

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATO  
GROSSO  
CAMPUS CUIABÁ - BELA VISTA DEPARTAMENTO DE ENSINO**

**AMANDA ARAÚJO DA COSTA**

**ANÁLISE SOBRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO MOSQUITO TRANSMISSOR  
DA DENGUE, *Aedes aegypti* L. (DÍPTERA CULICIDAE) EM QUATRO  
MUNICÍPIOS DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL.**

**Cuiabá  
2018**

TECNOLOGIA EM GESTÃO AMBIENTAL

AMANDA ARAÚJO DA COSTA

**ANÁLISE SOBRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO MOSQUITO  
TRANSMISSOR DA DENGUE, *Aedes aegypti* L. (DÍPTERA CULICIDAE) EM  
QUATRO MUNICÍPIOS DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de tecnologia em gestão ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Campus Cuiabá - Bela Vista para obtenção de título de graduado.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Mariotto

**Cuiabá**

**2018**

Costa, Amanda

ANÁLISE SOBRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO  
MOSQUITO TRANSMISSOR DA DENGUE, *Aedes aegypti* L.  
(DÍPTERA CULICIDAE) EM QUATRO MUNICÍPIOS DO ESTADO  
DE MATO GROSSO, BRASIL./ Amanda Araújo da Costa

– 2018.

36 páginas.

Trabalho de Conclusão de Curso  
Tecnologia em Gestão Ambiental – Instituto

AMANDA ARAÚJO DA COSTA

**ANÁLISE SOBRE A VARIABILIDADE GENÉTICA DO MOSQUITO TRANSMISSOR DA  
DENGUE, *Aedes aegypti* L. (DÍPTERA CULICIDAE) EM QUATRO MUNICÍPIOS DO  
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL.**

Trabalho de Conclusão de Curso em TECNOLOGIA EM GESTÃO AMBIENTAL, submetido  
à Banca Examinadora composta pelos Professores do Instituto Federal de Educação,  
Ciência e Tecnologia de Mato Grosso Campus Cuiabá Bela Vista como parte dos requisitos  
necessários à obtenção do título de Graduado.

Aprovado em:

---

Profa. Dra. Sandra Mariotto

---

Profa. Dra. Lenicy de Miranda Cerqueira

---

Prof. Dr. Jorge Luiz da Silva

Cuiabá  
2018

*A Deus, pois sem ele eu nada seria, aos meus pais, que mesmo no silêncio me ensinaram, que tudo eu podia vencer, com coragem e força.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades; ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Mato Grosso – campus Cuiabá Bela Vista e todo o corpo docente, que foi essencial no meu crescimento; a minha orientadora Dr. Sandra Mariotto, que me deu suporte, incentivou e motivou a continuar em todo tempo; aos meus pais, que em amor me ensinaram a encarar a vida, e me educaram e aos meus irmãos.

As minhas maravilhosas parceiras e amigas, que o “Meninas na Ciência” me apresentou, Cristina Soares Fernandes e Fabricia Resende, que estiveram comigo em todo tempo, mesmo longe e se disponibilizaram em me ajudar em qualquer horário do dia. A minha “best” Roberta Damiã, que foi meu porto seguro, minha ouvinte e “psicóloga” em todos os momentos desta jornada.

A Giovana, garota incrível, paciente, bondosa e inteligentíssima, por ter aberto a porta da sua casa e deixado de lado seus afazeres para me dar instruções e colaborar com a construção dos meus resultados, e a Jéssica Hatori por pela disponibilidade e colaboração no abstract.

Ao meu Namorado Renan Augusto Tibaldi, pela paciência e compreensão nos momentos em que precisei abdicar tempo para construção deste trabalho, e claro a minha amiga irmã Amanda Santos Aguiar, por me apoiar e estar o todo tempo comigo e entender todas as vezes que precisei me ausentar. E a todos que indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

*“A dignidade pessoal e a honra não podem ser protegidas por outros. Devem ser zeladas pelo indivíduo em particular”.*

*(Mahatma Gandhi)*

## RESUMO

Viroses como dengue, febre amarela, chikungunya e zika, são transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, que possui como principais características, a adaptação de vivência no ambiente urbano e a capacidade de resistência aos mecanismos de controle. Sob esses pressupostos, o presente estudo analisou a variabilidade genética do *Aedes aegypti* em quatro municípios brasileiros do estado de Mato Grosso: Cuiabá, Várzea grande, Chapada dos Guimarães e Santo Antônio de Leverger. Para este, as coletas foram realizadas por meio de armadilhas do tipo “ovitrampas”, com um total de 12 pontos amostrais (três por município), em dezembro/2015 (enchente), fevereiro/2016 (cheia), junho/2016 (estiagem) e novembro/2016 (enchente), totalizando 48 amostragens com 1.121 ovos. Estes eclodiram e formaram adultos de *Aedes aegypti*, os quais foram identificados e fixados. Para a extração do DNA utilizou-se cerca de 400 indivíduos, na qual 120 amostras apresentaram bandas fluorescentes no eletroferese, e dentre elas 40 foram purificados e sequenciados com as bandas positivas para separação dos fragmentos de DNA entre suas centenas de pares de bases. Utilizou-se ainda, programas de bioinformáticas como Genious e Mega, por meio dos quais foi possível a identificação significativa de variabilidade genética nos locais de amostragens. A utilização de diferentes métodos de controle utilizados nos dias atuais não tem gerado resultados satisfatórios, uma vez que as adaptações desta espécie aos habitats são acompanhadas por alterações genotípicas e fenotípicas, gerando maior resistência.

**Palavras-chaves:** Controle, Resistência, Arboviroses, antropização, vetores

## ABSTRACT

Viruses such as dengue fever, yellow fever, chikungunya and zika are transmitted by the mosquito *Aedes aegypti*, which has as main characteristics, the adaptation of living in the urban environment and the capacity of resistance to the control mechanisms. Under these assumptions, the present study analyzed the genetic variability of *Aedes aegypti* in four Brazilian cities from the state of Mato Grosso: Cuiabá, Várzea grande, Chapada dos Guimarães and Santo Antônio de Leverger. For this, the samples were collected using "ovitampas" traps, with a total of 12 sampling points (three per city), in December / 2015 (flood), February / 2016 (flood), June / 2016) and November / 2016 (flood), totaling 48 samplings with 1,121 eggs. They hatched and formed adults of *Aedes aegypti*, which were identified and fixed. About 400 individuals were used in the extraction of DNA, in which 120 samples showed fluorescent bands in the electrophoresis, and 40 of them were purified and sequenced with the positive bands to separate the DNA fragments from their hundreds of base pairs. Bioinformatic programs such as Genious and Mega were also used, through which it was possible to identify the genetic variability at the sampling sites. However, the use of different control methods used today has not generated satisfactory results, since the adaptations of this species to the habitats are accompanied by genotypic and phenotypic alterations, generating greater resistance.

**Key-words:** Control, Resistance, Arboviroses, anthropization, vectors

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Mapa dos quatro municípios e locais de coletas. ....	21
<b>Figura 2:</b> Dendograma das sequências do gene COI, dos indivíduos de Cuiabá-MT .....	24
<b>Figura 3:</b> Dendograma das sequências do gene COI, dos indivíduos de Chapada dos Guimarães-MT.....	25
<b>Figura 4:</b> Dendograma das sequências do gene COI, dos indivíduos de Santo Antônio do Leverger .....	25
<b>Figura 5:</b> Dendograma das sequências do gene COI, dos indivíduos de Varzea Grande ...	25
<b>Figura 6:</b> Quadro da distancia genética das populações. ....	27
<b>Figura 7:</b> Dendograma geral das sequências do gene COI, dos quatro municípios: Cuiabá, Chapada dos Guimarães, Santo Antonio do Leverger, Varzea Grande. ....	28

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	15
3. METODOLOGIA .....	21
3.1. Área de estudo .....	21
3.2. Procedimento Experimental.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	23
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	29
REFERÊNCIAS .....	31

## 1. INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* foi primeiramente descrito no Egito por Linnaeus, em 1762, (CHRISTOPHERS,1960). Admite-se que a introdução dessa espécie no Brasil tenha ocorrido no período colonial, entre os séculos XVI e XIX, durante o comércio de escravos (CONSOLI, 1994). Com a destruição dos habitat naturais, devido às pressões antrópicas, uma parte da população silvestre sofreu um processo seletivo que favoreceu a disseminação e sobrevivência da espécie em ambientes urbanizados (CHRISTOPHERS,1960; CROVELLO, 1972). A espécie encontra junto aos domicílios humanos as condições necessárias para o seu desenvolvimento, que ocorre em águas acumuladas em recipientes, que na maioria, são usados pelo homem (COSTA, 2001).

Na segunda metade do século XX, a partir de 1986, a dengue adquiriu importância epidemiológica, quando irrompeu a epidemia no Estado do Rio de Janeiro e a circulação do sorotipo 1, que logo alcançou a Região Nordeste (SCHATZMAYR, 2000). E no Brasil, a dengue apresenta um padrão sazonal, com maior incidência de casos nos primeiros cinco meses do ano, período mais quente e úmido, típico dos climas tropicais (COSTA et al,2016).

A dengue tem se destacado entre as enfermidades reemergentes e é considerada a mais importante das doenças virais transmitidas por artrópodes de acordo com a organização mundial da saúde (2005). É uma doença disseminada em lugares urbanos, principalmente quando a migração da sociedade não possui planejamento, assim, facilitando a propagação do principal vetor e a consequente contaminação pelo vírus (HOMBACH, 2007).

A partir de 1996, o Ministério da Saúde colocou em prática o Plano de Erradicação do *Ae. Aegypti* (PEAa), que preconizava a atuação multissetorial e previa um modelo descentralizado, com a participação das três esferas de governo, cujo principal objetivo se concentrava na redução dos casos de dengue hemorrágica. Mesmo com esforços para a estruturação do combate ao vetor nos 4 municípios, o PEAa não conseguiu a necessária atuação multissetorial, o que pode ser apontado como um dos fatores responsáveis pelo insucesso na contenção do aumento do número de casos de dengue e pelo avanço da infestação do *Ae. Aegypti* (BRAGA,2007; MINISTERIO DA SAUDE, 2009).

No ano de 2003, foram notificados cerca de 483 mil casos de dengue nas Américas, dos quais, aproximadamente, dez mil eram de dengue hemorrágica. Mais de 250 mil casos foram provenientes do continente Sul americano, onde, apesar de a Região Andina notificar um número em torno de 50 mil casos, nela se concentram 80% dos casos de dengue hemorrágica (OPS, 2004).

Deste modo, visando o atual cenário do Brasil, com surtos e epidemias de viroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*, este estudo visando analisar a variabilidade genética do mosquito transmissor da dengue apresenta alta relevância, pois possibilitara sugerir criações de novas estratégias no controle do *Ae. aegypti*, com foco em tecnologias futuras e eficientes no controle desse vetor, no território nacional.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O mosquito *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762), é originário do Velho Mundo, provavelmente da região etiópica, tendo sido originalmente descrito no Egito, tem acompanhado o homem em sua migração pelo mundo e permaneceu onde as alterações antrópicas propiciaram sua proliferação. É considerado uma espécie presente em diversas regiões do mundo, principalmente de ocorrência nas regiões tropicais e sub-tropicais (CONSOLI et al, 1994).

No Brasil, há referências de epidemias de dengue desde 1916, em São Paulo, e em 1923, em Niterói, no Rio de Janeiro, sem comprovação laboratorial. No começo do século XX, o Rio de Janeiro vivia uma crise de febre amarela, doença também transmitida pelo *Ae. Aegypti* (OPS,2004). O combate ao *Ae. aegypti* foi institucionalizado no Brasil, de forma sistematizada, pois havia diversas epidemias de febre amarela urbana no País, levando à morte milhares de pessoas (FRANCO, 1976).

Nesse sentido, afirma-se que a transmissão da dengue na primeira metade do século XX, foi consequência do combate à febre amarela, visto que a dengue não existia no Brasil como problema relevante de Saúde Pública, como acontecia no Caribe, América Central e do Norte. (DONALÍSIO e GLASSER, 2002).

Assim sendo, Vasconcelos (2015) afirma que a febre amarela foi uma das doenças trazidas com a escravidão e com ela, veio o *Ae. aegypti*, principal transmissor do vírus da febre amarela. A espécie é também responsável pela transmissão do vírus Zika, que é um flavivírus (família Flaviviridae), originalmente isolado de uma fêmea de macaco "*Rhesus febril*" na Floresta Zika (mal de simioto), localizada próximo de Entebbe na Uganda, em 20 de abril de 1947( DICK, 1952; KARABATSOS,1985).

O vírus Zika é relacionado ao vírus da febre amarela e dengue, também transmitidos por *Ae. aegypti* que causam febre hemorrágica, podendo ser registrado ainda, casos de doença febril, acompanhada por discreta ocorrência de outros sintomas gerais, tais como cefaleia, exantema, mal estar, edema e dores articulares, por vezes intensas. Entretanto, apesar da aparente benignidade da doença, mais recentemente na Polinésia Francesa e no Brasil, foram registrados quadros mais severos, que caracterizavam-se entre outros, pelo comprometimento do sistema nervoso central (síndrome de Guillain-Barré, mielite transversa e meningite),

associados ao Zika, o que mostra quão pouco conhecida ainda é essa doença. (ZANLUCA,2015).

Atualmente, a dengue tem tido ênfase entre enfermidades reemergentes, e a doença é vista de forma viral transmitida por artrópodes, estando também, entre mais corriqueiras arboviroses (BRAGA, 2007). A sua ampla importância, tem ganho visibilidade pois vem sendo responsável por problemas sérios na saúde pública do mundo, porque afeta o homem. É uma doença que se alastra principalmente nos países tropicais, pois o clima destes colabora na proliferação do principal vetor, o *Ae. aegypti* (TEIXEIRA,2005).

Parte destas doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti* tem afetado principalmente todos aqueles que vivem em situação econômica baixa, e habitam em bairros periféricos (GOLDING et al., 2015), nos quais os recursos investidos em saneamento básico é deficiente, o que contribui com o aumento de criadouros do transmissor da dengue (TAUIL, 2001). Cerca de 80% da população global reside em áreas com um grande número de risco de doenças transmissíveis por vetores, e mais da metade da população mundial se encontra em áreas nas quais estão suscetíveis ao menos a duas das doenças que apresentam uma ameaça à saúde (GOLDING et al, 2015).

A proliferação desta espécie se dá em locais próximos às habitações humanas, onde existem alterações antrópicas no meio ambiente que facilitam seu desenvolvimento em diversos recipientes tais como pneus, garrafas, latas, caixas d'água e cisternas mal vedadas, vasos de plantas e outros (MARCONDES, 2001). O inseto adulto sobrevive no ambiente geralmente de 30 a 35 dias e é classificado como o principal vetor da Dengue (FUNASA, 2001).

O tempo de crescimento larval de *Ae. aegypti* e as sucessivas ecdises (mudas) dependem diretamente das condições ambientais como, alimento, ausência de predadores, temperaturas elevadas e precipitações pluviométricas. A temperatura baixa atrasa o crescimento das larvas. O dessecamento dos criadouros desfavorece o suprimento alimentar ocasionando a mortalidade das larvas (MARCONDES, 2001).

De mesmo modo, segundo a Funasa (2001), quando na fase de pupa do *Ae. aegypti*, não há nutrição, um vez que ocorre a metamorfose do estágio larval para o estágio adulto, e quando as pupas se encontram inativas e flutuando sobre a superfície da água, a transformação para o estágio de inseto adulto é facilitado. Seguinte a fase pupal, o inseto adulto ao pousar durante muitas horas sobre as

paredes de um recipiente tem favorecido o endurecimento de suas asas e do exoesqueleto, tornando os machos aptos para a cópula. Entretanto, para que haja a postura dos ovos as fêmeas necessitam porém, de sangue para a maturação dos ovos. Fenômeno cuja denominação é repasto sanguíneo, mais ocorrente nos períodos matutinos e noturnos, e em locais onde há água limpa. Há casos ainda, em que pode ocorrer a infecção dos ovariolos, ou seja, uma transmissão transovariana, por meio das quais as fêmeas já nascem infectadas.

A estratégia mais antiga para o controle de populações de insetos, e ainda a mais utilizada, é baseada no uso de inseticidas, substâncias de origem natural ou sintética utilizadas para eliminar insetos em diferentes fases do seu ciclo de vida. Inseticidas, pesticidas ou praguicidas são quaisquer agentes químicos ou biológicos utilizados para impedir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga (RITTER, 1997). O uso de enxofre, composto inorgânico para o combate a insetos, data de aproximadamente um milênio a.C. Posteriormente, outros compostos químicos como o arsênio, arsenato, o ácido bórico, antimônio, bário, chumbo, cádmio, mercúrio e tálio também foram utilizados (CASIDA E QUISTAD, 1998). Esses inseticidas agem causando perturbações digestivas e/ou ação tóxica sobre diversos órgãos, principalmente sobre o sistema nervoso dos insetos. Estes compostos também são tóxicos para maioria dos animais, inclusive o homem. Posteriormente, foi observado que compostos de origem botânica, como o sulfato de nicotina, alcalóides da sabadilha, rotenona e piretrina, eram capazes de repelir ou matar insetos (CASIDA e QUISTAD, 1998), tornando muito comum o uso destas substâncias, principalmente nos países tropicais (LAGUNES e RODRIGUES, 1989).

A vantagem do uso de compostos extraídos de plantas como inseticidas é que estes apresentam complexidade estrutural, potência e seletividade no controle. Por outro lado, o uso destes compostos é limitado em função de sua disponibilidade e seu alto custo de obtenção (CASIDA e QUISTAD, 1998).

A Organização Mundial da Saúde define a resistência do inseto como a capacidade que o mesmo possui a uma determinada quantidade da dose de inseticida, que normalmente levaria a morte, pois, fisiologicamente a resistência é uma característica genética que o vetor possui (BRAGA, 2007). A capacidade de resistência é evidente a quase todos os inseticidas usados para o controle, e para que se alcance resultados coerentes são necessários estudos dos mecanismos envolvidos tais como: genéticos, fisiológicos e bioquímicos (FLORES et al. 2013). Os

inseticidas podem contribuir para acelerar o processo de seleção de uma determinada população. Mesmo com a intensa pressão, o vetor possui alelos que corresponde à resistência, assim resultando em uma forte capacidade de sobrevivência aos inseticidas letais (BRAGA, 2007).

A habilidade de adaptação de um organismo depende da sua variabilidade genética. A informação da variação genética dentro e entre as populações é importante para compreender a história evolutiva de populações de mosquitos e da epidemiologia da doença (YAN et al., 1998).

Nos últimos 60 anos, com descobertas de novos inseticidas, e sendo usados de forma intensiva, vetores de diversas espécies adquiriram resistência, de acordo com a sua população e localização geográfica (VARGAS et al., 2006). Como consequência da grande pressão de seleção, o primeiro caso de populações de mosquitos resistentes a inseticidas químicos no país foi registrado em 1995 em amostras do mosquito procedentes de Goiás (MACORIS et al., 1995). Desde então, estudos posteriores conduzidos pelo Ministério da Saúde (1999, 2000 e 2002) confirmaram que as populações de *Ae. aegypti*, em praticamente todo o território brasileiro, apresentavam resistência ao temephos (BRAGA et al., 2004; BRASIL, 2005; 2009;).

Além disso, estudos realizados pelo Grupo Técnico Assessor para o Programa de Monitoramento da Resistência de *Ae. aegypti* aos Inseticidas (MoReNAa) demonstraram que populações brasileiras de *Ae. aegypti* encontravam-se resistentes a todas as classes de inseticidas químicos testadas. Desta maneira, alguns critérios foram estabelecidos visando o manejo da resistência na população de *Ae. aegypti*, como a substituição do larvicida químico pelo biolarvicida *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti); e o monitoramento de resistência através de bioensaios e testes bioquímicos de uma forma sistemática (BRASIL, 2009).

Apesar desses critérios definidos pelo MoReNAa terem sido postos em prática, estes não foram empregados a tempo para resultar na reversão da resistência nas populações de *Ae. aegypti* (BRASIL, 2005). Diante desta situação, fica evidente a necessidade de uma avaliação do status de susceptibilidade do vetor no momento pré-aplicação do inseticida, visto que, naturalmente, alelos de resistência podem ocorrer em baixa frequência nas populações-alvo. A maioria dos casos em que o desenvolvimento da resistência ocorre em campo, está atribuída a poucos genes de maior efeito. Inicialmente, esses genes são encontrados em baixas

frequências nas populações-alvo e, com a contínua pressão de exposição, estes são selecionados e aumentam progressivamente suas frequências podendo chegar até a fixação do alelo de resistência na população (OVERGAARD, 2006).

A insensibilidade do *Ae. aegypti*, é conferida por uma mutação pontual na região estrutural de seu gene, a qual altera o aminoácido alanina por uma serina, na posição 296 da proteína. Esta é uma mutação comum e estável, que persiste em frequência elevada em indivíduos resistentes de várias populações de insetos, mesmo após a interrupção do uso dos ciclodienos (ASIH et al., 2012; FFRENCHCONSTANT et al., 2000). Moléculas do canal de sódio dependentes de voltagem (Nav), alvo de inseticidas organoclorados e piretróides, funcionam regulando a entrada de íons de sódio na membrana de células do sistema nervoso. Sob essa ática, várias mutações pontuais no gene de cópia única do canal Nav já foram identificadas em diversas espécies de mosquitos resistentes, dentre eles *Anopheles gambiae*, *An. arabiensis*, *Culex pipiens*, *Cx. quinquefasciatus*, *Aedes albopictus* e *Ae. aegypti*(BAHNCK & FONSECA, 2006; BRENGUES et al., 2003; CHANG et al., 2009). As mutações mais frequentes estão situadas no gene que codifica o sexto segmento (S6) do domínio II da proteína e envolve uma série de mutações de sentido-trocado (LOURENCO 2007; MARTINEZ et al., 1999). Essas mutações levam a uma resistência conhecida como knockdown (kdr) e super knockdown (super-kdr) (WILLIAMSON et al., 1993).

Nesse sentido, para o controle do *Ae. aegypti* na capital do Mato Grosso, utiliza-se diretrizes recomendadas pelo PNCD, com especial atenção aos SPs, como cemitérios, lojas de pneus, ferros-velhos, sucata ou locais com circulação intensa de pessoas, como escolas, estação de ônibus e aeroportos (CARVALHO et al., 2015). A cidade de Cuiabá, devido sua localização geográfica (150 35'56"Latitude Sul e 560 06'01" Longitude Oeste, altitude 177m) e condições climáticas, com estações bem definidas, e ainda com a alta densidade populacional humana e suas conseqüências, aliada às elevadas temperaturas e precipitações, tem registrado e facilitado a introdução e dispersão dos vetores da dengue e a ocorrência da doença desde o ano de 1991, com a circulação do sorotipo 1. A introdução do sorotipo 2 teve registros a partir do ano de 1995, havendo notificação de 11.628 casos e a ocorrência de 3 casos de dengue hemorrágica.

No período de 1995 a 2000, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), houve uma média de 5.000 casos notificados por ano

(IBGE, 2003). Do ano 2001 a 2006, segundo o SES/MT( 2005), foram notificados 4.531; 14.988; 13.709; 4.2544; 10.906; 16123 casos respectivamente, com a circulação dos três sorotipos 1, 2 e 3, sendo registrados 148, 2380, 3313, 112, 131, 698 casos de dengue no município de Cuiabá, respectivamente notificados no período (MIYAZAKI et al,2009).

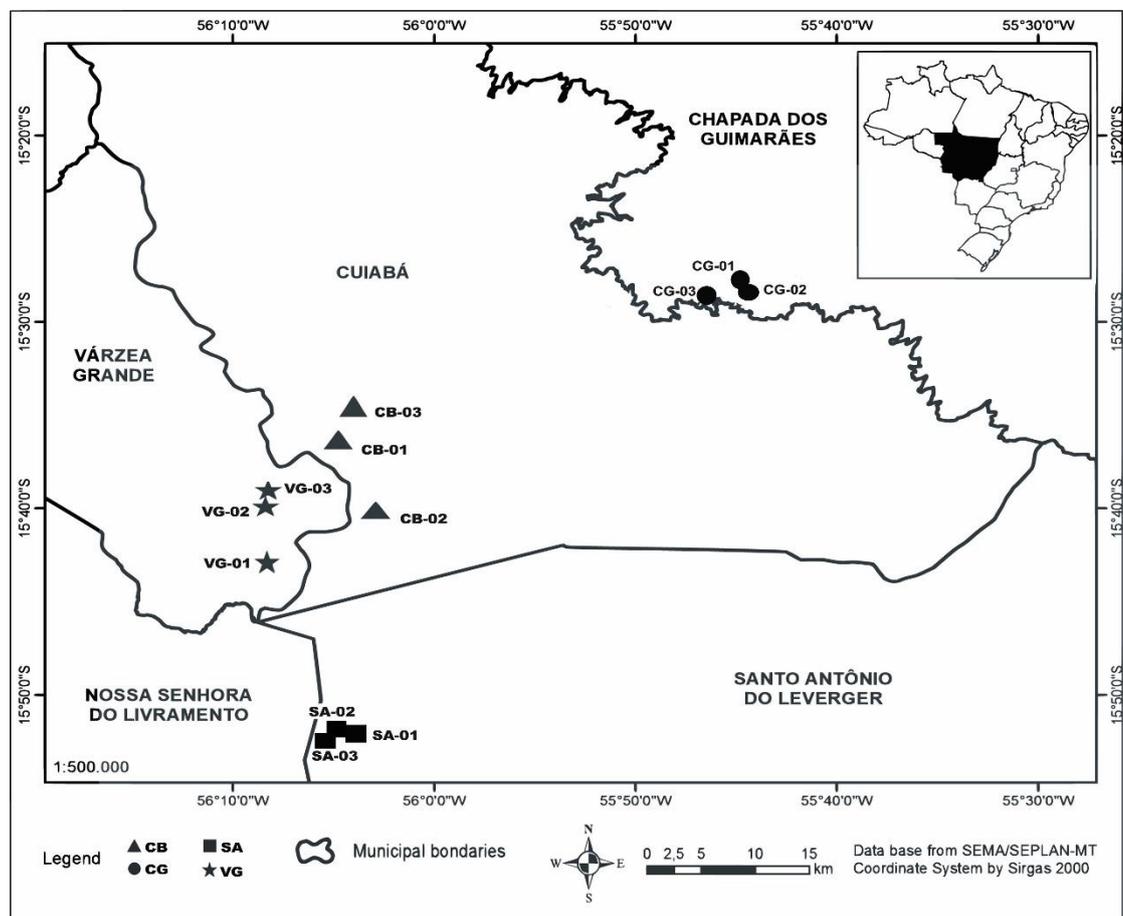
Desse modo, o estudo da estrutura genética da população é essencial para o entendimento da dinâmica das populações do *Ae. aegypti*, para a análise de fatores responsáveis pela resistência e adaptação ecológica (HIRAGI, 2009); e, está sendo realizado pela primeira vez no estado de Mato Grosso.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Área de estudo

As coletas foram realizadas em 04 municípios: Cuiabá (CB), Várzea Grande (VG), Santo Antônio do Leverger (SA) e Chapada dos Guimarães (CP), no período de nov.2015 a dez. 2016, com uma coleta de três pontos por município, repetidas a cada trimestre, em cada município (Figura 1).

**Figura 1:** Mapa dos quatro municípios e locais de coletas.



Fonte: SEMA/SEPLAN-MT(2005)

#### 3.2. Procedimento Experimental

Os materiais de coleta utilizados foram armadilhas tipo ovitrampa, de acordo com (FAY,1966), para coletar ovos de *Aedes Aegypti*; com um recipiente de plástico

de cor preta com 9x12 cm, de 580 ml, palheta de Eucatex com 13,5x2, 5 cm, acrescida de 270ml de solução de água e 30ml de infusão de feno e para cada palheta identificação por código registrado em um formulário. Os ovos foram colocados para eclodir e após se tornarem adultos identificados e fixados em álcool 100%.

A extração de DNA foi realizada com kits específicos para insetos, seguindo o protocolo do fabricante, e também com solução salina, de acordo com Aljanabi & Martinez (1997), conforme segue:

- a) Inicialmente o material biológico é transferido para um microtubo individual 1,5ml, completamente seco, retirando todo o álcool, posteriormente com uma tesoura esterilizada cortar/macerar o material em pedaços, o máximo possível;
- b) Adicionar 440  $\mu$ l de tampão salino (NaCl (5M, 8 mL; Tris – HCl (1M) pH 8, 1 mL; EDTA (0,5M) pH 8, 400  $\mu$ l; SDS 10%, 20 mL; H<sub>2</sub>O mili-Q Autoclavada, 70,6 mL para 100mL de solução) e 16  $\mu$ l de proteinase K (10ng/ $\mu$ l) e misturar no vortex;
- c) Incubar as amostras no banho-maria a 55 – 65 °C de 1 a 2 horas, para completa digestão. Durante a digestão é aconselhável homogeneizar cada 15 minutos, no vortex, para garantir-se a ação enzimática em todo material;
- d) Adicionar 300 $\mu$ l de NaCl 6M, após a total digestão da amostra, misturar bem no vortex e centrifugar em seguida por 5 minutos a 12.000 rpm em micro centrifuga;
- e) Após a centrifugação coletar cerca de 550  $\mu$ l do sobrenadante e transferir para um novo micro tubo 1,5 ml;
- f) adicionar igual volume de isopropanol ou álcool PA (gelado) e mover levemente os tubos para precipitação do DNA (geralmente forma uma nuvem);
- g) Centrifugar por 5 minutos a 12.000 rpm e descartar o sobrenadante por inversão total dos tubos, mantendo o pellet do tubo cônico;
- h) Adicionar cerca de 500 $\mu$ l de etanol 70% para lavar o pellet e repetir a centrifugação;
- i) Descartar o sobrenadante por inversão do tubo e levar a amostra para secar em estufa entre 37°C à 40°C por aproximadamente 1 a 2 horas (o micro tubo deve estar deitado e aberto sob um papel toalha), ou deixar os tubos abertos coberto com um papel toalha em cima de uma bancada de um dia para o outro;
- j) Após a secagem, o pellet deve ser ressuscitado/hidratado com 30  $\mu$ l

de TE ou com água mili-Q autoclavada;

k) Adicionar de 3  $\mu$ l de Rnase (20 mg/mL) deixando por 10 minutos o material sobre a bancada em temperatura ambiente. Em seguida, correr um gel de eletroforese a 1% de agarose, submerso em tampão TBE, para ver a integridade do DNA. Após armazenar as amostras em freezer -20°C para a amplificação via PCR.

A amplificação do DNA via PCR (Saavedra Rodriguez et al, 2007), foi realizada utilizando um par de *primers* mitocondriais. Foi utilizado o iniciador, *primer*, *Citocromo Oxidase I* (COI), específico para insetos, de acordo com PADUAN et al (2008).

Para o teste de eficiência da amplificação, os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose a 1% e as bandas comparadas aos marcadores de peso molecular (*ladder*) já conhecidos. Também se fez a quantificação do DNA amplificado via nanoespectrofotômetro da marca Denovix (LabGen-UFMT).

Para a purificação das amostras amplificadas foi utilizado 0,13 da enzima ExoSap-IT® USB (Affymetrix) em 1,87  $\mu$ l de água mili-Q e aquecidas a 37°C por 60 minutos. A enzima foi inativada a 80°C por 15 minutos.

Após a purificação, as amostras que mantiveram padrões adequados de DNA no gel de eletroforese, foram enviadas para sequenciamento na empresa ACTGene (<https://ludwigbiotec.com.br>). As sequências lidas dos genes amplificados analisadas em programas de bioinformática, o software BioEdit v.7.0.9. (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEd>).

Foi utilizados os programas Geneious e Mega para desenvolver os dendogramas e saber qual a distancia genética das especies. (<https://www.megasoftware.net/>) (<https://www.geneious.com/>) .

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A habilidade de adaptação de um organismo depende da sua variabilidade genética. Por conseguinte, a informação da variação gênica entre as populações tornam-se estritamente fundamental para compreensão da história evolutiva das amostras de mosquitos e da epidemiologia da doença (YAN et al, 1998). O estudo da estrutura genética das populações do *Aedes aegypti* é essencial, tanto para o entendimento da dinâmica das populações quanto para a análise de fatores responsáveis pela resistência e adaptação ecológica.

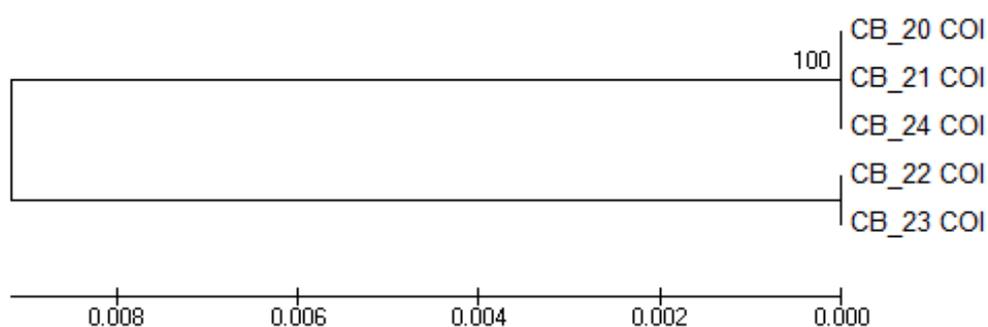
De acordo com a análise feita do gene mitocondrial COI, de 120 indivíduos, observou-se que, após as amplificações, somente 40 amostras apresentaram bandas positivas (fluorescentes) no gel de agarose. Estas, foram submetidas a purificação enzimática e, após purificação, restou apenas cerca de 50%. As sequências lidas e que puderam ser consideradas, finalmente, foram somente quatro de cada local.

Conforme os dendogramas (figuras 2, 3, 4, 5 e 6), observou-se que há uma variação nos pares de bases que formam a sequência amplificada do gene mitocondrial COI, alterando significativamente a estrutura genética dos indivíduos, formando dois grupos geneticamente distintos dentro de um mesmo município, o que confere uma variação intrapopulacional.

Estudos baseados em genética populacional do *Ae. aegypti* tem fornecido informações sobre estrutura populacional e dispersão em níveis micro e macro geográficos – mostrando que a dimensão ambiental, fatores sociais e intervenções humanas, afetam a estrutura populacional deste vetor (SCARPASSA et al., 2008).

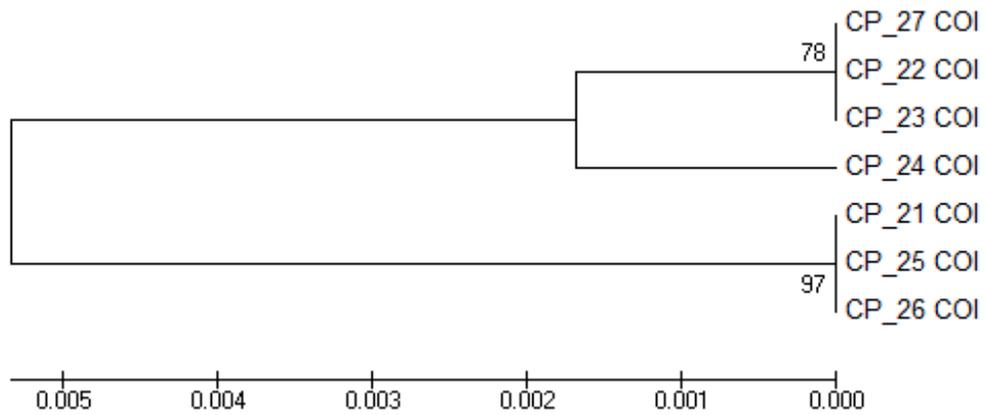
Neste contexto pode se afirmar que a causa da divisões dos grupos estejam ligados as intervenções humanas, fazendo com que haja o cruzamento e surgimento de uma nova estrutura genética do indivíduo, com isto o grau de variação aumenta entre eles.

**Figura 2:** Dendograma das sequências do gene COI, dos indivíduos de Cuiabá-MT



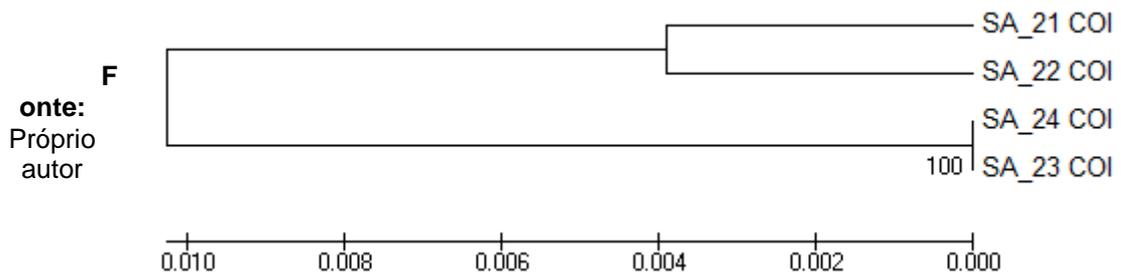
**Fonte:** Próprio autor.

**Figura 3:** Dendograma das seqüências do gene COI, dos indivíduos de Chapada dos Guimarães-MT.



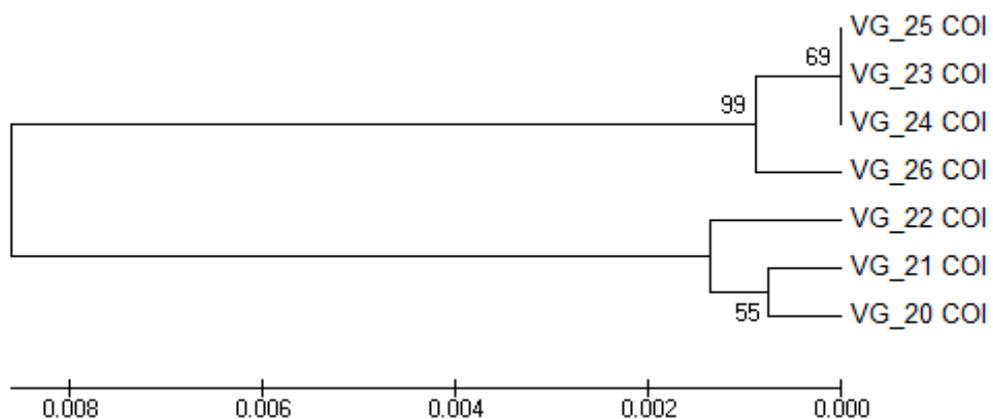
**Fonte:** Próprio autor

**Figura 4:** Dendrograma das seqüências do gene COI, dos indivíduos de Santo Antônio do Leverger



**Fonte:**  
Próprio autor

**Figura 5:** Dendrograma das seqüências do gene COI, dos indivíduos de Varzea Grande



**Fonte:** Próprio autor

A detecção da variabilidade genética dentro das populações, mediante a gradientes geográficos e/ou temporais podem fornecer dados que estimem se a população esta em equilíbrio, extinção ou expansão. Diante disso, as diferenças

genéticas entre a população do mosquito vetor, podem auxiliar na compreensão de sua história evolutiva e na epidemiologia das doenças.(YAN et al,1998).

No município de Cuiabá, os resultados das análises do gene mtDNA COI de *A. aegypti*, evidenciaram indivíduos em um único grupo (Figura 2), distintos dos demais (incorporados em um segundo grupo), no qual encontram-se com alta divergência na sequência gênica. Constatou-se que há 100% de confiabilidade nos testes, onde o primeiro grupo demonstrou alta semelhança entre os indivíduos e o segundo grupo diferenciou-se largamente do primeiro.

No município de Chapada dos Guimarães (Figura 3), os resultados também mostram que houve uma separação de dois grupos de *A. aegypti*, no qual aponta similaridade de 78% com o mesmo grau de parentesco, e se diferenciam em 97% do segundo grupo. Neste sentido, observa-se que um único indivíduo aparece, se destacando do primeiro grupo, porém geneticamente mais próximo, se comparado ao segundo grupo.

Os indivíduos de *A. aegypti*, do município de Santo Antônio do Leverger também se dividiram em dois grupos amostrais (Figura 4), sendo um deles com 100% de confiabilidade na similaridade genética, para o gene amplificado. As amostras desse município tiveram baixa eficiência nas amplificações. Isto talvez se deva a variação ainda maior na região de anelamento do *primer*, quando comparado aos demais locais.

Já no município de Várzea Grande (Figura 5) foi possível visualizar pela variabilidade genética nos *A. aegypti*, quatro subgrupos de indivíduos, indicando uma maior variação intrapopulacional.

Embora a maioria dos acasalamentos possam ocorrer dentro de uma população local, em várias espécies há pelo menos algum cruzamento entre indivíduos nascidos de populações distintas (TEMPLETON, 2011).

Após os testes desenvolvidos com as populações de mosquitos, o par de *primer* sugerido pela literatura (SEIXA GONÇALO et al., 2003) não mostrou-se muito eficaz. Destarte, identificou-se pouca aderência, baixos índices de amplificações e baixa qualidade depois da purificação para sequenciamento. Isto pode acontecer, devido a variação gênica local, visto que outros dois pares de primers, ND4 e ND5,

foram utilizados concomitantemente (nas mesmas amostras de DNA) e apresentaram alta afinidade, com padrões de amplificação e sequências de boa qualidade em 90% das amostras.

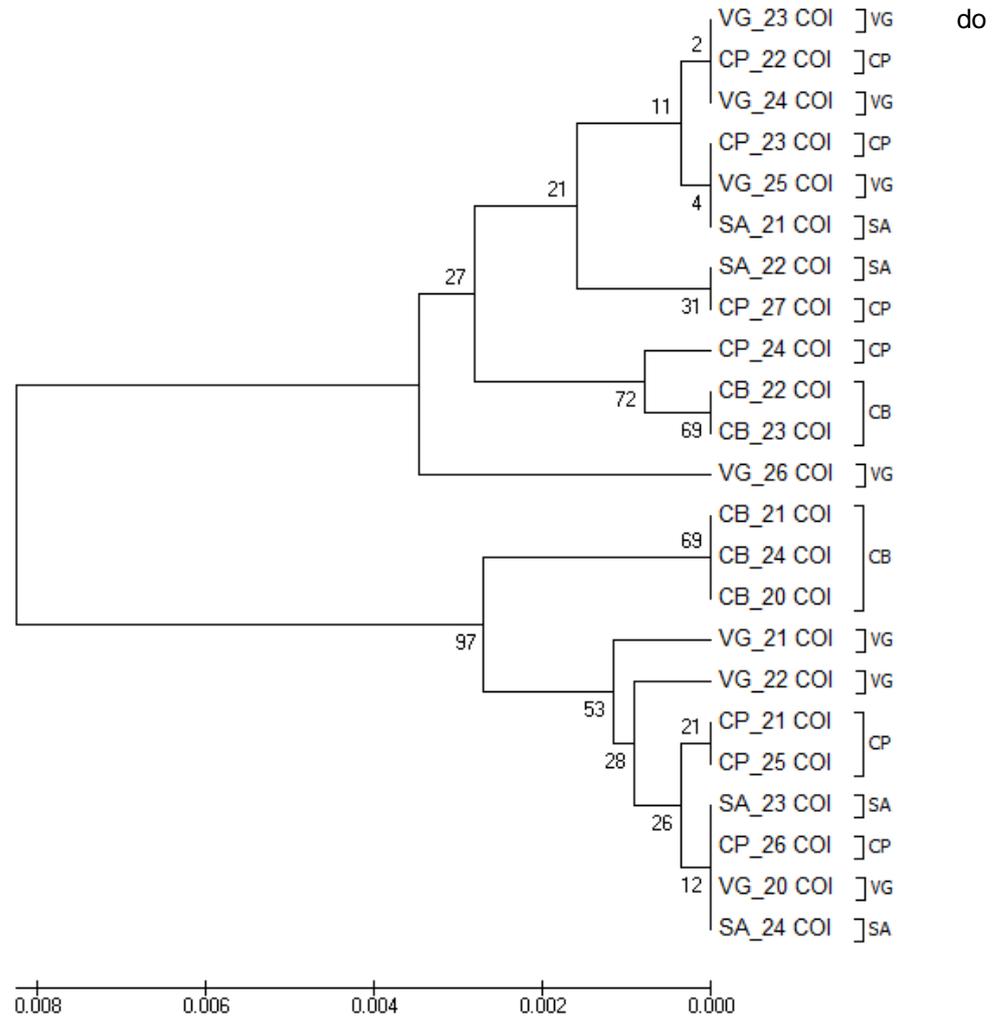
**Figura 6:**Quadro da distancia genética das populações.

	V.G	C.B	S.A	C.P
V.G	-	0,0032	0,0023	0,0018
C.B	0,0133	-	0,0035	0,0024
S.A	0,0104	0,0144	-	0,0021
C.P	0,0085	0,0096	0,0086	-

**Fonte:** Próprio autor.

De acordo com o quadro acima, é notório que a maior distância genética se encontra entre os municípios de Santo Antonio do Leverger e Cuiaba em um grau de 14,4%; E o menor grau de distância genética esta entre os municípios de Várzea Grande e Chapada dos Guimarães com 1,8%. Na figura abaixo é possível visualizar o dendograma geral e o grau de distância de todos os individuos analisados na pesquisa:

**Figura 7:** Dendograma geral das sequências do gene COI, dos quatro municípios: Cuiabá, Chapada dos Guimarães, Santo Antonio Leverger, Varzea Grande.



Fonte: Próprio autor

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, existem vários estudos voltados para a epidemiologia causada pelo mosquito *Aedes aegypti* (L.), que por sua vez é considerado a fonte de transmissão de diversas doenças como a dengue, chikungunha, zika e febre amarela, existente em regiões tropicais e subtropicais. Para que haja sucesso no seu controle biológico, é de fundamental importância entender toda sua estrutura genética e os mecanismos que resultaram na diversidade das populações.

A principal dificuldade encontrada no desenvolvimento dos testes referentes a essa pesquisa, foi a escassez de materiais bibliográficos, uma vez que o trabalho é pioneiro nesses municípios, especificamente voltado para o estudo da variabilidade genética do vetor, visto que há uma grande necessidade em compreender sua fase evolutiva e assim desenvolver métodos que sejam mais eficazes. O fato de existir uma resistência a variáveis e métodos de controle existente, não significa que essa persistência seja causada apenas pelo uso intensivo dos inseticidas, as influências antrópicas, como os meios de locomoção utilizado para passeios e o mal cuidado com a limpeza nas residências, também influenciam substancialmente.

De acordo com as análises, é possível verificar que o município de Várzea Grande tem o maior variabilidade genética, isso tanto comparado aos demais municípios quanto averiguado na própria cidade. Isso pode ser resultado de problemas relacionados aos meios de transporte utilizado pelo homem (avião, carro, ônibus). Dentre os quatro municípios analisados, Santo Antônio do Leverger apresentou menor aderência do *primer* nas amostras de DNA, com baixos índices de ampliações.

Os principais motivos de existir variabilidade genética do *Aedes aegypti* são os mecanismos de mudança no DNA e/ou apartir de tal, pequenas mudanças a níveis de comportamentos, o que poderia provocar isolamentos entre sub grupos dentro de uma mesma população.

Apesar do número baixo de amostras analisadas para o *primer* COI em indivíduos de *Aedes aegypti*, o número amostral geral (1.416 ovos e 1278 indivíduos) foi significativo, e as amostras para extração de DNA e amplificação aleatórias, evidenciando assim, representatividade das populações dos quatro municípios.

Assim sendo, é relevante afirmar que o estudo poderá servir de base para possíveis posteriores aprofundamentos do tema, auxiliando na busca pela

sensibilização dos próximos pesquisadores, para que se aprofundem em qualquer uma das problemáticas levantadas nesse estudo, dando um suporte no controle de doenças transmitidas por vetores antrópicos, minimizando impactos que vem causando na saúde pública, e como consequência a preservação ambiental pelo uso mínimo de inseticidas e pesticidas, o que contribuirá significativamente com a saúde do solo, da água e do ar, uma vez que muitos dos inseticidas hoje utilizados tem um grande potencial de dispersão. Entretanto, as análises moleculares com suas especificidades e confiabilidade ,possibilitam ganho de tempo e otimização de recursos.

## REFERÊNCIAS

- ASIH, P. B.; Lepa Syahrani .; Nandha R Pratama,; Sylvia S Marantina, et al. **Existence of the rdl mutant alleles among the Anopheles malaria vector in Indonesia**. Malaria Journal, London, v. 11, p. 57, 2012. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3311089/>> Acesso em: 10dez.2018.
- BAHNCK, C. M.; FONSECA, D. M. **Rapid assay to identify the two genetic forms of Culex (Culex) pipiens L. (Diptera: Culicidae) and hybrid populations**. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, v. 75, n. 2, p. 251-255, 2006. Disponível em <<https://pdfs.semanticscholar.org/62f9/810cd5b8a1d393958240cb9e732a3f0daf97.pdf>> Acesso em: 15dez.2018.
- BARATA, E. AM. F.; COSTA, A. I. P.; NETO, F. C.; GLASSER, C. M. BARATA, J. M. S. NATAL, D. **População de Aedes aegypti(l.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil**. São Paulo. Rev Saúde Pública, n.35(3), 2001. Disponível em: <<https://www.scielosp.org/article/rsp/2001.v35n3/237-242/>> Acesso em: 10 ago. 2017.
- BLACK, W. C.; DUTEAU, N. M.; **RAPD-PCR and SSCP analysis for insect population genetic studies**. In: CRAMPTON, J.M.; BEARD, C.B.; LOUIS, C. **The molecular biology of insect disease vectors: a methods manual**. London: Chapman & Hall, 1997. Disponível em: <[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-0091535-0\\_31](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-0091535-0_31)> Acesso em: 10 ago. 2017.
- Bracco JE, Capurro ML,  **Lourenco-de-Oliveira R, Mureb Sallum MA. Genetic variability of Aeds aegypti in the Americas using a mitochondrial gene: evidence of multiple indroductions**. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102:573-80t
- BRAGA I. A.; VALLE, D. **Aedes Aegypti: histórico do controle no Brasil. Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 16, n. 2, 2007. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci\\_abstract](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci_abstract)> Acesso em: 19 ago. 2017.
- BRAGA, I. A. **Aedes aegyptiresistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states** of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 99, n. 2,2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S007402762004000200015&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S007402762004000200015&script=sci_arttext)> Acesso em: 19 ago. 2017.
- BRENGUES, C. et al. **Pyrethroid and DDT cross-resistance in Aedes aegypti is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene**. Medical and Veterinary Entomology, Oxford, v. 17, n. 1, p. 87-94, 2003. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12680930>> Acesso em: 18 Nov. 2018.
- CAMPOS, G.; BANDEIRA, A.; SARDI, S.; **Zika virus outbreak**, Bahia, Brazil; 2015. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4593454/>> Acesso em 14 Nov.2018.

Carvalho, L. Governo do Estado de Mato Grosso (Ed.). **Mato Grosso tem 28 mil casos de dengue registrados**. 2015. Disponível em: <<http://www.mt.gov.br/-/saudedivulga-novo-boletim-da-dengue-zika-e-chikungunya-em-mato-grosso>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

CASIDA, J.; QUISTAD, G.; 1998. **Golden age of insecticide: Past, present, or Future?** Ann. Rev. Entomol. 43. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9444749>> Acesso em : 15 set. 2018.

CHANG, C. et al. **A novel amino acid substitution in a voltage-gated sodium channel is associated with knockdown resistance to permethrin in *Aedes aegypti***. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford, v. 39, n. 4, p. 272-278, 2009. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19171193>> Acesso em 22 Nov. 2018.

CHRISTOPHERS, S. R. *Aedes aegypti* (L.): **The yellow fever mosquito: its life history, bionomics and structure**. London: Cambridge University Press. 1960. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci\\_abstract](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci_abstract)> Acesso em: 19 ago. 2017.

CONSOLI, A.;Oliveira, R.; **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: FioCruz. 1994. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=c7YXBAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA17&dq=Consoli+RAGB,+Oliveira+RL.+Principais+mosquitos+de+import%C3%A2ncia+sanit%C3%A1ria+no+Brasil+.+Rio+de+Janeiro:+FioCruz%3B+1994++228+p.+&ots=CpZoCQDIkV&sig=2eATpK7gE3x5ATj7vGge8p3M1do#v=onepage&q=Consoli%20RAGB%2C%20Oliveira%20RL.%20Principais%20mosquitos%20de%20import%C3%A2ncia%20sanit%C3%A1ria%20no%20Brasil%20.%20Rio%20de%20Janeiro%3A%20FioCruz%3B%201994%20%20228%20p.&f=false>> Acesso em: 19 ago. 2017.

COSTA, I.; CALADO , D.; **Incidência dos casos de dengue (2007-2013) e distribuição sazonal de culicídeos (2012-2013) em Barreiras, Bahia**. Brasília, 2016. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/ress/v25n4/2237-9622-ress-25-04-00735.pdf>> Acesso em 14 Nov. 2017.

COSTA, M. A. R. **A ocorrência do *Aedes aegypti* na região Noroeste do Paraná: um estudo sobre a epidemia da dengue em Paranavaí-1999, na perspectiva da geografia médica**. 2001. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/89825>> Acesso em: 19 ago. 2017.

CROVELLO, T. J.; HACKER, C. S. **Evolutionary strategies in life table characteristics among feral and urban strains of *Aedes aegypti* (L.)**. *Evolution*, v. 26, n. 2, 1972. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1558-5646.1972.tb00186.x>> Acesso em: 10 out. 2017.

Dick, G.; Kitchen, S.; Haddow, A.; **Zika virus I. Isolation and serological specificity**. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*. 1952. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12995440>> Acesso em: 23 Nov. 2018.

DONALISIO, M. R.; GLASSER, C. M. **Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue**. São Paulo: Hucitec. 2002. Disponível em: <[https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415790X2002000300005](https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415790X2002000300005)> Acesso em: 10 ago . 2017.

FAY, R. W.; ELIASON D.A. **A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes Aegypti***. *Mosq news*, v. 26, n. 4,1966.Disponível em: <[https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/MN\\_V26\\_N4\\_P531535.pdf](https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/MN_V26_N4_P531535.pdf)> Acesso em: 19 ago. 2017.

FFRENCH-CONSTANT, R. H. et al. **Cyclodiene insecticide resistance: from molecular to population genetics**. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 45, p. 449-466, 2000.Disponível em <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.ento.45.1.449>> Acesso em 10 dez.2018.

FLORES, A. E. P. G.; SILVA B. G.; GUTIERREZ, S. M.; BOBADILLA, C.; LOPEZ, B.; MERCADO, R.; BLACK, W.C IV. **Wide spread cross resistance to pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Veracruz state Mexico**. *J Econ Entomol*, n.106, 2013.Disponível em: <<https://academic.oup.com/jee/article/106/2/959/842237>> Acesso em: 19 ago. 2017.

FRANCO, O. **História da febre-amarela no Brasil. In: História da febre-amarela no Brasil. Rio de Janeiro. Divisao de Cooperaçao e Divulgaçao**, 1976. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=PAHO&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=11507&indexSearch=ID>> Acesso em: 19 ago. 2017.

GOLDING, N.; WILAON, A. L.; MOYES, C. L; CANO, J.; PIGOTT, D. M.; VELAYUDHAN, R.; BROOKER, S. J. SMITH, D. L; HAY, S.L.; LINDSAY, S.W.; **Integrating vector control across diseases. BMC Medicine**, v. 13, n. 1. 2015. Disponível em: <[http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci\\_abstract](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?lng=en&pid=S167949742007000200006&script=sci_abstract)> Acesso em: 20 ago. 2017.

HIRAG, C.; SIMÕES , K.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; LIMA, L.; MONNERAT, R.;**Variabilidade Genética Em Populações De *Aedes Aegypti*(L.) (Diptera: Culicidae) Utilizando Marcadores De RAPD**. Brasília: Neusa Hamada – Inpa, ago. 2009.Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ne/v38n4/v38n4a18.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

HUMBACH J. **Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advance development stages. Revista. Panam. Salud publica**, n.21. 2007.Disponível em: <[https://www.scielo.org/scielo.php?pid=S102049892007000300011&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org/scielo.php?pid=S102049892007000300011&script=sci_arttext)> Acesso em: 20 ago. 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo demográfico 2000: **Metodologia do Censo demográfico 2000. Série relatórios metodológicos**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, volume 25, 2003.

Disponível em <

<https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2000/metodologia/metodologiaacenso2000.pdf>> Acesso em 08 abr. 2018.

LAGUNES, T.; RODRÍGUEZ, H.; 1989. **Busqueda de tecnologia apropiada para el combate de plagas del maiz almacenado en condiciones rústicas.** Disponível em < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000114&pid=S1808-1657201300010001300007&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000114&pid=S1808-1657201300010001300007&lng=pt)> Acesso em: 07 Mai.2018.

MACIEL-DE-FREITAS, R.; CODECO, C. T.; LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R. **Body size associated survival and dispersal rates of Aedes aegypti in Rio de Janeiro. Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 284-292, 2007. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17897370> > Acesso em 22 Nov.2018.

Macoris, M. L. G.; M. F. Camargo; I. G. Silva; L. Takaku & M. T. Andrighetti. 1995. **Modificação da Susceptibilidade de Aedes (Stegomyia) aegypti ao Temephos.** Revista de Patologia Tropical 24: 31–40. Disponível em < <https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/handle/ri/11652> > Acesso em: 13 jun. 2018.

MARCONDES, C.; **Entomologia Médica e Veterinária.** São Paulo, 2001. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rimts/v53n6/a13v53n6.pdf>> Acesso em : 05 jan. 2018.

Martinelli, S.; Clark, P. L.; Zucchi, M.I.; Filho, M. C. S. **Genetic structure and molecular variability of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. Bulletin of Entomological Research, Farnham Royal**, v. 97. 2007. Disponível em: <[https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049892007000300011&script=sci\\_arttext](https://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S102049892007000300011&script=sci_arttext)> Acesso em: 18 out. 2017.

MARTINEZ-Torres, D. et al. **Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (kdr) in the major malaria vector Anopheles gambiae s.s. Insect Molecular Biology**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 179-184, 1998. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9535162> > Acesso em 22 Nov. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. MANUAL DE NORMAS TÉCNICAS: **Dengue Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor.** 3 ed. Brasília: Ascom/pre/funasa, 2001. 75 p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man\\_dengue.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. NORMAS E MANUAIS TÉCNICOS: **Guia de Vigilância Epidemiológica. 6 ed.** Brasília: Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2005. 806 p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man\\_dengue.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. NORMAS E MANUAIS TÉCNICOS: **Guia de Vigilância Epidemiológica. 7 ed.** Brasília: Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2009. 816 p. Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia\\_Vig\\_Epid\\_novo2.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: Ministério da Saúde;2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos.) Disponível em:

<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_nacionais\\_prevencao\\_control\\_e\\_dengue.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_control_e_dengue.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

Miyazaki RD, Ribeiro AL, Pignatti MG, Campelo JHJr, Pignatti M. **Monitoring of *Aedes aegypti* mosquitoes (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) by means of ovitraps at the Universidade Federal de Mato Grosso Campus, Cuiabá, State of Mato Grosso**. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(4): 392-97. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822009000400007](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000400007)> acesso em 22 Nov. 2018.

N. Karabatsos, **International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates**. 3rd ed. San Antonio: American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/8906098>> Acesso em 14 Nov.2018.

Oehler, E.; Watrin, L.; Larre, P.; Lepercq, G.; Lestère, S.; Valour, F.; Baudouin, L.; Mallet, H; Musso, D.; Ghawche, F.; **Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome: case report**, French Polynesia, December 2013. Disponível em <<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720>> Acesso em 10 nov. 2018.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. **Number of reported cases of Dengue & Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)**, OPS; 2004. Disponível em <<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/dengue-cases2003.htm> > Acesso em : 10 dez.2018.

OVERGAARD, H. J. **Malaria Mosquito Resistance to Agricultural. Insecticides: Risk Area Mapping in Thailand**. Colombo: International Water Management Institute, 2006. Disponível em <[https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=i\\_cz6qvnoOYC&oi=fnd&pg=PR4&dq=Malaria+Mosquito+Resistance+to+Agricultural.+Insecticides&ots=fVYLKxQ7J4&sig=SjZgilQaXko-1A3xvOFETzg1J8A#v=onepage&q=Malaria%20Mosquito%20Resistance%20to%20Agricultural.%20Insecticides&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=i_cz6qvnoOYC&oi=fnd&pg=PR4&dq=Malaria+Mosquito+Resistance+to+Agricultural.+Insecticides&ots=fVYLKxQ7J4&sig=SjZgilQaXko-1A3xvOFETzg1J8A#v=onepage&q=Malaria%20Mosquito%20Resistance%20to%20Agricultural.%20Insecticides&f=false)> Acesso em: 12 Abr. 2018.

Paduan KS, Ribolla PEM. **Mitochondrial DNA Polymorphism and Heteroplasmy in Populations of *Aedes aegypti* in Brasil**. *J Med Entomol*. 2008; 45:59-67.

RITTER, L.; **Report of a Panel on the Relationship between Public Exposure to Pesticides and Cancer**. Canada, 1997. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291097-0142%2819971115%2980%3A10%3C2019%3A%3AAID-CNCR21%3E3.0.CO%3B2-Z> > Acesso em: 24 nov.2018.

Scarpassa VM, Conn JE. **Population genetic structure of the major malaria vector *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) from the Brazilian Amazon, using microsatellite markers.** Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007; 102(3):319-27

SCHATZMAYR, H.; Dengue **Situation in Brazil by Year 2000.** Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v95s1/v95s1a30.pdf>> Acesso em 15 Mai. 2018.

SECRETARIA DO ESTADO DE SAÚDE DE MATO GROSSO. **Plano Estadual de contingência de Dengue 2005-2006.** Disponível em < <http://www.saude.mt.gov.br/site/suvsas>> Acesso em: 10 Nov. 2018

Seixas, G., Salgueiro, P., & Clara, A. (3 de 10 de 2013). **Aedes aegypti on Madeira Island (Portugal): genetic variation of a recently introduced dengue vector.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro,. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v108s1/0074-0276-mioc-108-s1-0003.pdf>> Acesso em 16 Mai. 2018.

SILVA, S. J.; MARIANO, Z. F.; SCOPEL, I. **A influência do clima urbano na proliferação do mosquito *Aedes aegypti* em Jataí (GO) na perspectiva da geografia médica.** Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde, n.02(5), p. 33-49, 2007. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/16883>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

TAUIL, P. L. **Urbanização e ecologia do Dengue. Cadernos de Saúde Pública. Rio de Janeiro.** n.17(Supl I) p.99-102, 2001. Disponível em: <[https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102311X2001000700018](https://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102311X2001000700018)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

TEIXEIRA, G.; COSTA, M.; BARRETO, M; MOTA, E.; **Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research needs are indicated by its trend, surveillance and control experiences?** Cad. Saúde Pública, v.21, n.5. 2005. Disponível em: <[https://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102311X2005000500002&script=sci\\_arttext&lng=es](https://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102311X2005000500002&script=sci_arttext&lng=es)>. Acesso em: 15 fev. 2018.

VARGAS, F.; CÓRDOVA, P. O.; ALVARADO, A, A.; **Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes Aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano.** Med Exp Salud Publica, Peru, n.23. 2006. Disponível em: <<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/artrevista/pdf/5%20resistencia%20insecticidas.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

VASCONCELOS, P.; **Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?** 2015. Disponível em < <http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v6n2/v6n2a01.pdf>> Acesso em 05 Ago. 2018;

WHO **Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: World Health Organization, 1997.** Disponível em < <https://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/Denguepublication/en/>> 10 Nov. 2017.

WILLIAMSON, M. S. et al. **Knockdown resistance (kdr) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene locus in the housefly (*Musca domestica*)**. Molecular and General Genetics, Berlin, v. 240, n. 1, p. 17-22, 1993. Disponivel em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8101963> > Acesso em 22 Nov. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Executive committee of the directing council the regional committee Pan American World Health 120th Meeting CE120/21**. Geneva: WHO, 1997.

YAN, G.; CHADEE, D. D.; SEVERSON, D. W. (1998) **Evidence for genetic hitchhiking effect associated with insecticide resistance in *Aedes Aegypti***. Genetics 1998.

ZANLUCA, C.; MELO, V.; MOSIMANN, A.; SANTOS, G.; SANTOS, C.; Luz, K.; **The first report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil**. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015. Disponivel em < <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v110n4/0074-0276-mioc-0074-02760150192.pdf>> Acesso em 14 Nov. 2018.