga a maior estrutura portuária do estado, com desdobramentos sob os diferentes aspectos sociais e econômicos para região litorânea e estadual.

A identificação da resistência a PY em vários lugares do Brasil causou sua substituição, em 2009, pelo OP malathion, em aplicações espaciais e residuais no controle de *A. aegypti* onde era utilizado deltametrina (PY) em campanhas governamentais (MARTINS et al. 2009; MS, 2009a). Porém, não foi descontinuado o uso doméstico e por empresas privadas da deltametrina, nem sua aplicação no controle dos vetores da doença de Chagas, malária e leishmaniose, em várias regiões urbanas do país (VALLE et al., 2019; LOPES et al., 2019). Portanto, a pressão de seleção com piretróides permanece relevante.

Uma boa evidência do exposto acima é o caso do presente estudo, que identificou que mesmo após oito anos do recuo na utilização de PY há resistência na população de *A. aegypti* no município de Paranaguá-PR. Situação igualmente observada para o estado de São Paulo, onde após 10 anos sem o uso de PY por parte do governo ainda é detectada resistência (MACORIS et al., 2018).

Embora bioensaios com adultos para determinar a suscetibilidade ao PY não tenham sido realizados nesse trabalho, somente a detecção das mutações *kdr* em populações naturais de *A. aegypti* já tem graves consequências para o uso continuado de PY, uma vez que estudos sobre pressão de seleção usando essa

classe de inseticidas, em condições de laboratório, documentaram a fixação do alelo *kdr* 1016I após cinco gerações apenas (SAAVEDRA-RODRIGUES et al., 2012).

As mutações *kdr* são fisiologicamente expressas como uma característica recessiva (DONG et al., 2014). Como a maioria dos alelos mutantes são transportados por heterozigotos, os quais não são selecionados favoravelmente pela exposição a inseticidas, os alelos mutantes podem permanecer em níveis baixos por um longo período. No entanto, à medida que os homozigotos recessivos aparecem, esses alelos podem se espalhar muito rapidamente (BARBOSA et al., 2011). Por exemplo, no ano de 2018 foram observados, tanto para a mutação V1016I quanto para P1534C em *A. aegypti*, níveis menores de heterozigotes e maiores de homozigotes recessivos, comparado a 2017.

Porém, não se deve subestimar a presença de heterozigotos, pois há estudos que sugerem dominância parcial ou efeitos aditivos de V1016I (SAAVEDRA-RODRIGUEZ et al., 2007). Interpretação apoiada por ROUSH E TABASHNIK (1990) que relataram a mesma situação de dominância parcial para ciclodienos e lindano, diazinon, malathion e também para piretróides, onde 20-60% dos heterozigotos sobreviveram à exposição em um ambiente de campo.

As interações de múltiplas mutações desempenham um papel na resposta dos canais de sódio de *A. aegypti* a inseticidas (LIU, 2015). A associação fenótipo-genótipo foram detectadas entre os canais 1016/1534/410 e resistência a λ - cialotrina e permetrina (HADDI et al, 2017; PAREJA-LOAIZA et al, 2020). Além disso, esses resultados determinam que a presença de V1016I e V410L heterozigotos é suficiente para conferir resistência a deltametrina (HADDI et al, 2017).

A prevalência de mutações que favorecem a resistência aos inseticidas, também determinam alterações que podem proporcionar desvantagens, por exemplo na sobrevivência e reprodução, diante da detecção da resistência em programas de controle vetorial é essencial avaliar o impacto efetivo sobre na biologia do vetor *A. aegypti* a mutação *kdr* (SMITH et al 2020).

Ao acompanhar a dinâmica dos genótipos *Nav*, para as mutações V1016I e P1534C em *A. aegypti*, nos anos 2017 e 2018, foi possível identificar os três alelos, *NavS*, *NavR1* e *NavR2*, encontrados anteriormente em populações brasileiras (LINSS et al., 2014; CHAPADENSE et al., 2015).

A análise da distribuição dos alelos de resistência, *NavR1* e *NavR2*, descreveu uma alta frequência em todas as regiões estratificadas de Paranaguá. Esses

resultados sugerem que há utilização do inseticida PY em toda a área urbana. Outra possibilidade seria que a disseminação homogênea dos alelos pela área urbana esteja ocorrendo pelas redes de transporte humano, através das principais rodovias. Ressaltando que a cidade em estudo é portuária, logo tem um grande tráfego rodoviário e marítimo. Os meios de transporte são mundialmente conhecidos por serem o principal meio de dispersão de longa distância (GONÇALVES et al., 2012).

Na média total o alelo R2 foi o mais frequente nos dois anos analisados para *A. aegypti*. Essa informação é relevante no status da resistência, pois BRITO et al. (2018) fizeram uma análise através de um ensaio de tempo de *knockdown* (*Kd T*), com adaptação dos tubos de ensaio da OMS utilizando com papel impregnado com deltametrina e concluíram que a linhagem R2R2, homocigótica para o alelo *kdr* R2, foi a mais resistente (RR 95 = 6,7). Os indivíduos R2R2 apresentaram resistência 1,5 vezes maior do que R1R1, sendo o *Kd T* R2R2 > R1R2 > R1R1.

A mutação P1534C foi evidenciada com baixa frequência em *A. albopictus* em Paranaguá, o que pode indicar um início de seleção para a resistência nessas populações. Dados similares também foram observados em Marilena/PR, com o alelo *kdr* em 3%, e em Foz do Iguaçu/PR com 10% (BONA et al., 2012).

Ao considerar que *A. albopictus* tem preferência por habitats com mais vegetação e é geralmente mais exofílico (KRAMER et al., 2015) e que *A. aegypti* é antropofílico, endofágico e com preferência de oviposição em ambientes antrópicos (KAWADA et al., 2009), os dados encontrados para *A. albopictus* podem estar sendo subestimados, visto que as metodologias empregadas no presente estudo foram desenvolvidas especificamente como estratégia de estudo de *A. aegypti*.

No Brasil, os dados relativos à rede MoReNAa são baseados em duas metodologias: o índice larval (LI) e o método de Levantamento Rápido do Índice de Infestação de *A. aegypti* (LIRAA). Ambos utilizados para detectar as formas imaturas de mosquitos e, empregados na área urbana, onde *A. aegypti* é preferencialmente encontrado (BRAGA e VALLE, 2007).

A condição de resistência de *A. aegypti* e *A. albopictus* aos PY é reconhecida em diferentes locais do Brasil (MARCORIS et al., 2018; HAYD et al., 2020; LOPES et al., 2021), em outros países da América (APONTE et al., 2018; BOWMAN et al., 2018; PAREJA-LOAIZA et al., 2020) e, em outros continentes (AMELIA-YAP et al., 2018; SOMBIÉ et al., 2019).

A eficiência do piretróide no uso doméstico determinou a mortalidade de aproximadamente 50% da população avaliada em estudos realizados por GRAY et al. (2018). Essa ação reduzida leva à necessidade da utilização de princípios ativos alternativos, no entanto há um número limitado de moléculas disponíveis para realizar o controle de vetores. Esta situação, como relatado pelos autores, demanda uma avaliação cuidadosa tanto da esfera pública quanto privada a fim de gerar novas moléculas que possam ser utilizadas no controle doméstico, e dificuldade no monitoramento da resistência em áreas urbanas.

Considerando todos os aspectos antes mencionados, as populações de *Aedes* devem ser monitoradas continuamente quanto à resistência aos inseticidas. Nesse sentido, as análises moleculares laboratoriais têm sido muito úteis para os programas de vigilância, uma vez que a resistência detectada nesses testes está correlacionada de forma positiva com estratégias inadequadas de controle dos vetores em campo.

6 CONCLUSÃO

- ✓ Nas populações de *A. aegypti* foram genotipadas as mutações Val1016Ile (IIS6) e Phe1534Cys (IIIS6), e em *A. albopictus* foi evidenciada a mutação Phe1534Cys (IIIS6) na cidade de Paranaguá-PR;
- ✓ Em todos os estratos de Paranaguá foram detectados em *A. aegypti* os alelos *kdr NavR1* e *NavR2*, este com frequências superiores a 50%;
- ✓ Nas populações de *A. albopictus* de Paranaguá o alelo 1534Cys *kdr* está presente, apresentando frequência máxima de 6%;
- ✓ Análises moleculares laboratoriais são ferramentas rápidas para monitorar a resistência a inseticidas utilizados nos programas de controle vetorial.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-OBANDO O. A., MARTINS A. J., NAVARRO- SILVA M. A. First report of the Phe1534Cys kdr mutation in natural populations of *A. des albopictus* from Brazil. **Parasites Vectors**. vol.10, n.1, articleno.160, 2017. DOI: 10.1186/s13071-017-2089-5.
- ALBUQUERQUE C. M. R., MELO-SANTOS M. A. V., BEZERRA M. A. S., BARBOSA R. M. R., SILVA D. F., SILVA E. Primeiro registro de *A. des albopictus* em área da Mata Atlântica, Recife, PE, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 314-315. jun. 2000. DOI: 10.1590/S0034-89102000000300017.
- ALPHEY L., ANDREASEN M. Dominant lethality and insect population control. **Mol Biochem Parasitol**. 121:173-8. 2002. DOI: 10.1016/s0166-6851(02)00040-3.
- AMELIA-YAP Z. H., CHEN C. D., SOFIAN-AZIRUN M., LOW V. L. Pyrethroid resistance in the dengue vector *A. des Aegypti* in Southeast Asia: present situation and prospects for management. **Parasit Vectors**. 2018 Jun 4;11(1):332. DOI: 10.1186/s13071-018-2899-0.
- ANDRIGUETTO FILHO, J. M. **Sistemas Técnicos de Pesca e suas Dinâmicas de Transformação no litoral do Paraná, Brasil**. 254 p. Tese (Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento) Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 1999.
- ANGULO, R.J., SOUZA, M. C. de, MUELLER, M. E. J., NOERBERG, M. A., SOARES, C. R., BORZONE, C. A., MARONE, E., QUADROS, C. J. de L. Erosão e Acresção no litoral paranA.nse. In: MUEHE, D. **Erosão e progradação do litoral brasileiro**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2006.
- APONTE A., PENILLA R. P., RODRÍGUEZ A. D., OCAMPO C. B. Mechanisms of pyrethroid resistance in *A. des (Stegomyia) Aegypti* from Colombia. **Acta Trop**. 2019 Mar;191:146-154. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.12.021.
- BALDACCHINO, F, CAPUTO B., CHANDRE F., et al. Control methods against invasive *A. des* mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**, v. 71, n. 11, p. 1471–1485, 1 nov. 2015. DOI: 10.1002/ps.4044.
- BARBOSA S., BLACK, W. C. T., HASTINGS, I. Challenges in estimating insecticide selection pressures from mosquito field data. **PLoS Negl Trop Dis**. 5 (11). 2011. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001387.
- BEZERRA, J., ARAÚJO, R., MELO, F. F., et al. *A. des (Stegomyia) albopictus* dynamics influenced by spatiotemporal characteristics in a Brazilian dengue-endemic risk city. **Acta tropica**, 164, 431–437. out. 2016. DOI: 10.1016/j.actatropica.2016.10.010.
- BISSET, J. A. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. **Rev. Cubana Med Trop**. 54 (3):202-19, 2002. ISSN 0375-0760.
- BONA A. C. D., PICCOLI C. F., LEANDRO A. D. S., KAFKA R., TWERDOCHILIB A. L., NAVARRO-SILVA M. A. Genetic profile and molecular resistance of *A. des (Stegomyia) Aegypti* (Diptera: Culicid.A.) in Foz do Iguaçu (Brazil), at the border with Argentina and Paraguay. **Zoologia (Curitiba)**, 29, 540-548. 2012. DOI: 10.1590/S1984-46702012000600005.
- BOWMAN N. M., AKIALIS K., CAVE G., et al. Pyrethroid insecticides maintain repellent effect on knock-down resistant populations of *A. des Aegypti* mosquitoes. **PLoS ONE**. 2018. 13(5): e0196410. DOI: 10.1371/journal.pone.0196410.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. A. des Aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília. v. 16, n. 4, p. 179–293, dez. 2007. DOI: 10.5123/S1679-49742007000400006.
- BRENGUES, C., HAWKES, N. J., CHANDRE, F., et al. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *A. des Aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. **Medical and**

Veterinary Entomology, v. 17, n. 1, p. 87–94, mar. 2003. DOI: 10.1046/j.1365-2915.2003.00412.x.

BRITO L. P., CARRARA L., FREITAS R. M., LIMA J. B. P., MARTINS A. J. Levels of Resistance to Pyrethroid among Distinct kdr Alleles in *A. des Aegypti* Laboratory Lines and Frequency of kdr Alleles in 27 Natural Populations from Rio de Janeiro, Brazil. **BioMed Research International**, vol. 2018. Article ID 2410819. DOI: 10.1155/2018/2410819.

BROWN, J. E., EVANS, B. R., ZHENG, W., et al. Human impacts have shaped historical and recent evolution in *A. des Aegypti*, the dengue and yellow fever mosquito. **Evolution**, v. 68, n. 2, p. 514–525, 1 fev. 2014. DOI: 10.1111/evo.12281.

BUSVINE, J. R. Mechanism of resistance to insecticide in Houseflies. **Nature**. 168(4266):193-5. 1951. DOI: 10.1038/168193a0.

CARVALHO, R. G.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; BRAGA, I. A. Updating the geographical distribution and frequency of *A. des albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 6, p. 787–796, 1 set. 2014. DOI: 10.1590/0074-0276140304.

CAVIGLIONE, J. H., KIIHL, L. R. B., CARAMORI, P. H., OLIVEIRA, D. Cartas climáticas do Paraná. Londrina: IAPAR, 2000. CD. Disponível em: <https://infoagro.deinfo.uepg.br/artigos/pdf/info_102.pdf>.

CATTERALL, W. A. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. **Neuron**. 26(1):13-25, apr. 2000. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)81133-2.

CERDEIRA, P. C. R. A percepção do lixo na perspectiva de diferentes atores sociais no ambiente urbano de Paranaguá: um estudo de caso. Curitiba, 1999. Tese (Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento) - Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

CHAPADENSE F. G., FERNANDES E. K., LIMA J. B., MARTINS A. J., SILVA L. C., ROCHA W. T., et al. Phenotypic and genotypic profile of pyrethroid resistance in populations of the mosquito *A. des Aegypti* from Goiania, Central West Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**. 48(5):607–9. 2015. DOI: 10.1590/0037-8682-0046-2015.

CHEN M., DU Y., WU S., NOMURA Y., ZHU G., ZHOROV B. S., et al. Molecular evidence of sequential evolution of DDT- and pyrethroid-resistant sodium channel in *A. des Aegypti*. **PLoS Negl Trop Dis** 13(6): e0007432. 2019. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007432.

CHEN H., LI K., WANG X., YANG X., LIN Y., CAI F., ZHONG W., LIN C., LIN Z., MA Y. First identification of kdr allele F1534S in VGSC gene and its association with resistance to pyrethroid insecticides in *A. des albopictus* populations from Haikou City, Hainan Island, China. **Infectious Diseases of Poverty**, 5, 8. 2016. DOI: 10.1186/s40249-016-0125-x.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. DE. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora FIOCRUZ, 228p. 1994. ISBN: 85-85676-03-5.

CORBEL, V. et al. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 10, n. 1, p. 278, 2 jun. 2017. DOI: 10.1186/s13071-017-2224-3.

COSTA, Z. G. A., ROMANO, A. P. M., ELKHOURY, A. N. M., FLANNERY, B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude** 2011; 2(1):11-26. DOI: 10.5123/S2176-62232011000100002.

COSTA, G. **Pesquisadores confirmam potencial da Wolbachia na prevenção de arboviroses**. 2019. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/pesquisadores-confirmam-potencial-da-wolbachia-na-prevencao-de-arboviroses>>. Acesso em: 16 abr. 2020.

COUTO-LIMA, D., MADEC, Y., BERSOT, M. I. et al. Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *A. des* populations. **Sci Rep** 7, 4848. 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-05186-3.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (DICLORO DIFENIL TRICLOROETANO): TOXICIDADE E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL – UMA REVISÃO. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6, p. 995–1002, 2002. DOI: 10.1590/S0100-40422002000600017.

DA-CUNHA, M. P., LIMA, J. B. P., BROGDON, W G, et al. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *A. des Aegypti* (Diptera: CulicidA.) populations collected between 2001 and 2003. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 4, p. 441–444, 2005. DOI: 10.1590/S0074-02762005000400017.

DE MELLO, Y. R.; LOPES, F. C. A.; ROSEGHINI, W. F. F. Características climáticas e análise rítmica aplicada a episódios extremos de precipitação e temperatura no município de Paranaguá, PR. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 20, n. 0, 1 ago. 2017. DOI: 10.5380/abclima.v20i0.48594.

DEGENER, C. M., EIRAS, A. E., AZARA, T. M., et al. Evaluation of the Effectiveness of Mass Trapping With BG-Sentinel Traps for Dengue Vector Control: A Cluster Randomized Controlled Trial in Manaus, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 2, p. 408–420, 1 mar. 2014. DOI: 10.1603/me13107.

DONG K., DU Y., RINKEVICH F., NOMURA Y., XU P., WANG L., et al. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. **Insect Biochem Mol Biol**. 50:1–17. 2014. DOI: 10.1016/j.ibmb.2014.03.012.

DU, Y.; NOMURA, Y.; ZHOROV, B. S.; DONG, K. Sodium Channel Mutations and Pyrethroid Resistance in *A. des Aegypti*. **Insects**. v. 7, n. 4. p. 60. out. 2016. DOI: 10.3390/insects7040060.

DUSFOUR, I.; ZORRILLA, P.; GUIDEZ, A. et al. Deltamethrin Resistance Mechanisms in *A. des Aegypti* Populations from Three French Overseas Territories Worldwide. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, p. e0004226, 20 nov. 2015. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004226.

FAY R., ELIASON D. A. A preferred oviposition site as a surveillance method for *A. des Aegypti*. **Mosq News**, 26, 531-535. 1966. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/MN_V26_N4_P531-535.pdf>.

FIGUEIREDO, L. T. M. Arboviroses emergentes no Brasil.. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224-229. mar. 2007. DOI: 10.1590/S0037-86822007000200016.

FORATTINI, O. P. Identification of *A. des (Stegomyia) albopictus* (Skuse) in Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 20, n. 3, p. 244–245, jun. 1986. DOI: 10.1590/S0034-89101986000300009.

FREITAS, W. F. de Aspectos Históricos de Paranaguá, Editora Voz do Paraná, 2ª edição. Paranaguá, 1973, 87p.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. Ed. Brasília. 2001. 84p. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf>.

GARCIA, G. A., HOFFMANN, A. A., MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. *Aedes aegypti* insecticide resistance underlies the success (and failure) of *Wolbachia* population replacement. **Sci Rep** 10, 63 (2020). DOI: 10.1038/s41598-019-56766-4.

GOLSTEIN, C.; BOIREAU, P.; PAGÈS, J.-C. Benefits and limitations of emerging techniques for mosquito vector control. **Comptes Rendus Biologies**, v. 342, n. 7–8, p. 270–272, 1 set. 2019. DOI: 10.1016/j.crv.2019.09.024.

GONÇALVES, A., CUNHA I., SANTOS W., LUZ S., RIBOLLA P., ABAD-FRANCH F. Gene flow networks among American *A. des Aegypti* populations. **Evolutionary Applications**. pp. 664 - 676, maio. 2012. DOI: 10.1111/j.1752-4571.2012.00244.x.

GOULD, E., PETTERSSON, J., HIGGS, S., CHARREL, R., de LAMBALLERIE, X. Emerging arboviruses: Why today? **One Health**. 2017 Jul 1; 4:1-13. DOI: 10.1016/j.onehlt.2017.06.001. PMID: 28785601; PMCID: PMC5501887.

GRAY, L., FLOREZ, S. D., BARREIRO, A.M. et al. Experimental evaluation of the impact of household A.rosolized insecticides on pyrethroid resistant *A.des Aegypti*. **Scientific Reports** 8, 12535 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-30968-8.

GUIDI, V., LEHNER, A., LÜTHY, P., TONOLLA, M. Dynamics of *Bacillus thuringiensis var. isrA.lensis* and *Lysinibacillus sphaericus* Spores in Urban Catch Basins after Simultaneous Application against Mosquito Larva.. PLoS ONE, v. 8, n. 2, p. e55658, 4 fev. 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0055658.

HADDI, K. et al. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *A.des Aegypti*: A potential challenge for mosquito control. **Scientific Reports**, v. 7, 19 abr. 2017. DOI: 10.1038/srep46549.

HARDSTONE, M. C., LEICHTER, C., HARRINGTON, L. C., et al. Cytochrome P450 monooxygenase-mediated permethrin resistance confers limited and larval specific cross-resistance in the southern house mosquito, *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 89, n. 3, p. 175–184, 1 nov. 2007. DOI: 10.1016/j.pestbp.2007.06.006.

HARRINGTON, L. C.; EDMAN, J. D.; SCOTT, T. W. Why Do Female *A.des Aegypti* (Diptera: CulicidA.) Feed Preferentially and Frequently on Human Blood? **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 411–422, may 2001. DOI: 10.1603/0022-2585-38.3.411.

HARRIS, A. F.; RAJATILEKA, S.; RANSON, H. Pyrethroid resistance in *A.des Aegypti* from Grand Cayman. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 2, p. 277–284, 5 ago. 2010. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0623.

HARTL, D., CLARK, A. Princípios de genética de populações. 4th ed., 4th ed., ARTMED Editora S.A, Porto Alegre. 2010.

HEINISCH, M. R. S., DIAZ-QUIJANO, F. A., CHIARAVALLLOTI-NETO, F., et al. Seasonal and spatial distribution of *A.des Aegypti* and *A.des albopictus* in a municipal urban park in São Paulo, SP, Brazil. **Acta Tropica**. V. 189, Pages 104-113. Jan. 2019. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.09.011.

IAP, INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. Zona Costeira ParanA.nse – Subsídios para a Elaboração do Plano de Gestão Ambiental Integrado. Curitiba, 1998.

IBGE. **Cidades e estados**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pr/paranagua.html>>. Acesso em: 24 maio. 2020.

IBGE. **Cidades e estados**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pr/>>. Acesso em: 24 fevereiro. 2021.

ISHAK I. H., JAAL Z., RANSON H., WONDJI C. S. Contrasting patterns of insecticide resistance and knockdown resistance (kdr) in the dengue vectors *A.des Aegypti* and *A.des albopictus* from Malaysia. **Parasites & Vectors**, 8, 181. 2015. DOI: 10.1186/s13071-015-0797-2.

KAWADA H., HIGA Y., KOMAGATA O., KASAI S., et al. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltagegated sodium channel in pyrethroid-resistant *A.des Aegypti* populations in Vietnam. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, 3, e527. 2009. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000527.

KAWADA H., OO S. Z. M., THAUNG S., et al. Co-occurrence of point mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroid-resistant *A.des Aegypti* populations in Myanmar. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, 8, e3032. 2014. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003032.

KAWADA H, HIGA Y., FUTAMI K., et al. Discovery of Point Mutations in the Voltage-Gated Sodium Channel from African *A.des Aegypti* Populations: Potential Phylogenetic Reasons for Gene Introgression. **PLoS. Negl. Trop. Dis.** 10(6): e0004780. 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004780.

- KRAMER, M. U. G., SINKA, M. E., DUDA, K. A., et al. The global distribution of the arbovirus vectors *A. des Aegypti* and *A. albopictus*. **eLife**, v. 4, n. 30 jun. 2015. DOI: 10.7554/eLife.08347.
- KUNO G. Review of the Factors Modulating Dengue Transmission. **Epidemiologic Reviews**, v. 17, n. 2, p. 321–335, 1995. DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036196.
- LI, C. X., KAUFMAN, P. E., XUE, R. D. et al. Relationship between insecticide resistance and kdr mutations in the dengue vector *A. des Aegypti* in Southern China. **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, p. 325, 12 jun. 2015. DOI: 10.1186/s13071-015-0933-z.
- LIMA, E. P., PAIVA, M. H. S., DE ARAÚJO, A. P. et al. Insecticide resistance in *A. des Aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, p. 5, 12 jan. 2011. DOI: 10.1186/1756-3305-4-5.
- LINSS, J. G. B. BRITO, L. P., GARCIA, G. A., et al. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *A. des Aegypti* Brazilian natural populations. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, p. 25, 15 jan. 2014. DOI: 10.1186/1756-3305-7-25.
- LOPES, T. B. F., AMARO, T. R., SILVA, B. P., et al. Genetic study in *A. des (Stegomyia) Aegypti* (LinnA.us, 1762) from Londrina (Paraná State, Brazil): an approach to population structure and pyrethroid resistance. **Rev. Bras. entomol.**, São Paulo , v. 65, n. 1, e20200088, 2021 . DOI: 10.1590/1806-9665-rbent-2020-0088.
- LOPES, R. P., LIMA, J. B. P. & MARTINS, A. J. Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 in Brazil: a review. **Parasit. Vectors** 12 , 591. 2019. DOI: 10.1186/s13071-019-3850-8.
- LOUNIBOS, L. P. Habitat segregation among African treehole mosquitoes. **Ecological Entomology**, v. 6, n. 2, p. 129–154, 1 maio 1981. DOI: 10.1111/j.1365-2311.1981.tb00601.x.
- MARCOMBE S., CARRON A., DARRIET F., et al. Reduced efficacy of pyrethroid space sprays for dengue control in an area of Martinique with pyrethroid resistance. **Am J Trop Med Hyg**; 80(5):745-751. 2009. DOI: 10.4269/ajtmh.2009.80.745.
- MARCONDES, C. B.; XIMENES, M. DE F. F. DE M. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *A. des (Stegomyia)* mosquitoes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 49, n. 1, p. 4-10, Feb. 2016. DOI: 10.1590/0037-8682-0220-2015.
- MACORIS, M. L., MARTINS, A. J., ANDRIGHETTI, M. T. M., et al. Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *A. des Aegypti* in governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. **PLoS Negl. Trop. Dis.** 12 , 2018. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006390.
- MARTINS, A. J. et al. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *A. des Aegypti* from Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, n. 1, p. 108–115, 1 jul. 2009. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2009.02378.x.
- MCMENIMAN, C. J., LANE, R. V., CASS, B. N., et al. Stable introduction of a life-shortening Wolbachia infection into the mosquito *A. des Aegypti*. **Science**, v. 323, n. 5910, p. 141–144, 2 jan. 2009. DOI: 10.1126/science.1165326.
- MILLER, B. R.; MITCHELL, C. J.; BALLINGER, M. E. Replication, tissue tropisms and transmission of yellow fever virus in *A. des albopictus*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 2, p. 252–255, 1 mar. 1989. DOI: 10.1016/0035-9203(89)90667-6.
- MITCHELL, C. J.; MILLER, B. R. Vertical transmission of dengue viruses by strains of *A. des albopictus* recently introduced into Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 6, n. 2, p. 251–253, 1 jun. 1990. PMID: 2370532.
- MITCHELL, C. J.; MILLER, B. R.; GUBLER, D. J. Vector competence of *A. des albopictus* from Houston, Texas, for dengue serotypes 1 to 4, yellow fever and Ross River viruses. **Journal of the American**

Mosquito Control Association, v. 3, n. 3, p. 460–465, 1 set. 1987. PMID: 2849638.

MOYES, C. L.; VONTAS, J.; MARTINS, A. J.; NG, L. C.; KOOU, S. Y.; et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *A. des* vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 20 jul. 2017. 11(7): e0005625. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005625.

MS, Ministério da Saúde. [Informa mudança de uso de inseticidas larvicidas e adulticidas na rotina do Programa Nacional de Controle da Dengue]. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009a.

MS, Ministério da Saúde. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**. 1. ed. Brasília: Editora MS, 2009b.

MS, Ministério da Saúde. **Levantamento rápido de índices para *A. des Aegypti* - LIRAA - para vigilância entomológica do *A. des Aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipos de recipientes**. Brasília - DF: Editora MS, 2013.

MS, Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. V. 48. 2017. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/10/2017-046-Publicacao.pdf>>. Acesso: 28 fev. 2021.

MS, Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. V. 49. 2018. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/02/2018-067.pdf>>. Acesso: 28 fev. 2021.

NATURE. **Nobel prize for medicine: Dr. Paul Müller**. Nature 162, 727. 1948. DOI: 10.1038/162727a0.

OSANAI, C. H.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TANG, A. T.; AMARAL, R. S.; PASSOS, A. D. C.; TAUIL, P. L. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima (nota prévia). **Rev. Inst. Med. Trop.**, v.25, p.53-54, 1983.

PANCETTI F. G. M., HONÓRIO N. A., URBINATTI P. R., LIMA-CAMARA T. N. Twenty-eight years of *A. des albopictus* in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Uberaba, v. 48, n. 1, p. 87-89, Feb. 2015. DOI: 10.1590/0037-8682-0155-2014.

PANG S., CHIANG L., TAN C., VYTHILINGAM I., LAM-PHUA S., NG L. Low efficacy of deltamethrin-treated net against Singapore *A. des Aegypti* is associated with kdr-type resistance. *Tropical Biomedicine*, 32, 140-150. 2015. PMID: 25801264.

PAREJA-LOAIZA, P. X., SANTACOLOMA VARON, L., REY VEJA, G., et al. Mechanisms associated with pyrethroid resistance in populations of *A. des Aegypti* (Diptera: CulicidA.) from the Caribbean coast of Colombia. **PLoS ONE** 15(10):e0228695. DOI: 10.1371/journal.pone.0228695.

PARANÁ. **RESOLUÇÃO SESA Nº 0459/2014**, 2014. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-04/resolucao4592014.pdf>. Acesso em: 24 maio. 2020.

PEREIRA, T. N., CARVALHO, F. D., DE MENDONÇA, et al. Vector competence of *A. des Aegypti*, *A. des albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes for Mayaro virus. **PLoS Negl Trop Dis**. 14(4). 2020. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007518.

RAY D. E., FRY J. R. A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. **Pharmacol. Ther.**, 111, 174-193. 2006. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.10.003.

RANSON, H., BURHANI, J., LUMJUAN, N., BLACK IV, W. C. . Review Insecticide resistance in dengue vectors. **TropIKA.net**, v. 1, 2010. ISSN 2078-8606.

REITER, P.; SPRENGER, D. The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 3, n. 3, p. 494–

501, 1987. PMID: 2904963.

RICAS REZENDE, H., MALTA ROMANO, C., MORALES CLARO, I., et al. First report of *A. des albopictus* infected by Dengue and Zika virus in a rural outbreak in Brazil. **PLoS ONE** 15(3): e0229847. 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0229847.

RINKEVICH, F. D.; DU, Y.; DONG, K. Diversity and Convergence of Sodium Channel Mutations Involved in Resistance to Pyrethroids. **Pestic Biochem Physiol.**106(3):93-100. Jul. 2013. DOI: 10.1016/j.pestbp.2013.02.007.

ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. **Pesticide résistance in arthropods**. Chapman and Hall, New York, 1990. 303 p.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. São Paulo: Editora Roca, 2005.

SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K.; URDANETA-MARQUEZ, L.; RAJATILEKA, S.; MOULTON, M. et al. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *A. des Aegypti*. **Insect Molecular Biology**, v. 16, n. 6, p. 785–798, 17 dez. 2007. doi: 10.1111/j.1365-2583.2007.00774.x.

SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K.; MALOOF, F.V.; CAMPBELL, C. L. et al. Parallel evolution of vgsc mutations at domains IS6, IIS6 and IIIS6 in pyrethroid resistant *A. des Aegypti* from Mexico. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 6747, 1 dez. 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-25222-0.

SCHMIDT, A. P.; SCHMIDT, S. R. G. Behavior of ion channels controlled by electric potential difference and of Toll-type receptors in neuropathic pain pathophysiology. **Revista Dor**, v. 17, p. 43–45, 2016. DOI: 10.5935/1806-0013.20160046.

SINKINS, S. P. Wolbachia and arbovirus inhibition in mosquitoes. **Future Microbiology**, v. 8, n. 10, p. 1249–1256, out. 2013. DOI: 10.2217/fmb.13.95.

SMITH, L. B.; KASAI, S.; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *A. des Aegypti* and *A. des albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 1 out. 2016. 133:1-12. DOI: 10.1016/j.pestbp.2016.03.005.

SODERLUND, D. M. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: Recent advances. **Archives of Toxicology**. 86(2):165-81. fev. 2012. DOI: 10.1007/s00204-011-0726-x.

SOMBIÉ, A., SAIKI, E., YAMÉOGO, F. et al. High frequencies of F1534C and V1016I kdr mutations and association with pyrethroid resistance in *A. des Aegypti* from Somgandé (Ouagadougou), Burkina Faso. **Trop Med Health** 47, 2. 2019. DOI: 10.1186/s41182-018-0134-5

TABACHNICK, W. J. Evolutionary Genetics and Arthropod-borne Disease: The Yellow Fever Mosquito. **American Entomologist**, v. 37, n. 1, p. 14–26, 1 jan. 1991. DOI: 10.1093/A./37.1.14.

TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z.. Epidemiologia e medidas de prevenção do Dengue. **Inf. Epidemiol. Sus**, Brasília, v. 8, n. 4, p. 5-33, dez. 1999. DOI: 10.5123/S0104-16731999000400002.

VALLE, D., BELLINATO, D. F., VIANA-MEDEIROS, P. F., et al. Resistance to temephos and deltamethrin in *A. des Aegypti* from Brazil between 1985 and 2017. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 114 , 2019. DOI: 10.1590/0074-02760180544.

VAN DEN BERG, H., ZAIM, M., YADAV, R. S., et al. Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 4, p. 577–582, abr. 2012. DOI: 10.1289/ehp.1104340.

VEGA-RUA, A., ZOUACHE, K., GIROD, R., et al. High Level of Vector Competence of *A. des Aegypti* and *A. des albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya

Virus. **Journal of Virology**, v. 88, n. 11, p. 6294–6306, 1 jun. 2014. DOI: 10.1128/JVI.00370-14.

VERA-MALOOFF, F. Z., SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K., ELIZONDO-QUIROGA, A. E., et al. Coevolution of the Ile1,016 and Cys1,534 Mutations in the Voltage Gated Sodium Channel Gene of *A. des Aegypti* in Mexico. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 12, 11 dez. 2015. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004263.

VINHAL, D. C.; SOARES, V. H. C. Intoxicação por organofosforados: uma revisão da literatura organophosphates intoxication: a literature review. **Revista Científica FacMais**, v. 14, p. 61–75, 2018. ISSN 2238-8427.

VONTAS, J. et al. Insecticide resistance in the major dengue vectors *A. des albopictus* and *A. des Aegypti*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 2, p. 126–131, 1 out. 2012. DOI:10.1016/j.pestbp.2012.05.008.

WALKER, T., JOHNSON, P. H., MOREIRA, L. A., et al. The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *A. des Aegypti* populations. **Nature**, v. 476, n. 7361, p. 450–455, 25 ago. 2011. DOI: 10.1038/nature10355.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. An Introduction to Insecticides. In: **The pesticide book**. 6. ed. Willoughby, Ohio: Meister Media Worldwide, 2004. p. 496.

WHO. **Global Strategy for Dengue Prevention and Control, 2012-2020**. [s.l.] World Health Organization, 2012.

WHO. **Q&A on the Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors**. Disponível em: <https://www.who.int/malaria/media/insecticide_resistance_management_qa/en/#>. Acesso em: 24 maio. 2020-a.

WHO. **List of WHO Prequalified Vector Control Products**. Disponível em: <<https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/PrequalifiedProducts27January2020.pdf?ua=1>>. Acesso em: 25 abr. 2020-b.

ZARA, A. L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *A. des Aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde [online]**. v. 25, n.2, pp.391-404.1 abr. 2016. DOI: 10.5123/s1679-49742016000200017.

ZEICHNER, B. C.; PERICH, M. J. Laboratory testing of a lethal ovitrap for *A. des Aegypti*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, n. 3, p. 234–238, 1 set. 1999. DOI: 10.1046/j.1365-2915.1999.00192.x.

ANEXO 1- TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE INSTALAÇÃO DE OVITRAMPAS NOS DOMICÍLIOS



Secretaria de Estado da Saúde – SESA 1ª Regional de Saúde - Divisão de Vigilância em Saúde

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Prezado munícipe, convidamos você para participar do processo de vigilância entomológica. Essa ação é uma parceria entre a Secretária de Estado da Saúde do Paraná (SESA-PR), o município de Paranaguá e a Universidade Federal do Paraná. O principal objetivo desse trabalho é a vigilância da infestação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no litoral do Paraná entre maio de 2017 a abril de 2018 (12 meses). Para isso, solicitamos a sua autorização para a instalação da armadilha para a pesquisa dos mosquitos. A armadilha permanecerá no imóvel pelo período de quatro dias, sendo retirada posteriormente por um agente de saúde. A operação se repetirá mensalmente até abril de 2018. O proprietário do imóvel poderá solicitar a retirada da armadilha ou negar sua reinstalação no mês seguinte a qualquer momento. A armadilha será instalada no peridomicílio sem nenhum custo. Cabe ressaltar que a função dessa armadilha é exclusivamente de vigilância, não eliminando os mosquitos presentes no imóvel. Assim, recomenda-se que o proprietário mantenha o imóvel livre de criadouros, utilize repelentes e demais medidas para proteger-se dos mosquitos.

Atenciosamente.

Chefe da SCVSAT

Diretoria da 1ª Regional de Saúde

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
1ª Regional de Saúde- Litoral
Av. Cel. José Lobo, 574 - Paranaguá/PR - CEP: 83203-340
E-mail: scvsat01rs@sesa.pr.gov.br

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Autorizo a SESA-PR a instalar no meu imóvel a armadilha para pesquisa de mosquitos conforme descrito no texto explicativo.

Nome e assinatura do morador: _____ Data: _____

Nº ARM.		TIPO DE ARM.	
LOGRADOURO		Nº	
BAIRRO		CIDADE	Paranaguá
ESTRATO		TELEFONE	