



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Parasitologia



**Perfil de resistência de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais)
aos inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública**

Pedro Horta Andrade

Belo Horizonte
Maio de 2023

Pedro Horta Andrade

**Perfil de resistência de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais)
aos inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito final para obtenção do título de Mestre em Parasitologia

Área de concentração: Entomologia

Orientação: Dra. Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa

Belo Horizonte

Maio 2023

043

Andrade, Pedro Horta.

Perfil de resistência de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública [manuscrito] / Pedro Horta Andrade. – 2023.

110 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientação: Dra. Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Culicidae. 3. *Aedes*. 4. Controle de Vetores. 5. Resistência a Inseticidas. I. Pessoa, Grasielle Caldas D'Ávila. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 576.88/.89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COLEGIADO DO PROGRAMA DE GRADUAÇÃO PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

DISSERTAÇÃO 452/2023/07

TÍTULO: "Perfil de resistência de Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas adotados nas atividades rotinas em saúde pública"

ALUNO: PEDRO HORTA ANDRADE

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENTOMOLOGIA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **trinta e um de maio de 2023**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes doutores:

Joziana Muniz Barçante Paiva

UFLA

Thiago Nunes Pereira

IRR/FIOCRUZ-Minas

Grasielle Caldas D'Avila Pessoa- Orientadora

UFMG

Belo Horizonte, 31 de maio de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Grasielle Caldas D Avila Pessoa, Professora do Magistério Superior**, em 31/05/2023, às 11:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Nunes Pereira, Usuário Externo**, em 01/06/2023, às 14:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Joziana Muniz de Paiva Barçante, Usuária Externa**, em 06/06/2023, às 19:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2299946** e o código CRC **4B3E3934**.

Dissertação desenvolvida no Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos, no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, sob orientação da Dra. Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa

Colaboradores:

César Nonato (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Daniel Milagres (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Dr. Ademir Martins do Santos Junior (IOC/FIOCRUZ)

Dr. Leonardo Barbosa Koerich (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Dr. Marcos Horácio Pereira (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Dr. Maurício Roberto Viana Sant'Anna (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Dr. Nélder de Figueiredo Gontijo (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Dra. Juliana Maria Trindade Bezerra (Dep. Parasitologia, UEMA)

Dra. Leticia Cavalari Pinheiro (IRR/FIOCRUZ Minas)

Júlia de Paula Rabelo (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

Msc. Artur Metsker Serravite (Dep. Parasitologia, ICB/UFMG)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha família que sempre me deu carinho e amor. Aos meus pais Afonso e Irlayne e à minha irmã Julia que sempre me apoiaram na minha jornada e me incentivaram a buscar aquilo que amo.

Aos meus amigos pela companhia, em especial Clara, Matheus, Nicolas e Tomé pelos quase 10 anos de amizade, sem os quais eu nunca teria sobrevivido à graduação e à pós. Ao Artur, meu irmão científico desde 2018 e que me introduziu ao Laboratório de Fisiologia em Insetos Hematófago (LFIH).

A minha orientadora Grasi, pelo qual sou imensamente grato pelo apoio, carinho, paciência, dedicação e conselhos que tem me ajudado tanto na minha carreira científica.

A todo o LFIH. Aos professores por sempre estarem disponíveis para ajudar e apoiar no andamento de todos os trabalhos realizados no laboratório. Aos alunos pela ajuda em experimentos, companhia e amizade, em especial ao César, pois sem ele o laboratório não funcionaria. À equipe do “mosquitário” Artur, Dani, Júlia, Luísa e Rafa por toda a ajuda, conversas e especialmente aqueles sábados que puderam me substituir.

À Dra. Juliana Maria Trindade Bezerra e à Dra. Letícia Cavalari pela coordenação e fundamental suporte junto à revisão sistemática e a análise estatística dos dados, respectivamente. Ao Dr. Ademir Martins por todo o suporte nos estudos que investigaram a presença de mutações do tipo Kdr nas populações de interesse.

A todos os colaboradores da Secretaria Municipal de Saúde de Contagem (MG) e do Centro de Controle de Zoonoses, em especial Dr. Hassan Melo Zibaoui, Dr. Marco Túlio de Oliveira, Dra. Maria Helena Franco Morais e aos agentes de saúde, sem os quais esse trabalho não teria sido possível.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Parasitologia e, em especial, à Sumara e Sibebe, pela disponibilidade, atenção e auxílio. Aos docentes, pela contribuição na minha formação profissional.

Aos membros da banca examinadora, Dra Joziana Muniz de Paiva Barçante, Dr. Thiago Nunes Pereira e Dr. Luiz Fernando Viana Furtado pelas contribuições ao trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Instituto de Ciências Biológicas, ao INCT-Entomologia Molecular e às agências de fomento CAPES e FAPEMIG por possibilitarem a realização desse trabalho.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram na construção dessa dissertação.

RESUMO

Aedes aegypti é um dos insetos vetores de maior importância médica no Brasil, sendo o transmissor de arbovírus de grande impacto em saúde pública como Dengue, Zika e Chikungunya. Tendo em vista, até o momento, a impossibilidade de imunização da população suscetível contra tais patógenos, o controle vetorial assume posição de destaque. No Brasil o Ministério da Saúde recomenda a adoção de medidas de controle mecânico que compreendem a eliminação dos criadouros do vetor, associada ao controle químico através do uso de inseticidas. Contudo, a exposição continuada desses insetos a tais ativos tem selecionado populações de *Ae. aegypti* resistentes, impactando diretamente na incidência das doenças a esse mosquito relacionadas. Nesse sentido, esse trabalho se propôs a revisar sistematicamente a literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações brasileiras de *Ae. aegypti* aos inseticidas entre os anos de 1995 e 2022. As buscas foram realizadas em inglês, português e espanhol em 7 bases científicas eletrônicas. Foram utilizados os descritores catalogados no Descritores em Ciências da Saúde e no *Medical Subject Headings*, isolados e/ou combinados, entre aspas, junto aos descritores booleanos “AND” e “OR”: “resistência aos inseticidas”, “*Aedes aegypti*”; “Brasil”; e variantes. A busca dos estudos, seleção e extração dos dados foi realizada por os dois pesquisadores de forma independente, auxiliados por um terceiro frente às divergências. Foram selecionados 741 estudos, dos quais 55 atenderam aos critérios de inclusão. Das 818 populações de mosquitos, representativas de todo o território nacional, 591 (72%) se mostraram resistentes a algum dos inseticidas avaliados. Apenas 22 trabalhos (40%) investigaram o(s) mecanismo(s) relacionado(s) à resistência aos inseticidas tendo sido descritas alterações bioquímicas (esterases α , β , pnpa; citocromo P450, acetilcolinesterase e glutatona-S-transferase) e mutações no gene do canal de sódio (V1016I; F1534C e V410L). Adicionalmente, um segundo objetivo do presente estudo foi investigar a resistência de *Ae. aegypti*, coletados nas 8 regionais de saúde de Contagem, município de Minas Gerais, nos anos de 2019, 2021 e 2022 a diferentes inseticidas. Destaca-se ser a região de estudo altamente impactada pela dengue e cujo, nos períodos epidêmicos, acredita-se ser comum a intensificação do uso de inseticidas podendo contribuir para a seleção de espécimes resistentes. Foram realizados bioensaios em concordância com metodologia proposta pela Organização Mundial de Saúde com larvas e adultos do mosquito. Os inseticidas avaliados foram a deltametrina (grau técnico) e os produtos formulados recomendados para o controle de *Ae. aegypti* larvicidas SumiLarv® e Natular™ DT e adulticidas Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora®. Além disso, foi avaliado o Alfatek® 200 SC atualmente recomendado pelo Ministério da Saúde para o combate de adultos de flebotômíneos. Foi adotada como linhagem referência de suscetibilidade (LRS) a Rockefeller. Os resultados foram submetidos a análises estatísticas a depender da natureza e distribuição dos dados. Todas as populações, nos três tempos testados, se mostraram suscetíveis a todos os inseticidas formulados adotados para o controle de *Ae. aegypti*. Por outro lado, todas se mostraram resistentes ao Alfatek® 200 SC (mortalidade 30-45,5%), bem como a deltametrina (larvas RR₉₅ 3,0-5,79; adultos RR₉₅ 44,12 - 81,46). Para todos os inseticidas não houve diferença significativa ($p < 0,05$) no perfil de suscetibilidade/resistência observado nas comparações dos 3 tempos de avaliação. Os resultados gerados neste trabalho se desdobram em direcionamentos práticos às ações de controle de *Ae. aegypti* em Contagem, podendo subsidiar a tomada de decisão dos gestores que estão à frente de tal atividade, contribuindo, assim, para o fortalecimento do Sistema Único de Saúde.

Palavras-chave: Resistência aos inseticidas, controle vetorial, Culicidae, *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

Aedes aegypti is one of the most important insect vectors of medical importance in Brazil, being the transmitter of arboviruses of major impact on public health such as Dengue, Zika, and Chikungunya. Given the impossibility of immunizing the susceptible population against these pathogens, vectorial control assumes a prominent position. In Brazil, the Ministry of Health recommends the use of mechanical control measures that comprise the elimination of the vector's breeding sites, associated with chemical control using insecticides. However, the continued exposure of these insects to these active agents has selected resistant populations of *Ae. aegypti*, directly impacting the incidence of the mosquito-related diseases. Therefore, this study sought to systematically review the literature on the accumulated knowledge regarding the resistance of Brazilian populations of *Ae. aegypti* to insecticides between the years 1995 and 2022. The searches were conducted in English, Portuguese, and Spanish in 7 scientific electronic databases. Descriptors catalogued in the Descriptors in Health Sciences and Medical Subject Headings were used, isolated and/or combined, in quotation marks, together with the Boolean descriptors "AND" and "OR". The search for studies, selection, and extraction of data were carried out independently by the two researchers, assisted by a third party in case of disagreements. A total of 741 studies were selected, of which 55 met the inclusion criteria. Of the 818 mosquito populations, 591 (72%) were resistant to any of the insecticides evaluated. Only 22 papers (40%) investigated mechanisms related to insecticide resistance having described biochemical alterations (esterases α , β , pnpa; cytochrome P450, acetylcholinesterase and glutathione-S-transferase) and mutations in the sodium channel gene (V1016I; F1534C and V410L). Additionally, a second objective of the present study was to investigate the resistance of *Ae. aegypti*, collected in the 8 health regions of Contagem, Minas Gerais, in the years 2019, 2021 and 2022 to different insecticides. The study region is heavily impacted by dengue, and, during epidemic periods, it is believed that the intensified use of insecticides is common and can contribute to the selection of resistant specimens. Bioassays were conducted in accordance with the World Health Organization. The insecticides evaluated were deltamethrin (technical grade) and the formulated products recommended for the control of *Ae. aegypti* larvicides SumiLarv® and Natular™ DT and adulticides Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV and Fludora®. In addition, the Alfatek® 200 SC currently recommended to combat adult sand flies was evaluated. Rockefeller was adopted as the susceptibility reference strain (SRL). The results were submitted to statistical analysis depending on the nature and distribution of the data. All populations were susceptible to all formulated insecticides used to control *Ae. aegypti*. On the other hand, all were resistant to Alfatek® 200 SC (mortality 30-45.5%), as well as to deltamethrin (larvae RR₉₅ 3.0-5.79; adults RR₉₅ 44.12 - 81.46). For all insecticides, there was no significant difference ($p < 0.05$) in the susceptibility/resistance profile observed in comparisons of the 3 evaluation times. The results generated in this study unfold in practical directions to the actions of *Ae. aegypti* control in Contagem and may support the decision making of managers who oversee such activity, thus contributing to the strengthening of the Sistema Único de Saúde.

Keywords: Insecticide resistance, vector control, Culicidae, *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de predição da distribuição de *Aedes aegypti* no mundo. O mapa indica a probabilidade de ocorrência do mosquito, sendo áreas em cinza (0) improváveis e, em azul (1), prováveis. Fonte: Kamal (2018). 15
- Figura 2.** Ciclo biológico holometábolo de *Aedes aegypti* com quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva (L1-L4), pupa e adultos. Fonte: Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado de Saúde de Santa Catarina (2007). 16
- Figura 3.** Fases imaturas de *Aedes aegypti*: ovos (A), larvas (B) com seta indicando sifão respiratório e pupas (C). Fonte: Genilton Vieira, IOC/FIOCRUZ; José R Botelho, ICB/UFMG; O fantástico mundo dos mosquitos. 17
- Figura 4.** Adulto de *Aedes aegypti*, apresentando escamas brancas no tórax em forma de lira (seta preta) (A): macho (antenas plumosas - setas vermelhas - e palpos longos - setas amarelas) (B) e fêmea (antenas pilosas - setas vermelhas - e palpos curtos - setas amarelas) (C). (Fotos: A- Daniel Ramos (2017); B, C - José R. Botelho ICB/UFMG) 18
- Figura 5.** Mecanismos relacionados à resistência metabólica em mosquitos: i) amplificação gênica; ii) expressão gênica alterada e iii) modificação estrutural. Fonte Torres et al, 2013 adaptado. 30
- Figura 6.** Desenho esquemático do canal de sódio indicando-se as mutações descritas para *Aedes aegypti* relacionadas a resistência aos inseticidas. 31
- Figura 7.** Município de Contagem (MG), área de estudo do presente trabalho. (A) mapa do Brasil, destacando o estado de Minas Gerais. (B) mapa de Minas Gerais destacando Contagem (C). Fonte: mapasparacolorir.com 43
- Figura 8.** Ovitrapa com uma palheta de Eucatex mergulhada para estimular a oviposição do *Aedes aegypti* (Foto: Fabio Silva, 2020). 45
- Figura 9.** Gaiolas transparentes para criação de mosquitos adultos. O copo preto mostrado é usado para coleta de ovos. O copo é preenchido até a metade com água e sendo colocado uma fita de papel filtro para estimular a oviposição. 47
- Figura 10.** Bioensaios realizados com larvas de *Aedes aegypti* segundo metodologia preconizada pela Organização Mundial de Saúde (1981; 2022). Nesse ensaio as larvas (L3-L4) são colocadas por 24 horas em contato com a solução de inseticida de interesse para avaliação da mortalidade. 50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 11.** (A) Kit adotado para a realização de bioensaios com adultos de *Aedes aegypti* segundo metodologia recomendada pela Organização Mundial de Saúde (1981; 2022). Com essa metodologia as fêmeas adultas são expostas por 60 minutos a papel impregnado com o inseticida de interesse (indicado com a bolinha vermelha), sendo transferidos, em seguida, para um recipiente isento de inseticida (indicado pela bolinha verde). A mortalidade é avaliada 24 horas após a exposição. (B) Insetos mortos dentro do kit OMS. 51
- Figura 12.** Fluxograma de seleção dos artigos científicos nas bases eletrônicas de dados para a revisão sistemática sobre a resistência das populações brasileiras de campo de *Aedes aegypti* aos inseticidas. 55
- Figura 13.** Mortalidade (%) de larvas (azul), pupas (laranja) e adultos (cinza) de populações de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida SumiLarv® (Piriproxifeno² 0,5g, Sumitomo Chemical) com 1, 7, 14, 21 e 28 dias após o preparo. Os insetos foram coletados em 2019 (A), 2020 (B) e 2021 (c) junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município. 60
- Figura 14.** Mortalidade (%) de adultos de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida Alfatek® 200 SC (alfacipermetrina 20% p/p – Rogama) na concentração de uso recomendada pelo fabricante para o controle de *Lutzomyia longipalpis* (5ml/L para 500m²) Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Componentes da pergunta delimitadora do estudo seguindo o anagrama PICOS.	40
Tabela 2. Incidência de leishmanioses, Dengue, Zika e Chikungunya no município de Contagem no período de 2019 a 2022 segundo dados do SINAM (Brasil, 2023)	45
Tabela 3. Inseticidas utilizados nos estudos que avaliaram a resistência das populações de <i>Aedes aegypti</i> (larvas e/ou adultos) no presente estudo.	47
Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas -período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.	99
Tabela 5. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas no que se refere ao inseticida avaliado, a metodologia adotada, as fases de desenvolvimento do mosquito investigadas e à linhagem de referência de suscetibilidade.	104
Tabela 6. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas no que se refere ao tipo de estudo desenvolvido, ao critério de mortalidade adotado e ao status de suscetibilidade/resistência observado.	106
Tabela 7. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas no que se refere ao tipo de estudo desenvolvido, ao critério de mortalidade adotado e ao status de suscetibilidade/resistência observado.	108
Tabela 8. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas no que se refere aos estudos no campo – detalhamento metodológico e resultados observados.	109
Tabela 9. Concentração letal 95% (CL_{95}), razão de resistência 95% (RR_{95}) e <i>slope</i> de larvas de <i>Aedes aegypti</i> de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida Deltametrina (GT 99,1% pureza, Bayer). Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.	57
Tabela 10. Dose letal 95% (DL_{95}), razão de resistência 95% (RR_{95}) e <i>slope</i> de adultos de <i>Aedes aegypti</i> de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida Deltametrina (GT 99,1% pureza, Bayer). Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

°C	- Graus celsius
AaNa _v R1	- Fenótipo resistente Val1016Val + Phe1534Cys da proteína de canal de sódio de <i>Aedes aegypti</i>
AaNa _v R2	- Fenótipo resistente Val1016Ile + Phe1534Cys da proteína de canal de sódio de <i>Aedes aegypti</i>
AaNa _v R2	- Fenótipo resistente Val1016Ile + Phe1534Phe da proteína de canal de sódio de <i>Aedes aegypti</i>
AaNa _v S	- Fenótipo suscetível Val1016Val + Phe1534Phe da proteína de canal de sódio de <i>Aedes aegypti</i>
Ace	- Gene codificante da acetilcolinesterase
AChE	- Acetilcolinesterase
<i>Bti</i>	- <i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
CDC	- Centro de Controle de Doenças
CHIKV	- Vírus da Chikungunya
CL	- Concentração letal
CV	- Competência vetorial
CYP	- Gene codificante do citocromo P450
DD	- Dose diagnóstica
DDT	- Diclorodifeniltricloroetano
DEN-1	- Vírus Dengue sorotipo 1
DENERu	- Departamento Nacional de Endemias Rurais
DL	- Dose letal
EST	- Esterases
FUNASA	- Fundação Nacional da Saúde
GABA	- Ácido gama aminobutírico
GST	- Glutathione S transferase
GT	- Grau técnico
IGR	- Regulador de crescimento
<i>Kdr</i>	- Resistência ao efeito <i>knockdown</i>
LRS	- Linhagem referência de suscetibilidade
MFO	- Oxidases se função mista
NE	- Neonicotinóide
MoReNAa	- Rede de Monitoramento de Resistência de <i>Aedes aegypti</i>
OC	- Organoclorado
OP	- Organofosforado
OMS	- Organização Mundial da Saúde
OPAS	- Organização Pan-Americana de Saúde
PCR	- Reação em cadeia da polimerase
PF	- Produto formulado
Phe1534Cys	- Substituição de fenilalanina por cisteína no códon 1534 da proteína de canal de sódio
PI	- Piretróide
PIACD	- Plano de Intensificação das Ações de Controle de Dengue
PNCDD	- Programa Nacional de Controle de Dengue
PRODABEL	- Empresa de Informática e Informação de Belo Horizonte
RR	- Razão de resistência
SMS	- Secretaria Municipal de Saúde
SNFA	- Serviço Nacional de Febre Amarela
SUCAM	- Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
UBV	- Técnica de dispersão de inseticida por ultrabaixo volume,
V1016G/I	- Substituição de valina por glicina ou isoleucina no códon 1016 da proteína de canal de sódio
ZIKV	- Vírus Zika

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1. <i>Aedes aegypti</i>: aspectos gerais	15
1.2. Controle químico de <i>Aedes aegypti</i> no Brasil: um breve histórico	19
1.3. Resistência de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas	28
2. JUSTIFICATIVA	36
3. OBJETIVOS	39
3.1. Objetivo geral	39
3.2. Objetivos específicos	39
4. METODOLOGIA	40
4.1. Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas	40
4.1.1. Pergunta do estudo	40
4.1.2. Desenho do estudo e registro do protocolo	40
4.1.3. Critério de elegibilidade	40
4.1.4. Fontes e estratégia de pesquisa	41
4.1.5. Seleção dos estudos e extração dos dados	42
4.2. Investigação a resistência de <i>Aedes aegypti</i> de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse	42
4.2.1. Área de estudo	42
4.2.2. Populações de <i>Aedes aegypti</i> estudadas	45
4.2.3. Inseticidas utilizados	47
4.2.4. Bioensaios com a Deltametrina	48
4.2.4.1. Caracterização do perfil de suscetibilidade da LRS - Rockfeller	49
4.2.4.2. Caracterização do perfil de suscetibilidade/resistência das populações de campo	51
4.2.5. Ensaios Biológicos com os inseticidas adotados em saúde pública	51
4.2.5.1. Ensaios biológicos com SumiLarv®	52
4.2.5.2. Ensaios Biológicos com Natular™ DT, Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora® Fusion e Alfatek® 200 SC	52

SUMÁRIO

5. RESULTADOS	54
5.1. Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas	54
5.2. Investigação a resistência de <i>Aedes aegypti</i> de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse	56
5.2.1. Ensaio Biológicos com Deltametrina	56
5.2.2. Ensaio biológicos com o SumiLarv®	59
5.2.3. Ensaio biológicos com Natular™ DT, Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora® Fusion e Alfatek® 200 SC	61
6. DISCUSSÃO	63
6.1. Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i> aos inseticidas	63
6.1.1. A resistência aos inseticidas das populações brasileiras de campo de <i>Aedes aegypti</i>	63
6.1.2. Avaliação crítica sobre os principais aspectos relacionados à metodologia adotada nos estudos que avaliaram a resistência aos inseticidas das populações de campo brasileiras	68
6.2. Investigação a resistência de <i>Aedes aegypti</i> de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse	76
7. CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
ANEXOS	100
ANEXO 1	100
ANEXO 2	105
ANEXO 3	107
ANEXO 4	109
ANEXO 5	110

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Aedes aegypti*: aspectos gerais

Aedes aegypti, comumente conhecido como mosquito da dengue, é um inseto da ordem Diptera, família Culicidae e subfamília Culicinae (Christophers, 1960). Sendo originário da África, espalhou-se pelo globo durante o período das grandes navegações, tendo chegado ao Brasil durante a colonização (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Atualmente é um mosquito altamente urbanizado e cosmopolita, vivendo de preferência em regiões tropicais e subtropicais (Figura 1). Sua distribuição global vem se expandindo devido ao aquecimento global (Kamal et al., 2018). Trata-se de um vetor de grande importância médica por ser o transmissor de diversos arbovírus. No Brasil é o principal transmissor dos vírus da dengue, Zika e Chikungunya (Ferreira de Brito et al., 2016).

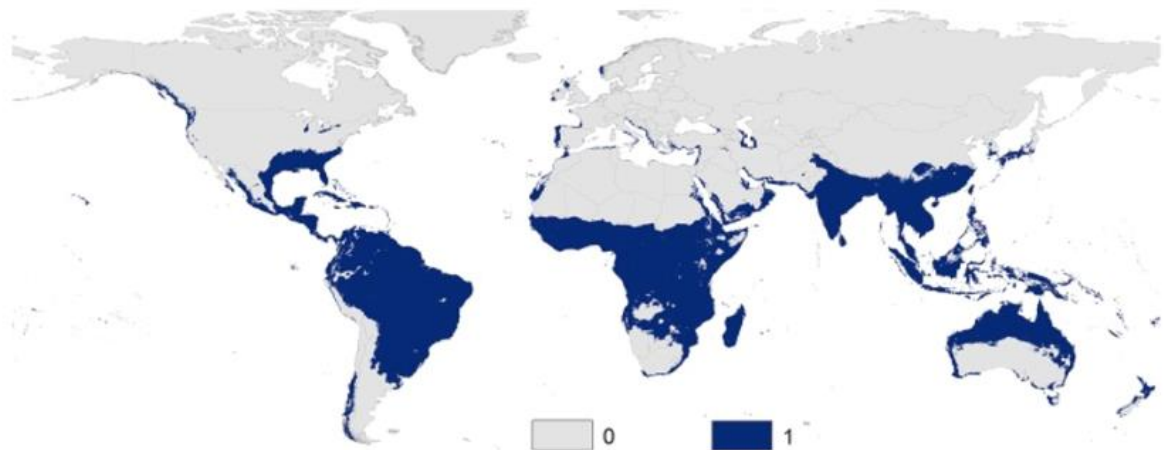


Figura 1. Mapa de previsão da distribuição de *Aedes aegypti* no mundo. O mapa indica a probabilidade de ocorrência do mosquito, sendo áreas em cinza (0) improvável e, áreas em azul (1), provável. Fonte: Kamal (2018).

Aedes aegypti apresenta ciclo de vida do tipo holometábolo sendo constituído dos estágios de ovo, larva (4 estádios), pupa e adulto (macho ou fêmea). Durante a fase larval e de pupa o inseto possui hábito aquático enquanto na fase adulta, terrestre (Figura 2). Tem como condições ideais para seu desenvolvimento, em laboratório, a temperatura de 28°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e umidade relativa de 80% ($\pm 10\%$) concluindo o ciclo de desenvolvimento em aproximadamente 10 dias. Os ovos são escuros e cilíndricos, com aproximadamente 0,6mm (Figura 3A). As fêmeas de *Ae. aegypti* depositam os ovos individualmente, aderidos em superfícies próximas à lâmina d'água parada relativamente limpa. Normalmente essa oviposição é feita em múltiplos criadouros, que contenham água parada e relativamente limpa, como tampinha de garrafa, pneus abandonados ou caixas d'água destampadas. Após a

postura, os embriões necessitam de 48 a 72 horas para finalizarem seu desenvolvimento, nascendo e apresentando-se em larvas de primeiro estágio. As larvas eclodem quando o ovo entra em contato com a água do criadouro. Destaca-se que os ovos podem permanecer em diapausa e em quiescência por até 1 ano e ainda serem viáveis, dessa forma conferindo o mosquito a capacidade de resistir a períodos de seca (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994).

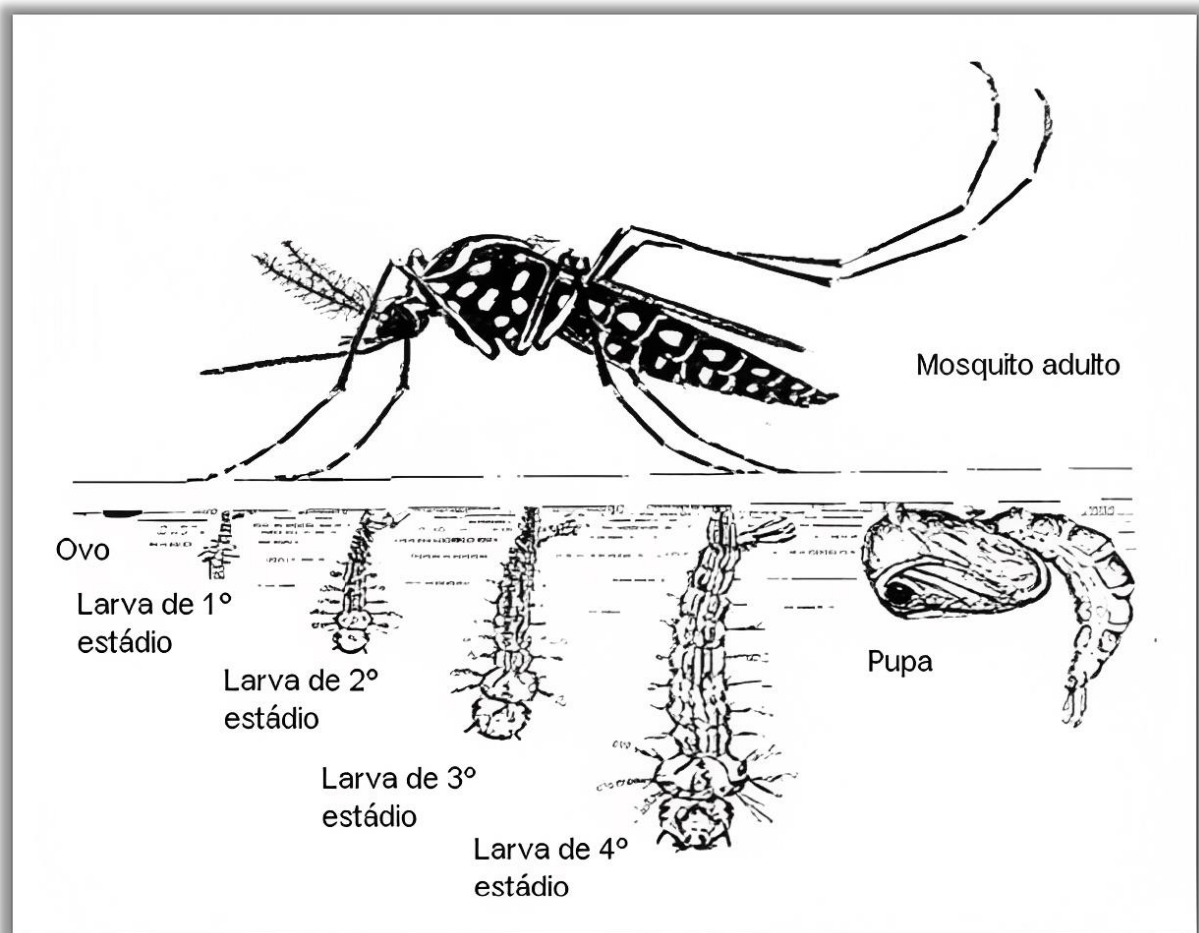


Figura 2. Ciclo biológico holometábolo de *Aedes aegypti* com quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva (L1-L4), pupa e adultos. Fonte: Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado de Saúde de Santa Catarina (2007).

Após eclosão das larvas, se sucedem quatro estádios larvais. As larvas possuem cor amarronzada, cabeça distinta e bastante esclerotizada, corpo com presença de cílios nos segmentos e presença de um sifão respiratório na região terminal do corpo, o qual caracteriza a subfamília (Figura 3B). As larvas normalmente ficam em posição perpendicular à lâmina d'água, têm comportamento de aglomeração e fotofobia. Se alimentam de detritos orgânicos e microrganismos presentes no criadouro, podendo sobreviver a ambientes extremamente eutrofizados. Em condições ideais, o inseto passa pelos quatro estádios larvais em

aproximadamente sete dias, transformando-se em pupa. As pupas são amarronzadas quando recém diferenciadas, porém ficam mais escuras durante seu desenvolvimento, tem formato de vírgula, presença de trombetas respiratórias respiratórios, grande movimentação, mas não se alimentam (Figura 3C). As pupas se desenvolvem por aproximadamente dois dias em condições ideais. Os adultos emergem pelo cefalotórax da pupa através de uma fenda em formato de “T”, permanecendo em repouso sobre a exúvia por alguns minutos, com vista ao enrijecimento do exoesqueleto de quitina e dos músculos. Os machos finalizam sua maturação sexual após emergirem, o que consiste na rotação de sua genitália em 180° (Christophers, 1960).

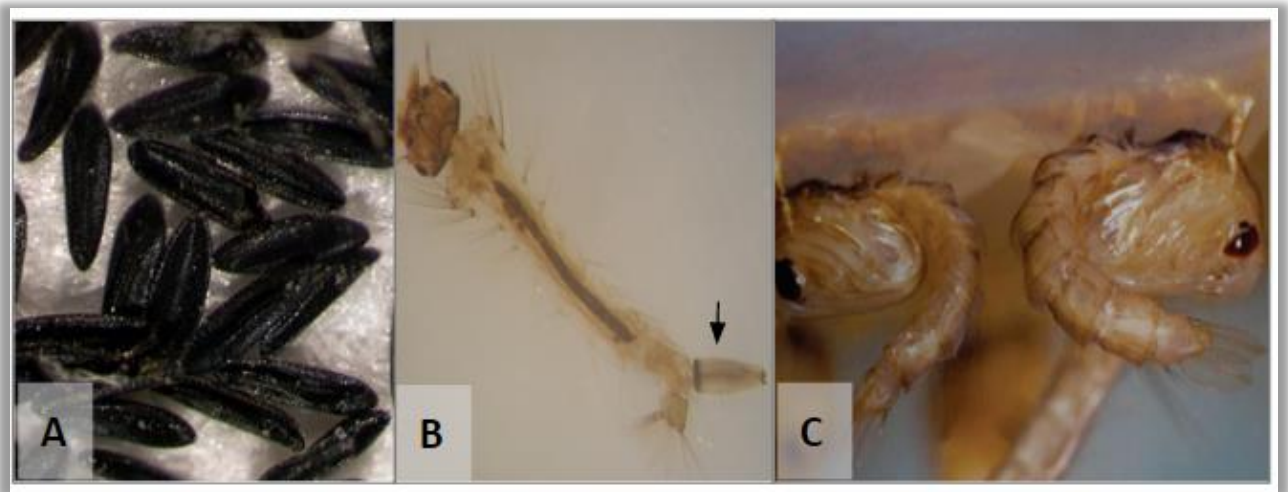


Figura 3. Fases imaturas de *Aedes aegypti*: ovos (A), larvas (B) com seta indicando sifão respiratório e pupas (C). Fonte: Genilton Vieira, IOC/FIOCRUZ; José R Botelho, ICB/UFMG; O fantástico mundo dos mosquitos.

Os adultos de *Ae. aegypti* exibem coloração preta ou marrom-escura, com presença de escamas brancas tanto nas regiões intersegmentares das pernas, quanto na região do dorso do tórax, formando uma estrutura semelhante a uma “lira”, característica que diferencia a espécie (Figura 4A). Observa-se nos adultos marcado dimorfismo sexual, onde as antenas dos machos são denominadas de “plumosas” e os palpos são longos (Figura 4B). Por sua vez, as fêmeas apresentam antenas “pilosas” e palpos os curtos (Figura 4C). Os adultos tendem a permanecer em abrigos sombreados, até o momento no qual irão se alimentar ou copular. Adultos de ambos os sexos se alimentam de soluções açucaradas como seiva, ou néctar de plantas, porém as fêmeas necessitam realizar repasto sanguíneo para finalizar a produção de ovos. O hospedeiro preferencial das fêmeas deste mosquito é o ser humano, porém as fêmeas são capazes de se alimentar em outros animais. Três dias após a hematofagia, as fêmeas terminam a maturação de seus ovos e estão aptas à oviposição, podendo se dispersar por mais de 300

metros à procura de criadouros adequados. As fêmeas de *Ae aegypti* depositam seus ovos individualmente, aderindo-os próximos à lâmina d'água de criadouros caracterizados por possuírem água relativamente limpa e parada. Contudo, destaca-se o encontro de larvas desse mosquito em ambientes: i) eutrofizados ricos em amônia e nitrato (Nwoke et al,1993) e ii) com baixo teor de salinidade (De Brito Arduino et al, 2015). Normalmente a fêmea deposita os ovos de um ciclo gonotrófico em múltiplos recipientes, comportamento esse conhecido por “postura em saltos” ou “skip-oviposition” (Fay & Perry 1965, Chadee et al. 1990). Na ausência de condições ambientais favoráveis para eclosão, os ovos são capazes de resistir no ambiente por até um ano através do fenômeno da quiescência, sobrevivendo, dessa forma, as estações secas (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994). Após a oviposição, as fêmeas podem copular e realizar novos repastos sanguíneos para completar novos ciclos gonotróficos. Cada fêmea pode ovipor aproximadamente 100 ovos no primeiro ciclo gonotrófico, podendo chegar até a 10 ciclos, com produção de ovos reduzida a cada ciclo, durante toda a sua vida (Macfie, 1915; Howard, 1928). O tempo de vida dos adultos deste mosquito varia de 4 a 8 semanas, mas podendo chegar a meses em condições ideais de ambiente e alimentação (Christophers, 1960).

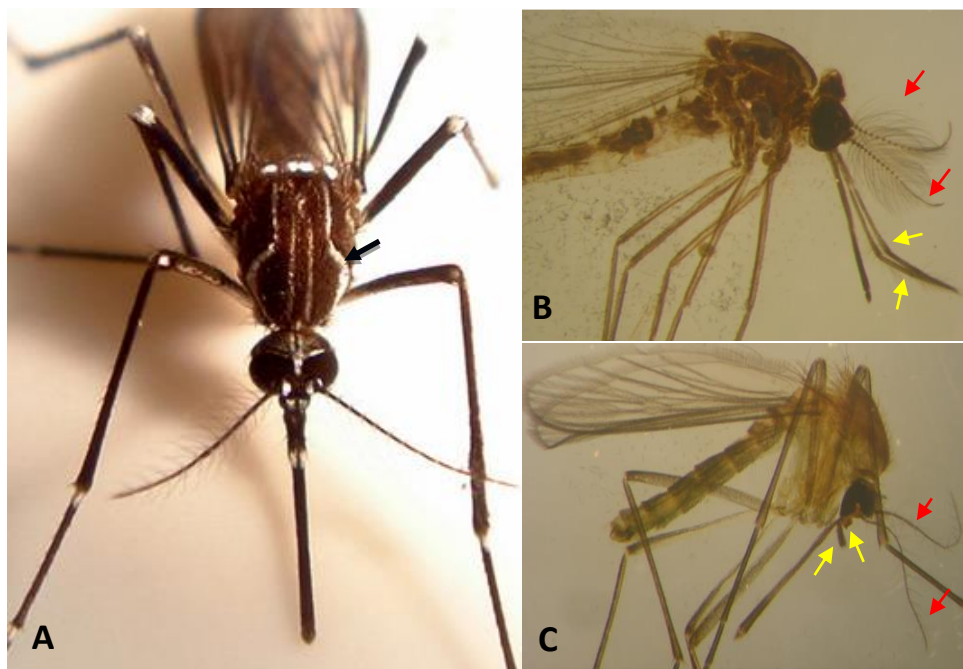


Figura 4. Adulto de *Aedes aegypti*, apresentando escamas brancas no tórax em forma de lira (seta preta) (A): macho (antenas plumosas - setas vermelhas - e palpos longos - setas amarelas) (B) e fêmea (antenas pilosas - setas vermelhas - e palpos curtos - setas amarelas) (C). (Fotos: A- Daniel Ramos (2017); B, C - José R. Botelho ICB/UFMG)

Referindo-se ainda a hematofagia, é durante esse processo que as fêmeas de *Ae. aegypti* podem se infectar com diferentes vírus ou, desde que infectadas, transmiti-los aos seus hospedeiros, justificando a importância desse mosquito na saúde humana. É importante considerar que para completar seu repasto sanguíneo esse mosquito pode realizar várias picadas, tanto no mesmo hospedeiro, quanto em múltiplos hospedeiros. Esse comportamento tem grande importância epidemiológica, pois quanto mais hospedeiros esse mosquito pica, maior será a chance de disseminação de patógenos a um maior contingente de pessoas.

Nesse cenário, hoje no Brasil *Ae. aegypti* é o principal vetor dos vírus da Dengue, Chikungunya e Zika, patógenos esses causadores de arboviroses de grande importância em saúde pública. Em 2022 foram registrados 1.450.270 casos prováveis de dengue, 174.517 de Chikungunya e 9.204 de Zika (Brasil, 2023). Pensando no enfrentamento dessas doenças, para a Dengue existem duas vacinas aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária: a Dengvaxia® e a Qdenga®. A Dengvaxia®, registrada em 2015, tem uso restrito a indivíduos que residem em áreas de risco para dengue e que já tiveram contato com o vírus. Já a Qdenga®, registrada em março de 2023, é recomendada para a população entre 4 e 60 anos de idade independente de ter se infectado previamente com o vírus dengue. Contudo, estudos revelaram que Qdenga® não é eficaz contra o sorotipo 3 e, para os demais sorotipos combinados, apresentou eficácia limitada de 66,2% e de 76,1% para indivíduos soronegativos e soropositivos, respectivamente (Brasil., 2023). Já para a Zika e Chikungunya não existem vacinas disponíveis para imunização da população. Nesse sentido, destaca-se a importância do controle do mosquito no controle dessas doenças.

1.2. Controle químico de *Aedes aegypti* no Brasil: um breve histórico

O combate ao *Ae. aegypti* no Brasil data do início do século XX com atenção justificada pelo impacto desse mosquito no cenário da febre amarela (FA) no ambiente urbano. A primeira campanha, institucional e sistemática, contra este mosquito foi capitaneada no início do século XX, entre 1902 e 1907, pelo pesquisador Oswaldo Cruz tendo como foco identificar e eliminar os criadouros do mosquito nos locais com epidemia do vírus amarílico (Franco, 1976).

Em 1923 não havia uma vacina com a qual se pudesse imunizar a população contra o vírus amarílico, observando-se uma letalidade no Brasil próxima a 50%. Nesse período, a Fundação Rockefeller conduziu uma campanha com o foco no vetor do vírus - *Ae. aegypti*. Para tal, foi usado como larvicida o arsenito de cobre, popularmente conhecido como

composto Verde de Paris, um inseticida sintético orgânico altamente tóxico para o meio ambiente e grupos não alvo (Soper, 1965).

Em 1947 o verde de Paris foi substituído pelo organocloradoⁱ (OC) Diclorodifeniltricloroetano (DDT) junto a “Campanha Continental para a Erradicação do *Aedes aegypti*” coordenada pela Organização Sanitária Pan-Americana (OSP) em parceria com o Serviço Nacional de Febre Amarela (SNFA). Destaca-se em relação ao DDT que ele foi desenvolvido em 1939, sendo adotado a partir de 1941 para o controle de pragas agrícolas no mundo e, em seguida, durante a segunda guerra mundial, para a eliminação de piolhos e mosquitos pensando no tifo murino e na malária, respectivamente (Magalhães, 2016).

Em 1947 foi criado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) em parceria com a Organização Mundial da Saúde (OMS) o “Programa de Erradicação do *Ae aegypti* no Hemisfério Oeste”. Tal iniciativa, ao longo das décadas de 1940 e 1950, se traduziu na eliminação desse mosquito do continente americano à exceção de Cuba, Colômbia, Estados Unidos da América, Haiti, Jamaica, República Dominicana, Suriname e Venezuela (Soper, 1965). O Brasil estava na lista de países que eliminaram o *Ae. aegypti* datando, tal feito, de 1955. Até 1956 o combate de *Ae. aegypti* foi realizado pelas equipes dedicadas ao controle de malária, sendo essa atividade absorvida a partir de 1956 pelo Departamento Nacional de Endemias Rurais (DENERu) e, em 1967, pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) (Brasil, 1980).

Em simultâneo às tentativas de combate ao *Ae. aegypti* pensava-se na imunização da população como forma de conter a FA. O primeiro relato da tentativa do desenvolvimento de tal vacina data do final do Século XVIII sendo, de fato, concretizada em 1937 pelo microbiologista sul-africano Max Theiler na Fundação Rockefeller em Nova York. Na ocasião, o imunógeno foi testado no Brasil, no município de Varginha (Minas Gerais), tendo-se observados bons resultados, traduzindo-se, portanto, de 1937 a 1968 na vacinação de

ⁱ Os inseticidas organoclorados são moléculas constituídas de dois anéis de fenil com substituições na posição para e entre eles, por uma ponte de metileno (Davies et al, 2007). Em específico, o DDT e inseticidas similares agem no sistema nervoso periférico, se ligando e impedindo o fechamento dos canais de sódio dos neurônios. Levando a um estado de hiperexcitabilidade dos neurônios e conseqüente morte do inseto (Holan, 1969; Narahashi et al, 1969). Por outro lado, existem também os inseticidas alicíclicos clorados. Esse grupo é constituído de compostos com anel policlorados em sua estrutura. Eles se ligam ao receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA), inibindo o fluxo de íons cloreto para o neurônio, impedindo a atuação de neurônios inibidores gabaérgicos, resultando em hiperexcitabilidade (Lawrence & Casida, 1983; Bloomquist & Soderlund, 1985, Coats, 1990). O efeito de incapacitação do inseto antes da sua morte é observado nos inseticidas do tipo DDT, sendo isso conhecido como efeito *knockdown* (Milani, 1956).

42.937.242 brasileiros (Franco, 1976). Dessa forma, em 1942 foi registrado o último caso de FA de ciclo urbano no país (Brasil, 2021).

Em 1967, doze anos após a eliminação do *Ae. aegypti* do Brasil, ele foi novamente observado no país mostrando-se presente em 24 municípios do Pará, incluindo a capital, Belém (Franco, 1976). Nessa época já eram descritas no Brasil populações que apresentavam mortalidade reduzida ao DDT (Camargo, 1967; Franco, 1976) tendo sido detectadas populações de *Ae. aegypti* resistentes em vários países que o utilizavam para controle vetorial. Contudo, o primeiro relato de resistência ao DDT data de 2003 de uma população de Belém (Pará) (RR₉₅ 54) (Bregues 2003).

Devido aos relatos de resistência ao DDT em várias partes do mundo e da possibilidade de resistência no Brasil, atrelado a elevada toxicidade dos OC, eles foram substituídos por uma nova classe de inseticidas: os organofosforados (OP)ⁱⁱ. Contudo, destaca-se que o uso do DDT foi completamente proibido no Brasil apenas em 2009 (Brasil, 2009).

Desse modo, em 1967 iniciou-se no Brasil o uso dos OPs para o controle do *Ae. aegypti*. No Pará e no Maranhão foram adotados o larvicida temefós - único OP liberado pela OMS para uso em reservatórios de água potável - e o adulticida fention. Por consequência, respondendo às atividades voltadas ao controle desse mosquito, em 1973 ele foi eliminado pela segunda vez do país (Franco, 1976). Contudo, em 1976, apenas 3 anos depois, *Ae. aegypti* foi novamente encontrado no território nacional, com reintrodução possivelmente oriunda da região costeira da Bahia (Franco, 1976).

Em 1986 o inseticida carbamato (CB)ⁱⁱⁱ Propoxur havia sido testado para o controle *Culex quinquefasciatus* tendo sido observada mortalidade de 73 a 95% em gaiolas expostas ao ar livre e de 13% em gaiolas expostas no intradomicílio (Gebara et al, 1988). Na ocasião, a presença de *Ae. aegypti* no Brasil havia se tornado mais problemática considerando-se a entrada do vírus da Dengue (sorotipo 1) no país. Isso ocasionou a intensificação do uso de

ⁱⁱ Os inseticidas organofosforados são derivados de ácidos que possuem fósforo (Ware & Whitacre, 2004). Apesar de serem altamente tóxicos para os insetos e apresentarem menor persistência no ambiente, quando comparados com os OCs, a maioria deles ainda sim apresenta alta toxicidade para vertebrados (Bondarenko et al., 2004). Atuam na acetilcolinesterase (AChE) inibindo-a, por meio de fosforilação irreversível na porção serina-hidroxila do sítio alvo da AChE (Metcalf & March, 1949; Casida, 1963; Fukuto, 1990). A inibição da AChE resulta na inibição da hidrólise da acetilcolina, tornando ininterrupto o impulso nervoso que conduz o inseto à superexcitação, seguida de paralisia e, conseqüentemente, na morte (Fukuto, 1990).

ⁱⁱⁱ Os inseticidas carbamatos são derivados do ácido carbâmico (Ware & Whitacre, 2004). Apesar de semelhantes aos OPs por agirem como inibidores da AChE, os CBs causam carbamilação reversível da AChE (Fukuto, 1990). Assim como OPs, são altamente tóxicos a vertebrados, apesar de também persistirem por curto período no ambiente (Bondarenko et al, 2004; OMS, 2010).

inseticidas para o controle do vetor sendo adotado o propoxur (Schatzmayr et al., 1986) junto ao malathion como aduicida de nebulização (Schatzmayr et al., 1986).

Em 1990 foi criada a “Fundação Nacional de Saúde” (FUNASA) que passou a ser responsável pelas ações de controle da dengue e, por conseguinte, do *Ae. aegypti* no país. Frente ao aumento no número de casos de dengue hemorrágica no país, em 1996 foi criado o “Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa).” O PEAa propunha a erradicação do *Ae. aegypti* do Brasil pela terceira vez a partir da ação integrada do MS com outros ministérios. Para isso o plano foi dividido em nove componentes, a saber: 1) entomologia; 2) operações de campo de combate ao vetor; 3) vigilância de portos, aeroportos e fronteiras; 4) saneamento; 5) informação, educação e comunicação social; 6) vigilância epidemiológica e sistema de informações; 7) laboratório; 8) desenvolvimento de recursos humanos; e 9) legislação de suporte. Pensando no vetor, o PEA pretendia erradicar *Ae. aegypti* do território brasileiro com vistas a interromper a circulação dos vírus do Dengue e impedir a reurbanização do vírus da Febre Amarela no Brasil, através de um projeto que envolvesse todas as forças políticas e sociais da nação brasileira. O controle do vetor estava voltado a todas as formas evolutivas do mesmo, trazendo como forte componente a mobilização da população através da informação, da educação e da comunicação em saúde (Brasil, 1996).

Em 1999, o governo brasileiro já havia investido mais de um bilhão de reais no PEAa, porém o plano não havia alcançado as metas esperadas, e o número de casos de dengue, tanto quanto as infestações do mosquito continuavam a aumentar (FUNASA, 2001). Para agravar ainda mais a situação, nesse mesmo ano foi detectada em populações *Ae. aegypti* do Rio de Janeiro (RJ) os primeiros relatos de resistência ao larvicida temefós. Felizmente, na ocasião surgiram os inseticidas piretróides (PI)^{iv}, sendo a cipermetrina o primeiro deles a ser adotado para o controle do mosquito. Na ocasião também foi introduzido o OP aduicida malathion (Macoris et al., 1999).

Foi nesse contexto, voltada, dentre outros objetivos ao estudo e enfrentamento da resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas que surgiu a Rede Nacional de Monitoramento da

^{iv} Os inseticidas piretróides são derivados sintéticos do piretro - substância extraída de crisântemos e que possui ação tóxica para os insetos (Gersdorff, 1947; Lehmedt, 1951). Apresentam menor toxicidade para os vertebrados, quando comparados às demais classes químicas de inseticidas, e efeito residual (Sarles & Vandergrift, 1952; Casida, 1980; Coats, 1990). Os PIs possuem o mesmo mecanismo de ação do DDT, agindo na abertura dos canais de sódio, porém, possuem efeito mais rápido (Narahashi, 1986), além de causarem o efeito *knockdown* nos insetos (Nishizawa, 1971).

Resistência do *Ae. aegypti* aos Inseticidas (Rede MoReNAa). Criada pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em parceria do Ministério da Saúde (MS), aos cuidados da Profa. Dra. Denise Valle, dentre as muitas contribuições da, fruto de anos de trabalho, de muito empenho e qualidade inquestionável, destacam-se: i) a caracterização e o monitoramento do perfil de suscetibilidade/resistência das populações de *Ae. aegypti* de grande parte do território nacional em condições de laboratório e campo e ii) o desenvolvimento de metodologias voltadas a investigação dos mecanismos envolvidos na resistência aos inseticidas. Contudo, ressalta-se o fortalecimento dos laços entre a “pesquisa” e o “serviço” refletindo na capacitação de recursos humanos e na emissão de laudos e portarias que conversavam o controle do mosquito nesses dois espaços de forma rápida e integrada, norteando de forma prática as atividades de controle no campo (Valle et al., 2019).

Em 2001, vários já eram os relatos de resistência de *Ae. aegypti* ao larvicida temefós (Macoris et al., 1999; Braga et al., 2004) motivando a substituição desse larvicida em todo o país pelo biolarvicida *Bacillus thuringiensis israelensis*^v (Bti) (PBH, 2019). O uso de Bti já estava previsto para uso no combate ao *Ae. aegypti* em 1996 no PEAA, onde seria rotacionado com o temefós em caso de resistência ao OP. Além disso, ela era o inseticida usado para o controle de simuliídeos desde 1983 em populações resistentes ao temefós (Neto, 1994; Brasil, 1996). A principal vantagem do Bti era o fato de não ser tóxico em humanos e de ser específica dentro da estratégia de uso para o seu alvo, causando pouco a nenhum dano ambiental (Becker, 2000). Porém a principal desvantagem do Bti é que ele possuía pouca persistência no ambiente (Braga, 2007).

Ainda em 2001, *Ae. aegypti* já era encontrado em todo o território nacional traduzindo sua grande valência ecológica e plasticidade genética, mostrando-se bem adaptado às condições ambientais do país. Dessa forma, tornou-se clara a impossibilidade de erradicação desse vetor do país, voltando-se, portanto, os esforços do MS, ao manejo e controle da espécie. Assim, foi implementado o “Plano de Intensificação das Ações de Controle de Dengue” (PIACD), com foco nas áreas com alta incidência de dengue (FUNASA, 2001). Esse programa teve como meta principal reduzir a taxa de mortalidade de casos de dengue graves

^v O primeiro relato da ação de inseticida de *Bacillus thuringiensis* foi em 1955 na França, e até 1978 foi usado como bioinseticida de pragas agrícolas. Em 1978 descobriu-se uma linhagem altamente tóxica para Culicídeos sendo então chamada de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Polanczyk, 2003). Em relação a *Aedes* no Brasil, segundo Vilarinhos, (1998) as 2 formulações de Bti disponíveis no Brasil na época - Vectobac AS e Teknar – causavam mortalidade de 96% e 100% em *Ae. aegypti* em testes de campo 72h depois da aplicação

para 1%. Estruturado em dez componentes (vigilância epidemiológica; atenção básica e assistência; vigilância entomológica e combate ao vetor; ações específicas de saneamento básico no controle da dengue; ações integradas de educação em saúde e mobilização social; comunicação social; legislação; sustentação político/social; acompanhamento e avaliação do plano; pesquisa aplicada) ele trouxe como novidade em relação ao PEA o foco de ação em municípios considerados prioritários considerando-se os seguintes critérios: a) área com dengue em 2001 e 2002; ser capital de Estado, incluindo sua região metropolitana; b) contar com população igual ou superior a 50.000 habitantes; e c) ser receptivo à introdução de novos sorotipos de dengue (Brasil, 2001).

No ano seguinte, em 2002, com apenas três anos do uso dos PIs, foram detectadas nos Estados do Rio de Janeiro e de Alagoas as primeiras populações de *Ae. aegypti* resistentes (Da-Cunha et al., 2005). Adicionalmente, o PIACD foi substituído pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). O PNCD deu continuidade a algumas propostas do PIACD, apresentando como forte componente vetorial as campanhas de mobilização da população para eliminação dos criadouros do *Ae. aegypti* (FUNASA, 2001). O PNCD se propunha a reduzir: i) a menos de 1% a infestação predial em todos os municípios; ii) em 50% o número de casos de 2003 em relação a 2002 e, nos anos seguintes, 25% a cada ano e iii) a letalidade por febre hemorrágica de dengue a menos de 1%. Ele foi estruturado em 10 componentes (Vigilância entomológica; Combate ao vetor; Assistência aos pacientes; Integração com atenção básica; Ações de Saneamento ambiental; Ações integradas de educação em saúde, comunicação e mobilização social; Capacitação de recursos humanos; Legislação; Sustentação político-social; Acompanhamento e avaliação do PNCD). Diferente do PIACD, o PNCD pretendia atuar em todos os municípios brasileiros, porém ainda manteria focalização em municípios prioritários que sejam a) Capital de estado e sua região metropolitana; b) Município com população igual ou superior a 50.000 habitantes; e c) Municípios receptivos à introdução de novos sorotipos de dengue (fronteiras, portuários, núcleos de turismo etc.)(Brasil, 2002).

Em 2009, já eram conhecidas populações de *Ae. aegypti* resistentes ao larvicida temefós em todo o país (Valle et al, 2019), resultando na substituição desse inseticida, bem como do biolarvicida Bti, pelos reguladores de desenvolvimento (IGR)^{vi} diflubenzuron e

^{vi} Em geral, os IGRs apresentam baixa toxicidade em vertebrados, sendo tóxicos apenas para os artrópodes e alguns fungos (Estrada & Mulla, 1986). Diferentemente dos inseticidas clássicos pertencentes aos quatro grandes grupos (OC, OP, CB, PI), os IGRs não agem no sistema nervoso do inseto, mas sim, no desenvolvimento das formas imaturas. Eles podem agir inibindo a síntese de quitina (ex.: o diflubenzuron e o

novaluron. Os IGRs começaram a ser utilizados pensando no controle vetorial de *Aedes* em zonas rurais em 1972 com o metopreno (Chamberlain, 1975). Contudo, só foram, de fato, adotados no controle do *Ae. aegypti* em 2009 após confirmação sua eficácia em testes de campo e semicampo, em 2005, do methopreno e piriproxifeno, capazes de eliminar os insetos em até 4 semanas pós aplicação e do diflubenzuron e do triflumuron, de 7 a 8 semanas após aplicação. Destaca-se a maior persistência no ambiente do IGR quando comparado ao Bti (Brasil, 2005; Valle, 2019)

Infelizmente em 2012 a Rede MoReNAa teve suas atividades encerradas, representando uma grande perda para o entendimento da resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas, bem como para controle desse vetor em todo o país.

De 2003 a 2014 o Temefós foi o larvicida preferencial a ser usado no país, sendo que os inseticidas introduzidos após ele, como Bti em 2002 e IGRs em 2009, foram adotados em conjunto com ele, principalmente em municípios em que se detectou resistência ao OP (Valle, 2019). A partir de 2012, o MS da Saúde adotou a estratégia de rotacionar (alternar) os inseticidas para tentar conter a resistência sendo, em 2014 o temefós totalmente substituído pelos IGRs (Valle, 2019). Atenta-se que em 2013, o diflubenzuron e o novaluron foram substituídos pelo análogo de hormônio juvenil (AHJ) piriproxifeno (Brasil, 2014).

Por sua vez, em 2018, detectou-se a alteração de suscetibilidade de *Ae. aegypti* da região Bahia (RR₉₅ 3,6) ao larvicida piriproxifeno e a resistência em todas as regiões do país ao adulticida malathion, resultando, em 2019, na substituição desses inseticidas. O Piriproxifeno foi substituído pelo NatularTM DT (espinosade - Clark®)^{vii} que utilizada a toxina de *Saccharopolyspora spinosa*. Já o adulticida malathion foi substituído por dois produtos recomendados para ocasiões distintas: i) Cielo® Ultra baixo volume (PI praletrina 0,75% + neonicotinóide NE imidacloprida 3% - Clarke) recomendado para o controle de adultos do mosquito em situações de emergência,

novaluron) ou como análogos do hormônio juvenil (AHJ) (ex.: o piriproxifeno e o metopreno) (Graf et al, 1993). Os inibidores da síntese de quitina agem como inibidores competitivos da quitina sintase, inibindo a etapa de polimerização da quitina. Isso resulta na má formação do inseto e, dependendo da concentração, na morte, devido à alta pressão da hemolinfa e da tração muscular que não consegue ser suportada devido à falta de quitina (Cohen et al., 1987). Por sua vez, os AHJs agem como agonistas do hormônio juvenil, que é responsável por várias funções no inseto, incluindo inibir a produção de ecdisona. A inibição da ecdisona ocasiona na ocorrência de defeitos morfológicos e fisiológicos nos insetos (Wigglesworth, 1934; Wilson, 2004). Tanto no caso dos inibidores da síntese de quitina, quanto no caso dos AHJs, a morte do inseto não é imediata como observado nos inseticidas clássicos, mas sim, demanda tempo para que haja alteração do desenvolvimento das formas imaturas de forma a afetar principalmente a metamorfose do inseto (Graf et al., 1993).

^{vii} As espinosinas agem de forma são inseticidas complexos derivados de toxina bacteriana. Assim como os neonicotinóides, agem sobre os receptores nicotínicos da acetilcolina, resultando na contínua excitação da membrana do neurônio, porém também possuem como alvo secundário os receptores GABA. Seu efeito leva a paralisação e conseqüente morte do inseto. Estes inseticidas também apresentam baixa toxicidade para mamíferos, porém alta toxicidade para artrópodes (Scott, 2008)

quando o controle preventivo não for suficiente e ii) Fludora® Fusion pó molhável (PI deltametrina 6,25% + NE clotianidina 50% - Bayer) para o tratamento de pontos estratégicos (Brasil, 2019).

Frente a resistência aos inseticidas, fenômeno cada vez mais relatado em *Ae. aegypti*, faz-se urgente o desenvolvimento de novas estratégias de controle que não a química. Primeiro porque a resistência aos inseticidas compromete diretamente o controle vetorial, desdobrando-se conseqüentemente no aumento da incidência/prevalência das doenças as quais eles estão relacionados. Segundo porque frente a um quadro de resistência, por desconhecimento, observa-se aumento do uso de inseticidas, traduzindo-se em uma maior contaminação do meio ambiente, na mortandade de espécies não alvo do controle, além de pressionarem ainda mais a população de interesse, fixando os genes da resistência. Por conseqüência, observa-se uma diminuição da disponibilidade de inseticidas que tem efeito sobre as populações, elevando os custos para o controle do inseto alvo. Adicionalmente, não se pode desconsiderar que o desenvolvimento de um novo inseticida, na maioria das vezes, é um processo demorado, oneroso e caro. Portanto, incentiva-se o uso de forma racional dos inseticidas, prolongando a vida útil deles na linha temporal (Bregues, 2003, Macoris et al, 2010; Macoris et al, 2014; Moyes et al, 2017; Brasil et al, 2019; Valle et al, 2019; Costa, 2020; OMS, 2023).

Nesse sentido, destaca-se a importância do controle biológico. Ele tem por racional o uso de inimigos naturais, que podem ser insetos, predadores, parasitoides e microrganismos tais como fungos, vírus e bactérias para realizar o controle do modelo alvo. Trata-se de uma estratégia comumente utilizada na agricultura para o controle de pragas. Ele tem por vantagem não deixar resíduos no ambiente (ou seja, não contaminar o ambiente) além de ser inócuo à saúde da população. Contudo, como desvantagem, pensando-se na logística, há de se considerar a impossibilidade de implantação desse tipo de controle em áreas muito extensas. Adicionalmente ele demanda conhecimentos aprofundados dos modelos biológicos envolvidos e da dinâmica desses no ambiente (Hoy, 1985; Brasil, 2009; Brasil, 2019; Shulze, 2013; Zara, 2016; Achee et al, 2019)

No Brasil, a primeira alternativa de controle biológico de *Ae. aegypti* data de 2001 com a introdução do Bti. Contudo destaca-se que outras estratégias para controle biológico foram avaliadas. Nesse contexto, entre 2001 e 2002, no município de Canindé, (Ceará) foram utilizados peixes *Betta splendens* para o controle de larvas de *Ae. aegypti* em tanques

d'água. tendo observado uma redução da infestação de 71% para 0,2% (Pomplona et al, 2004). Os peixes *Be. splendens* sobreviveram nos tanques por até 183 dias, mostrando-se 85% mais eficientes na eliminação das larvas do mosquito quando comparado ao Bti (Lima et al, 2010). Tal estratégia foi adotada em parte do país, contudo a complexidade de sua logística, não permitiu a adoção dessa estratégia em larga escala.

Ainda pensando no controle biológico, Bouyer et al, (2020) avaliaram em 2018 o impacto da liberação de machos estéreis, observando aumento de 50% de ovos inviáveis em campo após liberação de mosquitos machos estéreis por meio de drones. Essa tecnologia consiste na produção e liberação em massa de machos do mosquito esterilizados, normalmente por irradiação ou modificação genética, que ao copularem com fêmeas selvagens vão resultar na postura de ovos inférteis. Os machos estéreis têm de ser liberados em grande número para que tenham maior probabilidade de copular com uma fêmea quando comparados aos machos selvagens. Trata-se de estratégia não sustentável que pressupõe a soltura continuada de insetos estéreis (Thome, 2010; Zhang, 2015; Atyame, 2016; Gato, 2021; Klassen, 2021) pressupondo, assim, a existência de uma biofábrica de mosquitos com vistas a produção deles.

Uma técnica semelhante à dos machos estéreis se baseia na modificação dos machos com um gene letal para fêmeas (Thome, 2010). Os machos são homozigotos para um gene dominante letal e, ao se acasalarem com uma fêmea selvagem, resulta em uma prole que não é capaz de alcançar a fase adulta (Phuc, 2007). Genes *auto-sexing*, que são letais apenas no desenvolvimento de fêmeas também podem ser adotados pensando-se nessa metodologia, permitindo a liberação de ovos, pois se sabe que larvas fêmeas que eclodirem serão incapazes de completar seu ciclo (Spinner et al, 2022). O uso deste método tem a vantagem de ser mais eficiente na supressão da população, uma vez que a prole resultante do acasalamento do macho modificado com uma fêmea selvagem também será de machos carregadores do gene. No Brasil, já se observou a supressão de 96% na população de *Ae. aegypti* em locais onde se realizou liberação de mosquitos geneticamente modificados (Thorne, 2010; Carvalho, 2015; Spinner, 2022).

Por fim, uma estratégia muito conhecida atualmente é o “método *Wolbachia*”. Trata-se de uma metodologia que tem sido desenvolvida no Brasil pela Fundação Oswaldo Cruz em parceria com o MS e o World Mosquito Program (WMP). *Wolbachia* é uma bactéria intracelular, que se mostrou útil no bloqueio da infecção pelos vírus da Dengue, Zika e

Chikungunya em *Ae. aegypti*. Acredita-se que *Wolbachia*, por ser uma bactéria intracelular, compete com os vírus supracitados por ácidos graxos (ex. colesterol) necessários à replicação viral e regula de forma aumentada as rotas do sistema imune do inseto. Adicionalmente, discute-se a possibilidade de a bactéria interferir no processo de entrada do vírus Dengue na célula do mosquito (Thomas, 2018). *Wolbachia* tem transmissão vertical, sendo que as fêmeas transmitem a bactéria para a prole no ovário. Para ajudar a se estabelecer em novas populações, a bactéria também tem a capacidade de gerar incompatibilidade citoplasmática entre machos infectados e fêmeas não infectadas, desta forma somente a prole entre machos infectados e fêmeas infectadas, ou entre machos não infectados e fêmeas infectadas sobrevivera. Trata-se de uma estratégia sustentável que prevê na linha temporal a manutenção de mosquitos com a bactéria na natureza sem necessidade de solturas continuadas (Dorigatti et al, 2017). Vale destacar que não se trata de uma tecnologia para o controle de *Ae. aegypti*, mas sim das doenças a ele relacionados uma vez que mosquitos continuarão na natureza, contudo, sem o vírus (Walker, 2011; Hoffman, 2014; Bourtzis, 2014; Dutra, 2015).

1.3. Resistência de *Aedes aegypti* aos inseticidas

A resistência a um inseticida se traduz em uma diminuição da mortalidade observada na população submetida a um tratamento constante. Trata-se de uma característica que se manifesta com o predomínio de indivíduos que toleram doses letais, sobre indivíduos chamados sensíveis nas primeiras aplicações do produto, ocasionando pressão de seleção nas populações. Este fenômeno tem como base a variabilidade genética das populações naturais a partir da qual, por pressão do inseticida, determinados fenótipos podem ser selecionados e, conseqüentemente, aumentarem em frequência (Tabashnik & Roush 1990).

O primeiro relato de resistência de *Ae. aegypti* a inseticida data de 1956 em Trinidad (Caribe), onde foi observado que as populações de campo apresentaram menor mortalidade ao inseticida DDT (Gilkes et al., 1956). Desde então, a frequência dos relatos vem aumentando, abarcando, assim, praticamente todos os países onde esse mosquito está presente. O maior número de população de *Ae. aegypti* resistentes aos inseticidas - principalmente ao temefós e a deltametrina - está concentrado no sudeste asiático e na América Latina (Ranson et al., 2010; Moyes et al., 2017). No Brasil, há diversos relatos de populações desse mosquito resistentes - principalmente ao temefós (razões de resistência 95% -RR₉₅ variando de 1,2 a 254,9) e a Deltametrina (RR₉₅ de 6,0 a 110,0). Esses estudos se concentram em populações presentes nas regiões Sudeste e Nordeste do país, contudo tratam-se de áreas mais estudadas,

não se podendo descartar a existência da resistência em outras regiões (Smith et al., 2016; Moyes et al., 2017; Valle et al., 2019).

Em *Ae. aegypti* já foram relatados como mecanismos responsáveis pela resistência aos inseticidas os de origem bioquímica, de modificação do sítio alvo e de alteração cuticular (Brogdon & McAllister, 1998).

Os mecanismos bioquímicos da resistência se fazem perceber por um aumento significativo da atividade das enzimas detoxificativas. Trata-se de um complexo multienzimático do qual as principais enzimas são as esterases (EST), as oxidases de função mista (OFM, conhecidas também por P450) e as glutatona S-transferases (GST). No processo de detoxificação destaca-se a fase I (de modificação química da molécula exógena, ou seja, aquela molécula como entrou no organismo), a fase II (de conjugação) e a fase III (compartimentalização e/ou excreção dos metabólitos não tóxicos gerados). As enzimas de fase I, a exemplo das OFM e EST, introduzem um grupo reativo polar na molécula de inseticida, por reações de oxidação e hidrólise, respectivamente. Os produtos resultantes dessa reação podem ser excretados diretamente ou sofrer reações de conjugação até se tornarem moléculas solúveis passíveis de serem eliminadas. As reações de conjugação são conhecidas por reações de Fase II, sendo realizadas pelas GSTs. Destaca-se que as enzimas detoxificativas agem de maneira integrada, diminuindo a quantidade do inseticida e seu tempo de permanência no organismo do inseto. Neste contexto, os mecanismos bioquímicos da resistência se fazem perceber por um aumento na detoxificação do inseticida por amplificação gênica, expressão alterada ou modificação estrutural (Figura 5). Na amplificação gênica o indivíduo resistente ao inseticida, quando comparado ao indivíduo suscetível, apresenta mais genes que codificam mais proteínas detoxificativas, detoxificando, conseqüentemente, uma maior quantidade de inseticida. Pensando na expressão alterada, tanto os insetos resistentes quanto suscetíveis apresentam o mesmo número de genes codificadores de proteínas detoxificativas. Contudo, o número de proteínas produzidas nos insetos resistentes é maior, quando comparada ao observado nos indivíduos suscetíveis, traduzindo-se conseqüentemente, na detoxificação de uma maior quantidade de inseticida. Finalmente, na modificação estrutural tanto os insetos resistentes quanto suscetíveis apresentam o mesmo número de genes codificadores de proteínas detoxificativas. Contudo, o gene dos indivíduos resistentes é mutado, quando se compara aos indivíduos suscetíveis, dando origem a uma proteína mutante, mais eficiente na detoxificação dos inseticidas (Hemingway & Ranson, 2000; Ranson et al.,

2002; Hemingway et al., 2004). Trata-se de uma resistência bastante plástica uma vez que estas enzimas têm funções parcialmente redundantes, somado ao fato de serem codificadas por superfamílias gênicas (Montella et al., 2007; Hemingway & Ranson, 2000; Ranson et al., 2002; French-Constant et al., 2004; Ranson et al., 2012; Medeiros, 2011; Strode et al., 2008; Melo Santos et al., 2010; Braga et al., 2005; Polson et al., 2011).

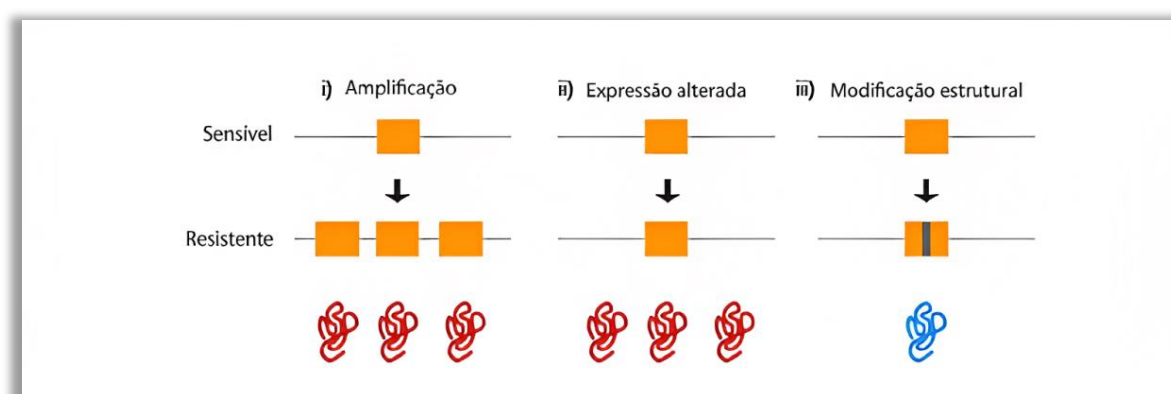


Figura 5. Principais modificações que resultam em maior atividade enzimática na resistência metabólica: i) amplificação gênica; ii) expressão gênica alterada e iii) modificação estrutural. Fonte Torres et al, 2013 adaptado.

No passado, a avaliação da resistência metabólica era realizada através de ensaios colorimétricos que quantificavam a atividade de EST, MFO e GST, a partir da utilização de um número limitado de substratos. Nesses ensaios, a detecção do nível de atividade enzimática superior a 15% da população de campo em relação a LRS, incriminava-a como com atividade aumentada. Contudo, não se verificava correlação entre resistência e os substratos utilizados (Montella et al., 2007; Hemingway & Ranson, 2000; French-Constant et al., 2004; Ranson et al., 2012; Medeiros, 2011; Strode et al., 2008; Melo Santos et al., 2010; Braga et al., 2005; Polson et al., 2011). Nesse sentido, Strode et al (2008) utilizaram da sequência genômica de *Ae. aegypti* (Nene et al., 2007) para caracterizar de forma mais abrangente estas famílias. A partir desta caracterização, os pesquisadores construíram o *Aedes Detox Chip* - técnica de micro arranjo onde são utilizadas sondas de DNA fixadas em um microchip – utilizando 204 dos 235 genes possivelmente envolvidos com detoxificação em *Ae. aegypti*. Esta técnica os permitiu identificar genes específicos cuja expressão é elevada em populações resistentes aos inseticidas. Ao compararem a diferença de expressão dos genes no *Aedes Detox Chip* de duas LRS e duas populações resistentes a PIs, os pesquisadores observaram que 33 genes apresentaram uma expressão constitutivamente mais elevada em

uma ou em ambas as populações resistentes, sendo que 18 (54%) pertenciam à família CYP9 de P450s ou à classe Épsilon de GST, sem relação entre o grau de resistência e o nível de expressão. A partir desse momento, os estudos foram interrompidos sendo os esforços direcionados a um melhor entendimento dos substratos que podem estar, de fato, envolvidos na resistência.

Por sua vez, a resistência conhecida como do sítio alvo, se faz perceber por mudanças em resíduos de aminoácidos no sítio-alvo de ligação dos inseticidas, comprometendo a ligação entre eles diminuindo ou anulando, assim, seus efeitos sobre o inseto (Brogdon & McAllister, 1998). Em *Ae. aegypti*, desde a introdução dos PIs, tem sido comum a detecção de mosquitos resistentes que não sofriam paralisia seguida de morte, ou que apresentavam uma paralisia momentânea, cujo fenótipo ficou como conhecido *Knockdown resistance (Kdr)* (Busvine & Barnes, 1957; Milani, 1954). Nesse caso, a resistência tem sido ocasionada por mutações no gene dos canais de sódio dependentes de voltagem (Na_v), sendo que os alelos são recessivos e podem persistir em baixos níveis na população mesmo após a suspensão dos inseticidas no campo por longos períodos (Davies et al., 2007). Em *Ae. aegypti* já foram observadas as mutações V410L (Haddi et al, 2017), G923V, L982W, S989P, I1011M/V, V1016G/I (Bregues et al, 2003; Srisawat et al, 2010), T1520I, F1534C/L (Kushwah et al, 2015, 2020; Yanola et al, 2010) e D1763Y no domínio IV (Chang et al, 2009) (Figura 6). Diferentemente, até o momento foi relatada apenas uma mutação na acetilcolinesterase, sítio alvo dos CBs e OPs - G119S no ace-1, tendo sido descrita em populações *Ae. aegypti* coletados em 2011 em Namakkal (Índia) resistentes ao temefós (RR₉₀ 16,7) (Muthusamy & Shivakumar 2015).

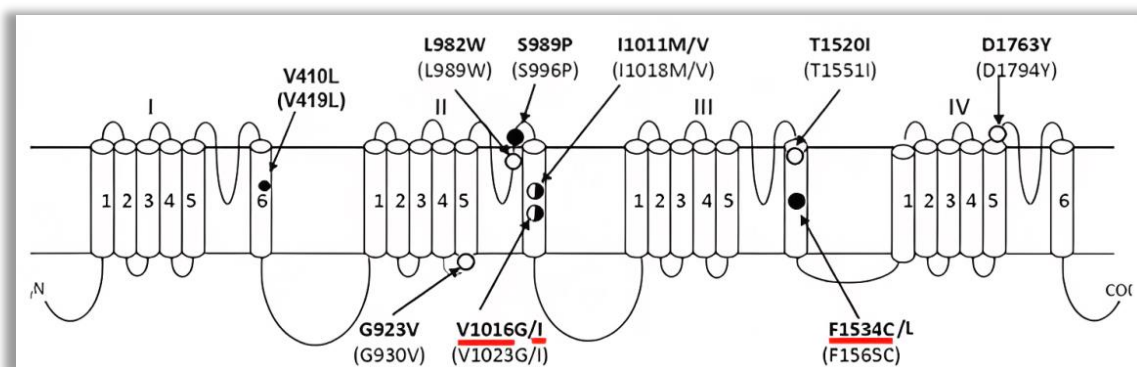


Figura 6. Desenho esquemático do canal de sódio indicando-se as mutações descritas para *Aedes aegypti* relacionadas a resistência aos inseticidas.

Por fim, um mecanismo de resistência aos inseticidas já descrito em alguns vetores, contudo com importância ainda pouco compreendida, é a alteração cuticular. Pressupõe-se que devido ao espessamento e/ou a modificação na composição, a cutícula se apresenta menos permeável à entrada dos inseticidas. Esse mecanismo foi descrito em *Ae. aegypti* por Matsumura & Brown (1963) que observaram uma redução na taxa de absorção de inseticidas OP (malathion) e OCs (DDT e dieldrin) em mosquitos que passaram por seleção artificial com malathion por 5 gerações. Adicionalmente, Samal et al (2020) após pressionarem artificialmente uma população suscetível indiana por 10 gerações com o PI deltametrina e o NE acetamiprida observaram por microscopia eletrônica de varredura uma associação entre o espessamento cuticular em larvas de *Ae. aegypti* e a resistência a PI (– aumento de 1,91x - RR₅₀ 9,9) e a NE (aumento de 1,47x - RR₅₀ 17,7).

Uma característica da resistência aos inseticidas, é que os indivíduos resistentes apresentam um custo adaptativo na ausência do ativo químico. Isso ocorre uma vez que, as adaptações responsáveis pela resistência nas populações causam perda de *fitness* no inseto, sendo que as mutações são benéficas apenas na presença dos inseticidas. Nesse sentido, Paris et al (2011) observaram um aumento médio de 1 a 2 dias no tempo de desenvolvimento larval em *Ae. aegypti* após seleção de resistência a toxinas do Bti (RR₉₅ 8 a 847,4) e redução de 20% no número de pupas presentes no sexto dia após eclosão de mosquitos selecionados com deltametrina (20 a 40% mortalidade a DD 1,5ug/garrafa) (Martins et al, 2012). Já em adultos, foi observada uma diminuição do tempo de vida de *Ae. aegypti* resistentes a deltametrina (20 a 40% mortalidade a DD 1,5ug/garrafa) e ao diflubenzuron (RR₉₅ 3,7) em 20% e 26%, respectivamente (Martins et al., 2012; Bellinato et al, 2015). Referindo-se ao repasto sanguíneo, Belinato et al, 2012; 2015) demonstraram que *Ae. aegypti* resistentes ao temefós (RR₉₅ 7,4 e 19,2) e ao diflubenzuron (RR₉₅ 3,7) apresentaram taxa de ingestão de sangue/repasto sanguíneo, 15% e 11 a 25% respectivamente, menor que LRS, resultando em uma redução de ~20% na taxa de oviposição.

Em *Ae. aegypti*, a resistência aos inseticidas apresenta evolução rápida de uma geração para outra. Na ausência do inseticida, a regressão da resistência pode demandar um período relativamente longo de desenvolvimento na ausência do ativo químico. Brito et al. (2013) demonstraram que, uma população de *Ae. aegypti* que possuía as mutações Val1016Ile e Phe1534Cys, quando mantida sem contato com inseticida, teve uma queda na frequência desses alelos de 75% para 30% em 15 gerações. Destaca-se, contudo, que foram observadas

populações no campo que mantiveram elevados níveis de resistência mesmo após anos sem a exposição ao inseticida voltado ao controle vetorial. Macoris et al. (2018) avaliaram a resistência de populações de *Ae. aegypti* de sete áreas de São Paulo a Deltametrina. Os insetos foram coletados em 7 áreas nas quais, entre 2006 e 2014, não foram utilizados PIs pelo programa de controle. Foi detectada resistência em todas as populações (mortalidade < 80% a DD; RR₉₅ 40,4 - 94,8) sendo atribuída a alteração de ESTs, MFO e GST e redução na frequência de alelo suscetível do gene Na_v.

Acredita-se que em *Ae. aegypti*, a manutenção da resistência em populações do campo, mesmo sem a pressão do uso do inseticida por programas de controle, possa ser explicada pelo uso de inseticidas domésticos pela população. Entre 2015 e 2018, Garcia et al. (2019) observaram o efeito direto do uso intensificado de inseticidas domésticos por parte da população sobre a resistência a PI em *Ae. aegypti*. Em 2014, foi realizada pelo projeto *Wolbachia* a primeira liberação de mosquitos transinfectados com a bactéria em Tubiacanga (Rio de Janeiro). Tratavam-se de insetos com a linhagem da bactéria de interesse, contudo, sem o *background* genético da população do campo. Nesse contexto, após 19 semanas com o fim da liberação dos mosquitos no campo, a frequência da *Wolbachia* diminuiu. Ao investigarem as causas, os autores foram informados pela população, que durante o período avaliado houve um aumento no consumo de inseticidas domésticos pelos moradores das regiões de estudo. Como os mosquitos eram suscetíveis, eles foram mortos. Dessa forma, em 2016 foi feita uma nova liberação de mosquitos com *Wolbachia*, que desta vez possuíam o *background* genético da população local incluindo a resistência aos inseticidas. Vencidas 21 semanas da liberação dos insetos observou-se um aumento da frequência de alelos de resistência na população do campo, especialmente de alelos R2 Kdr, permitindo-se inferir que novamente os moradores haviam intensificado o uso de inseticidas domésticos.

Considerando que o uso de inseticidas seleciona indivíduos resistentes, é esperado que a resistência impacte no aumento da incidência das arboviroses relacionadas a tais vetores. No Brasil, em 2010, na cidade de Boa Vista (Roraima) foi detectada inicialmente uma epidemia de dengue com os sorotipos 1 e 2 circulando, tendo sido registrados 4226 casos de dengue. Sete semanas após, foi detectado o sorotipo 4, sorotipo esse não detectado no país desde há aproximadamente 30 anos (Temporão et al, 2011). Com o intuito de impedir que o sorotipo 4 se proliferasse para outras regiões do país, o governo intensificou as ações de controle na cidade, por meio da eliminação de criadouros e de uso de inseticidas -larvicida IGR

diflubenzuron 0,25mg/L e o adúlticida PI deltametrina 2% como UBV. Nesse cenário, populações de áreas onde houve a intensificação do uso de inseticidas e onde não houve, tiveram a suscetibilidade a deltametrina avaliada. Os bioensaios foram realizados antes (2 semanas antes da intervenção química), durante (nas 4 semanas) e após (3 meses e 6 meses) a intervenção com o inseticida. Antes e durante a o uso de inseticidas as populações se mostraram resistentes (RR_{90} 15,8 e 15,9 e 10,5 e 14,7) com perfis semelhantes entre elas e na linha temporal. Contudo, nas avaliações de 3 e 6 meses após a intervenção química, observou-se um aumento da resistência tanto na zona com intervenção (RR_{90} 35,7 e 38,1) quanto na zona sem intervenção (RR_{90} . 29,1 e 38,8) Adicionalmente, também foi observada perda de heterogeneidade nas populações. Em simultâneo a deltametrina, foi avaliada a resposta ao temefós, sendo que ambas as populações se mostraram suscetíveis. Foi atribuída à resistência aos inseticidas o efeito limitado das atividades de controle, possibilitando no espalhamento do sorotipo 4 pelo país (Maciel-de-Freitas et al. 2014).

Ainda nesse sentido, Su et al, (2019) descreveram tal relação tendo-se como foco *Ae. albopictus*. Em 2014, houve um surto de dengue na cidade chinesa de Cantão, onde foram registrados mais de 37.000 casos da doença. Durante o período de intensificação do uso de inseticidas no qual mais de 27 toneladas de PIs foram usados em UBV, assim como grandes quantidades dos OPs temefós e fenthion, avaliou-se a resistência de *Ae. albopictus*, principal vetor do Vírus da Dengue na Ásia. Foi observada resistência a deltametrina (mortalidade a DD 43,5% a 73,8%), betacipermetrina (mortalidade a DD 70,9% a 84,4%), cipermetrina (DD 6,2% - mortalidade 74,7 a 94,7%), DDT (mortalidade a DD de 11,7% a 33,3%), ao temefós (mortalidade a DD 85,1% a 91,5%) e suscetibilidade ao propoxur (mortalidade a DD 97,8 a 100%) (Yiguan, 2016). Essas populações de mosquito foram monitoradas de 2015 a 2017 sendo observado o agravamento do quadro da resistência estendendo-se a inseticidas anteriormente não avaliados (deltametrina, piriproxifeno, malathion, permetrina e bendiocarb). Os insetos só se mostraram suscetíveis ao Bti e ao hexaflumuron. Em relação a deltametrina a resistência se estabeleceu de forma rápida: em 2016 as populações eram suscetíveis, em 2015 já estavam resistentes. Adicionalmente verificou-se uma perda de heterogeneidade nas populações de 2016 e 2017. A resistência dos mosquitos impactou na efetividade das atividades de controle, que por sua vez se traduziu em um aumento na incidência de dengue entre os anos de 2015 e 2017. Foram reportados 108 novos casos distribuídos em 31 divisões administrativas em Cantão em 2015, este número subiu para 253

casos em 61 divisões administrativas em 2016 e finalmente 950 casos em 122 divisões administrativas em 2017 (Su et al, 2019).

Alguns estudos sugerem que a resistência aos inseticidas impacta no aumento da incidência das doenças relacionadas aos vetores em questão devido a manutenção de maiores níveis populacionais do vetor durante as epidemias (Maciel-de-Freitas et al, 2014). No entanto, estudos recentes têm demonstrado que a presença de resistência em mosquitos também tem impacto na competência vetorial do inseto. O aumento da CV é bem evidenciado em *Anopheles* sp. (Alout et al, 2013; Kabula et al, 2016; Alout et al, 2014), porém foi pouco estudada em *Aedes* sp. Smartt & Shin (2021) observaram que *Ae. aegypti* resistentes à permetrina (RR₅₀ 23,7) apresentavam maior taxa de disseminação do DENV-1 (71%) quando comparados aos mosquitos suscetíveis (30,7%). Semelhantemente, Serrato et al (2022) observaram que *Ae. aegypti* resistentes a lambdacialotrina (38% mortalidade a DD) apresentavam maior taxa e eficiência de disseminação do DENV-1 (4 e 9 vezes mais) quando comparados aos mosquitos suscetíveis, contudo, não foi detectada diferença pensando em DENV-2 e CHIKV. Campos et al (2022) observaram que mosquitos resistentes a piriproxifeno foram menos suscetíveis a infecção por ZIKV.

2. JUSTIFICATIVA

Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) é um mosquito urbano e cosmopolita, mais frequentemente encontrado nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre apresentando, contudo, faixa de distribuição ampliada para regiões de clima temperado devido ao aquecimento global (Kamal, 2018). Apesar de não ser um inseto autóctone, no Brasil este mosquito está presente em todo o território nacional sem a possibilidade de erradicação uma vez que está muito bem adaptado aos diferentes cenários ambientais disponíveis. Sua importância em saúde humana está relacionada ao fato de ser vetor de vírus com significativo impacto na saúde pública no país, tais como Dengue, Zika e Chikungunya. A título de exemplificação, no país em 2022 foram registrados 1.450.270 casos prováveis de dengue, 174.517 de Chikungunya e 9.204 de Zika (Brasil, 2023). Contudo, somente em 2023, até o dia 8 de maio, em Minas Gerais foram registrados 285.955 casos prováveis de dengue, 58.076 de Chikungunya e 239 de Zika. Indiscutivelmente, essas arboviroses impactaram e continuam impactando de forma significativa na saúde da população, onerando os cofres públicos, mas acima de tudo, desafiando os gestores de saúde na busca por soluções racionais, factíveis e, de fato, resolutivas.

Pensando na perspectiva da imunização da população ainda não se tem disponíveis vacinas contra os arbovírus em questão. Dessa forma, o controle dessas doenças está diretamente relacionado ao controle do vetor – *Ae. aegypti*. No Brasil, o controle de *Ae. aegypti* está aos cuidados da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (SVSA) do MS, mais especificamente pelo Departamento de Arboviroses. É recomendado o controle mecânico através da eliminação dos criadouros do mosquito associado ao controle químico do vetor através do uso de inseticidas (Brasil, 2019). Contudo, apesar da realização das atividades de controle conforme preconizado pelo MS observa-se a manutenção das populações no campo em elevados índices. Se por um lado manutenção desses mosquitos mantém elevada a incidência das doenças a eles relacionada, por outro, é preocupante porque pode significar a transmissão de novos patógenos desde que eles sejam suscetíveis a infecção como observado na introdução de Chikungunya e Zika e no Brasil a partir de 2014 e 2015, respectivamente (Brasil, 2014; 2015).

Alguns estudos têm demonstrado que a utilização dos inseticidas para os mais diferentes fins (em saúde pública, na agricultura, uso doméstico), de forma isolada ou associada, tem selecionado populações de *Ae. aegypti* resistentes, comprometendo o controle

vetorial no campo. Adicionalmente, é comum diante de surtos observar-se a intensificação do uso de inseticidas pelo programa de controle. Esta intensificação, porém, pode ajudar na aceleração da seleção e estabelecimento de populações resistentes.

Considerando tal pressuposto, um número significativo de estudos tem demonstrado a resistência de *Ae. aegypti* no Brasil a diferentes inseticidas sendo atribuída aos mecanismos bioquímicos e/ou de mutação no sítio alvo (Macoris et al., 1999, 2014, 2018; Pereira Lima et al., 2003; Braga et al., 2004; Da-Cunha et al., 2005; Lima et al., 2011; Montella et al., 2007; Montella, 2008; Martins et al., 2009b, a; Fontoura et al., 2012; Belinato et al., 2012, 2013; Linss et al., 2014; Chapadense et al., 2015; Collet et al., 2016; Dolabella et al., 2016; Chediak et al., 2016; Moyes et al., 2017; Garcia et al., 2018; Valle et al., 2019; Sá et al., 2019; Haddi et al., 2020). Referindo-se especificamente a Minas Gerais, dos 853 municípios que compõem o Estado observa-se um conhecimento limitado restrito a cinco estudos pontuais que avaliaram 6 populações oriundas Montes Claros, Ubá, Uberaba, Uberlândia, Governador Valadares e Belo Horizonte tendo preocupantemente demonstrado elevada resistência de *Ae. aegypti* a diferentes inseticidas (deltametrina mortalidade à dose diagnóstica - DD 57%; deltametrina RR₉₅ 34,5 - 35,7 a 84%; temefós RR₉₅ 5,4 - 19,5) (Martins et al., 2009b; Fontoura et al., 2012; Belinato et al., 2013; Valle et al., 2019; Serravite 2020).

Dentre os estudos disponíveis, destacam-se os realizados em Belo Horizonte, município limítrofe a Contagem, região de estudo dessa dissertação. Em 2013, Belinato et al. (2021) detectaram resistência de uma população de Belo Horizonte a deltametrina (mortalidade a DD 74,5%) e ao temefós (RR₉₅ 5,4). Adicionalmente, Serravite (2021) detectou resistência de *Ae. aegypti* coletados em 2017 e 2018 a deltametrina (RR₉₅ 10,2 - 46,4), a alfacipermetrina (RR₉₅ 32,4 - 202,3) e ao bendiocarb (RR₉₅ 9,8), sendo detectada mutação do tipo Val1016Ile e Phe1534Cys no gene Nav.

Sabendo-se da capacidade de dispersão de *Ae. aegypti* em áreas urbanas nas quais estão disponíveis grande quantidade de criadouros, a resistência desses vetores coletados em Belo Horizonte permitiu-nos supor que as populações de mosquito de Contagem também seriam resistentes aos inseticidas. Considerando a relação direta entre a incidência das arboviroses e a resistência de *Ae. aegypti* nossa hipótese se tornou mais robusta, sabendo-se que em 2020 o município relatou o segundo maior número de casos prováveis de dengue em Minas Gerais (1792), abaixo apenas da capital Belo Horizonte (CEVARB, 2021). Por fim, contudo não

menos importante, destacam-se os relatos da equipe da Zoonose da região sobre um aparente efeito limitado do uso de inseticida no controle dos mosquitos.

Dessa forma, frente a inexistência de conhecimento prévio sobre resistência de *Ae. aegypti* de Contagem aos inseticidas, esse trabalho se propôs a responder as seguintes perguntas: Existe resistência a deltametrina, inseticida padrão ouro para os estudos de resistência em laboratório, nas populações de *Ae. aegypti* de Contagem? Esses mosquitos têm resistência aos inseticidas utilizados em saúde pública na região? Caso se detecte resistência, pode haver mutação no sítio alvo? Para subsidiar tal estudo respondemos ainda a: O que sabemos sobre a resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas no Brasil?

Além do valor do conhecimento técnico-científico gerado e da contribuição junto à formação de recursos humanos, tal projeto amplia o papel do Departamento de Parasitologia ICB/UFMG no âmbito do Sistema Único de Saúde e contribui para uma melhor efetividade das ações de controle importante doenças no contexto epidemiológico no país. Vale mencionar ainda que o estudo desenvolvido se encontra em plena sintonia com a demanda de conhecimento referente a resistência aos inseticidas nos diferentes vetores de doenças, sendo considerada pela OMS e MS uma das linhas prioritárias de investigação com vistas ao alcance de parte dos objetivos propostos na AGENDA 2030 pactuada junto Organização das Nações Unidas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

- Caracterizar a resistência de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública

3.2. Objetivos específicos

- Revisar sistematicamente a literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de *Ae. aegypti* aos inseticidas;
- Investigar a resistência de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) a Deltametrina;
- Caracterizar a resistência de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública.

4. METODOLOGIA

4.1. Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas

4.1.1 Pergunta do estudo

A pergunta norteadora do estudo foi “O que se conhece sobre resistência das populações de campo brasileiras de *Ae. aegypti* aos inseticidas?”. A construção da pergunta foi realizada com base no anagrama PICOS (Methley et al., 2014) onde: o P vem do inglês *Population*, e significa “população”; o I vem do inglês *Intervention* e significa “intervenção”; o C vem do inglês *Comparison* e significa “comparação”; o O vem do inglês *Outcome* e significa “intervenção”; o S vem do inglês *Study Design* e significa “desenho do estudo” (Tabela 1)

Tabela 1. Componentes da pergunta delimitadora do estudo seguindo o anagrama PICOS

Descrição	Abreviação	Componentes da Pergunta
P	<i>Population</i>	Populações de campo brasileiras de <i>Aedes aegypti</i>
I	<i>Intervention</i>	Exposição ao inseticida em laboratório
C	<i>Comparison</i>	O controle negativo (ensaio sem inseticida) do teste e o controle positivo de suscetibilidade (LRS)
O	<i>Outcome</i>	Populações de <i>Aedes aegypti</i> suscetíveis ou resistentes
S	<i>Study Design</i>	Bioensaios

Fonte: Adaptado de Methley et al. (2014).

4.1.2 Desenho do estudo

A presente revisão sistemática^{viii} de literatura seguiu as diretrizes do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Page et al., 2021).

4.1.3 Critério de elegibilidade

Foram considerados elegíveis para a presente revisão sistemática, bioensaios que caracterizaram a resistência de populações silvestres (ou seja, de campo) de *Ae. aegypti* aos inseticidas. Foram considerados os estudos que descreveram a resistência por meio de ensaios biológicos em condições de laboratório. Também foram considerados os estudos que não caracterizaram a resistência aos inseticidas, tendo apenas descrito o(s) mecanismo(s)

^{viii} Entende-se por revisão sistemática um conjunto de evidências científicas provenientes de estudos primários conduzidos para responder a uma ou mais perguntas específicas da investigação em questão. Para tal, os autores da revisão sistemática utilizam de um processo de revisão de literatura abrangente e rigoroso, no qual são utilizadas as diretrizes do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Page et al., 2021).

envolvido(s) no fenótipo, mas que informaram/referenciaram os estudos originais responsáveis pela caracterização. Adicionalmente, foram considerados os estudos que não caracterizaram a resistência aos inseticidas em laboratório, tendo apenas investigado a resistência no campo, mas que informaram/referenciaram os estudos originais responsáveis pela caracterização do laboratório.

As buscas foram realizadas de 01/1995 a 12/2022, tendo sido considerados estudos publicados em Português, Inglês e Espanhol. Foram excluídos os estudos que: i) fugiram da pergunta delineada no estudo, não somente em conteúdo, mas também na linha temporal e idioma; ii) não se enquadraram no tipo de estudo à exemplo de “carta ao autor” e da literatura cinza.

4.1.4 Fontes e estratégia de pesquisa

As buscas foram realizadas nas bases científicas eletrônicas *MEDlars onLINE* (Medline), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), PubMed, Web of Science, Scopus, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Google Scholar. Foram utilizados os descritores catalogados no Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e no *Medical Subject Headings* (MeSH), isolados ou em diferentes combinações, entre aspas, associados aos descritores booleanos “AND” e “OR”:

- Descritores em Português: “resistência aos inseticidas”, “resistência aos organoclorados”, “resistência aos carbamatos”, “resistência aos organofosforados”; “resistência aos piretróides”; “resistência aos neonicotinóides”; “resistência aos inibidores de crescimento”; “*Aedes aegypti*”; “Brasil”; “organoclorados”; “piretróides”; “carbamatos”; “organofosforados”; “neonicotinóides”; “inibidores de crescimento”.
- Descritores em espanhol: "resistencia a insecticidas", "resistencia a organoclorados", "resistencia a carbamatos", "resistencia a organofosforados"; "resistencia a piretroides"; "resistencia a neonicotinoides"; "resistencia a inibidores del crecimiento"; "*Aedes aegypti*"; "Brasil"; "organoclorados"; "piretroides"; "carbamatos"; "organofosforados"; "neonicotinoides"; "inibidores del crecimiento".
- Descritores em inglês: "insecticide resistance", "organochlorine resistance", "carbamate resistance", "organophosphate resistance"; "pyrethroid resistance"; "neonicotinoid resistance"; "growth inhibitor resistance"; "*Aedes aegypti*"; "Brazil";

"organochlorines"; "pyrethroids"; "carbamates"; "organophosphates";
"neonicotinoids"; "growth inhibitors".

Após a organização das estratégias de busca procedeu-se à pesquisa dos estudos, realizada de forma independente por dois pesquisadores. Nas ocasiões em que houve discrepância um terceiro pesquisador foi consultado para deliberar.

4.1.5. Seleção dos estudos e extração dos dados

Para a seleção dos estudos e extração dos dados, após a retirada dos títulos duplicados, os dois pesquisadores realizaram de forma independente a seleção dos artigos por título, resumo e texto completo. Essa triagem foi realizada em etapas separadas e sequenciais obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Vencida a seleção dos trabalhos, os dois pesquisadores se reuniram para verificação da concordância. Frente à divergência de opinião entre eles, um terceiro pesquisador resolveu o impasse.

Concluída essa etapa, foram extraídas as seguintes informações dos textos completos: autor, ano, local(is) e data (s) de coleta das populações de mosquito, número de populações de mosquitos utilizadas; inseticida(s) avaliado(s), fase(s) de desenvolvimento do mosquito estudada(s), metodologia(s) adotada(s) nos bioensaios, linhagem referência de suscetibilidade adotada, resultados dos estudos qualitativos e/ou quantitativos; mecanismo(s) indicado(s) como responsável(is) pela resistência; quantificação do(s) mecanismo(s) envolvido(s) na resistência, resultado quantitativo do(s) teste(s) no campo. Os dados foram compilados para análise em tabelas utilizando o pacote Microsoft Excel 2019.

4.2. Investigação a resistência de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse

4.2.1 Área de estudo

Contagem é o terceiro maior município de Minas Gerais (Figura 7). Ele compõe o núcleo polarizador das atividades urbanas e econômicas da Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH) tendo limites ao norte Ribeirão das Neves e Esmeraldas, ao leste, Belo Horizonte, ao sul, Ibirité e parte de Betim e a oeste, Betim, Esmeraldas, Ribeirão das Neves e Ibirité. Com uma área territorial de 195.045 km², abriga aproximadamente 673.849 habitantes (IBGE, 2021). Está situado a 858 m de altitude, apresentando clima tropical de altitude. Nos

meses mais quentes do ano (janeiro a março) apresenta temperaturas médias de 28°C, enquanto nos meses mais amenos (abril a dezembro) são de 25°C. Em relação à pluviosidade, a estação chuvosa dura de 7 a 9 meses, normalmente começando em outubro e terminando em abril, sendo o índice de pluviosidade anual de 1205 mm (Climate-data.org, 2023)



Figura 7. Município de Contagem (MG), área de estudo do presente trabalho. (A) mapa do Brasil, destacando o estado de Minas Gerais. (B) mapa de Minas Gerais destacando Contagem dividida em 8 regionais de saúde (C). Fonte: mapasparacolorir.com.

O município é dividido atualmente em oito regionais administrativas (Figura 7) que apresentam perfis ambientais e de uso/ocupação do solo bastante diversificados, a saber:

- Distrito Industrial: concentra os principais órgãos públicos federais, municipais e estaduais. Apresenta um número significativo de terrenos não ocupados e de comunidades (vilas e favelas);
- Distrito Eldorado: foi urbanisticamente planejado concentrando em seu núcleo intensa atividade comercial e de serviços;
- Distrito Nacional: faz divisa com o município de Ribeirão das Neves apresentando deficiência de serviços públicos e portanto, uma população vulnerabilizada;
- Distrito Petrolândia: localizada no limite com o município de Betim. Apresenta densa ocupação residencial e comércio desenvolvido;

- Distrito Ressaca: é uma região de população carente e grandes complexos empresariais. Nele está situado o Centro de Abastecimento (CEASA) que atrai grande fluxo de pessoas. Alguns bairros dessa região estão apresentando processo de elitização com escolaridade e renda crescendo muito acima da média municipal;
- Distrito Riacho: é um distrito novo, cortado pela rodovia Fernão Dias, e que faz limites com Betim e Ibirité. É predominantemente residencial com moradias de padrões mais elevados, principalmente na divisa com o distrito Eldorado;
- Distrito Sede: abrange as sedes dos Poderes Executivo e Legislativo Municipais, além do centro histórico do município. Apresenta população predominantemente de classe média e classe média baixa. Os bairros menos centrais do distrito tem apresentado um intenso crescimento populacional;
- Distrito Vargem das Flores: faz divisa com o município de Esmeraldas, estando localizada na zona rural. Trata-se da região mais vulnerabilizada de Contagem, que apresenta ocupação desordenada, muitas áreas de ocupações irregulares e os dados socioeconômicos muito abaixo da média municipal. Nele está situada a penitenciária de segurança máxima Nelson Hungria (CUNHA, 2010).

A rede municipal de saúde de Contagem é constituída por uma Maternidade Municipal, um Hospital Municipal, 23 Unidades Básicas de Saúde (UBS), 87 Equipes de Saúde da Família (ESF), quatro Unidades de Atendimento Imediato (UAI) que depois foi renomeado Unidade de Pronto Atendimento (UPA), um pronto-socorro de baixa e média complexidade, o Pronto Socorro Geraldo Pinto Vieira (PSGPV), um Centro de Consultas Especializadas (CCE Iria Diniz), um serviço de referência da Saúde da Mulher e um da saúde do trabalhador (CEREST), um centro de Atenção Psicossocial (CAPS II), um centro de referência de atenção psicoinfantil e da adolescência, um centro de referência da criança e do adolescente (CRSA) e dez equipes de saúde bucal (CONTAGEM, 2017). Dos oito distritos sanitários, quatro possuem uma Unidade de Pronto Atendimento (UPA): UPA Petrolândia no distrito sanitário Petrolândia, UPA Ressaca no distrito sanitário Ressaca, UPA Nova Contagem no distrito sanitário Vargem das Flores e UPA SEDE no distrito sanitário Sede (CONTAGEM, 2017).

Sob o aspecto da saúde, pensando-se nas doenças com participação vetorial, observam-se em Contagem a leishmaniose visceral, a Dengue, a Zika e a Chikungunya, cujo número de casos nos últimos 4 anos está apresentado na tabela 2. Vale destacar que o número

elevado de casos suspeitos de dengue registrados em 2023 até 8 de maio (6237), tendo o município decretado estado de emergência para essa arbovirose em 13 de março (Contagem (MG), 2023)

Tabela 2. Número de casos de leishmanioses, dengue, Zika e Chikungunya no município de Contagem no período de 2019 a 2022 segundo dados do SINAM (Brasil, 2023)

Ano	Leishmanioses	Dengue*	Zika*	Chikungunya*
2019	8	35.923	159	113
2020	9	1.368	23	25
2021	14	225	21	22
2022	6	286	-	-

Nota: * casos suspeitos

4.2.2 Populações de *Aedes aegypti* estudadas

Os ovos de *Ae. aegypti* foram coletados em 2019 (maio a julho), 2021(janeiro a março) e 2022 (abril a junho) nas 8 regionais de saúde de Contagem pela equipe do Controle de Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde do município, durante as atividades de rotina, com auxílio de ovitampas (Figura 8) (Fay & Perry, 1965; Fay & Eliason, 1966). Ao final de cada período de coleta as palhetas de Eucatex foram agrupadas por regional de saúde, identificadas e enviadas ao Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos (LFIH).



Figura 8. Ovitrapa com uma palheta de Eucatex mergulhada para estimular a oviposição do *Aedes aegypti*. Foto: Fabio Silva, 2020

A obtenção de *Ae. aegypti* (larvas e adultos) foi realizada no insetário dedicado exclusivamente a criação de mosquitos do LFIH. O ambiente apresenta temperatura ($26^{\circ}\text{C} \pm$

1°C), umidade relativa (80% ± 10% UR) e ciclo de luz (12h claro/12h escuro) controlados. Adotou-se a metodologia proposta por Christophers (1960). Desse modo, os ovos foram colocados para eclodir em bacias plásticas (33x24x8cm) contendo 1L de água desclorada. Diariamente foi oferecida as larvas 0,3g de ração para peixes (Gold Fish Colour Alcon®) /bacia para uma densidade populacional de 400-600 larvas/bacia. Uma vez por semana a água das bacias foi trocada. Ao atingirem o estágio de pupa, foram separadas em copos plásticos de 50 mL contendo água desclorada, sendo alocadas em gaiolas de plástico (Figura 9). Desde o nascimento foi disponibilizada para alimentação dos adultos, *ad libitum*, solução de sacarose 10%. Vencidos cinco dias da muda de pupa para adulto foi ofertada às fêmeas a alimentação sanguínea em *hamsters* (*Mesocricetus auratus*) anestesiados com Thiopentax® em concordância com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CEUA n. 391/2016). Passados dois dias após a alimentação sanguínea foram disponibilizados nas gaiolas por 48 horas um recipiente para que as fêmeas pudessem realizar a oviposição^{ix}. Em seguida, as tiras de papel, já secas, foram identificadas e acondicionadas em um envelope de papel até o momento de uso. Destaca-se que a identificação dos adultos foi realizada utilizando a chave taxonômica proposta por Forattini (2002).

Em simultâneo a criação das populações de campo, foi mantida a Linhagem Rockfeller, utilizada nesse estudo como Linhagem Referência de Suscetibilidade (LRS)^x.

^{ix} Os recipientes para oviposição consistiram em copos de PVC com capacidade para 100ml que continham a parte exterior pintada de tinta preta. Esse recipiente foi preenchido em 50% de sua capacidade com água desclorada, sendo disponibilizada uma tira retangular de papel de filtro que colocada em contato com água visava permitir/estimular a postura dos ovos pelas fêmeas.

^x Entende-se por linhagem referência de suscetibilidade aquelas mantidas em laboratório e que são suscetíveis aos inseticidas de todas as principais classes de inseticida, sem mecanismo de resistência detectável (OMS, 2022). Nos estudos de resistência aos inseticidas com *Ae. aegypti*, a linhagem internacionalmente utilizada é a Rockfeller. Essa linhagem foi inicialmente isolada em Cuba em 1881 sendo, deste então, mantida em isolamento sem aporte de material externo e/ou contato com inseticida (Kuno et al, 2010).



Figura 9. Gaiolas transparentes para criação de mosquitos adultos. O copo preto mostrado é usado para coleta de ovos. O copo é preenchido até a metade com água e colocado papel filtro para estimular a oviposição.

4.2.3. Inseticidas utilizados

Nesse estudo, foi avaliada a resistência das populações de *Ae. aegypti* coletadas em Contagem em 2019, 2021 e 2022 a um inseticida grau técnico^{xi} e a seis produtos formulados^{xii} conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3. Inseticidas utilizados nos estudos que avaliaram a resistência das populações de *Aedes aegypti* (larvas e/ou adultos) no presente estudo.

Nome do inseticida	Grau técnico (GT) ou Produto formulado (PF)	Composição	Dose de uso pelo fabricante (somente para PF)	Fase de desenvolvimento alvo do inseticida	Fabricante
Deltametrina	GT	deltametrina ¹ - 99,1% de pureza	Não se aplica	Larvas Adultos	Bayer
SumiLarv®	PF (grânulo)	piriproxifeno ² 0,5g	1g/500L	Larvas	Sumitomo Chemical
Natular™ DT	PF (pastilha efervescente)	espinosade ³ 7,48% p/p (Espinosa A e D)	1 tablete por 200L	Larvas	Clarke®
Komvektor™ 440 EW	PF (emulsão aquosa)	malathion ⁴ 40,9% p/p	331ml/hectare	Adultos	Bayer

^{xi} Molécula com efeito inseticida pura (OMS, 2013)

^{xii} Produtos formulados que contém o ativo químico com propriedade inseticida junto a outras moléculas (ex. solvente, veículo, material inerte etc. (OMS, 2013)

Cielo™ ULV	PF (ultrabaixo volume)	praletrina ¹ 0,75% p/p imidacloprida ⁵ 3%p/p	100ml/hectare	Adultos	Clarke®
Fludora® Fusion	PF (Pó molhável)	deltametrina ¹ 6,25% p/p clotianidina ² 50% p/p	0,4g/m ²	Adultos	Bayer
Alfatek® 200 SC	PF (Suspensão concentrada)	alfacipermetrina ¹ 20% p/p	50ml/10L para 500m ² para <i>Lutzomyia longipalpis</i>	Adultos	Rogama

Nota: (1) Piretróide, (2) Inibidor de Desenvolvimento, (3) Biolarvicida (4) Organofosforado, (5) Neonicotinóide.

A deltametrina foi inseticida GT utilizado neste estudo por se tratar de um inseticida padrão, comumente utilizado nos estudos de resistência em condições de laboratório. Trata-se de um PI estável e já utilizado no país para o controle de diferentes vetores (Zerba, 2002).

Por sua vez, os inseticidas PF SumiLarv®, Natular™ DT, Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora® Fusion foram usados por serem utilizados no campo em Contagem, sob recomendação do MS, para o controle de *Ae. aegypti*. Nesse sentido, algumas informações são importantes:

- O SumiLarv® foi o inseticida utilizado em Contagem no combate às larvas de *Ae. aegypti* de 2014(Brasil, 2014) até 2019 sendo, então, substituído pelo biolarvicida Natular™ DT^{xiii} – inseticida esse em uso até os dias atuais (Brasil, 2019).
- O Komvektor™ 440 EW foi o inseticida utilizado em Contagem no combate de adultos de *Ae. aegypti* de 2009 (Brasil, 2009) até 2019 destinado ao uso de UBV. Em 2019 esse inseticida foi substituído pelo Cielo™ ULV e o Fludora® Fusion adotados como fumacê e para a borrifação de pontos estratégicos, respectivamente (Brasil, 2019).

Já o Alfatek® 200 SC foi utilizado nesse estudo por se tratar do inseticida recomendado pelo MS para o combate de adultos de *Lutzomyia longipalpis* desde 1999 (Brasil, 1999). A região de Contagem tem flebotômico em área de sobreposição com *Ae. aegypti* fazendo, portanto, uso desse inseticida até os dias atuais.

4.2.4 Bioensaios com a Deltametrina

Para todos os ensaios biológicos as populações de campo foram avaliadas separadamente por ano e área de coleta. Dessa forma, os ensaios foram realizados em 3

^{xiii} Larvicida biológico com ação de toxina de *Saccharopolyspora spinosa*, as toxinas dessa bactéria têm a capacidade de alterar a função dos canais iônicos nicotínicos e GABA, causando uma rápida excitação do sistema nervoso do inseto, provocando contrações involuntárias dos músculos, convulsão, paralisia e morte (Salgado, 1998).

momentos distintos (um para cada ano de amostragem 2019, 2021 e 2022) nos quais em cada um deles foram avaliadas a LRS em simultâneo às 8 populações de campo (Industrial, Sede, Riacho, Nacional, Eldorado, Petrolândia, Ressaca e Vargem).

4.2.4.1. Caracterização do perfil de suscetibilidade da LRS - Rockfeller

Inicialmente foi caracterizado o perfil de suscetibilidade da LRS com vistas a obtenção da CL_{95} e DL_{95} necessárias para o cálculo da RR_{95} das populações de campo utilizando metodologia preconizada pela OMS (1981; 2022).

Nos testes com as larvas (L3-L4), 30 insetos foram acondicionados em copos plásticos de 300ml numa solução contendo 1ml concentração de Deltametrina de interesse solubilizada em acetona P.A. (Merk) junto a 249ml de água desclorada (Figura 10). Foram utilizadas oito concentrações (1 a 7,5mg/ml) obtendo-se, assim de 10 a 95% de mortalidade. Os insetos do grupo controle foram expostos a solução de 1ml de acetona junto a 249 ml de água desclorada. Foram utilizados 30 insetos/concentração, em triplicatas realizadas em dias distintos. A leitura foi realizada 24h após a exposição dos insetos, sendo consideradas mortas aquelas que não se mexiam após estimulada por uma pinça ou que apresentaram alteração no padrão de mobilidade. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de regressão com auxílio do programa Probit (Raymond, 1985) obtendo-se, assim, a CL_{95} (incluindo intervalo de confiança) e o *slope*^{xiv}.

^{xiv} Entende-se por *slope* o aumento da mortalidade em unidades probit ou logit. O *slope* da linha concentração-mortalidade é o inverso do desvio padrão da distribuição fenotípica da tolerância a um inseticida (Hoskins, 1960, Finney, 1971, Tabashnik & Cushing, 1989). Assim, *slope* mais elevados indica uma variação fenotípica reduzida em resposta ao inseticida numa população (Chilcuit, 1995).



Figura 10. Bioensaios realizados com larvas de *Aedes aegypti* segundo metodologia preconizada pela Organização Mundial de Saúde (1981; 2022). Nesse ensaio as larvas (L3-L4) são colocadas por 24 horas em contato com a solução de inseticida de interesse para avaliação da mortalidade.

Nos testes com adultos (fêmeas, 5 dias de idade, alimentadas com solução de sacarose 10% colocadas em jejum 24 horas antes do experimento) os insetos foram expostos por 60 minutos, utilizando os Kits da OMS (Figura 11), a papéis impregnados (Filtro whatman n.1) com uma solução de 889 μ l contendo clorofórmio (MERK), vaselina (Anidrol) e 1ml da dose de deltametrina de interesse solubilizada clorofórmio P.A. (Figura 11A). Foram utilizadas oito doses, obtendo-se assim de 10 a 95% de mortalidade. Os insetos do grupo controle foram expostos a solução clorofórmio e vaselina. Foram utilizados 30 insetos/dose, em triplicatas realizadas em dias distintos. Vencidos os 60 minutos de exposição, os insetos foram transferidos para recipientes isentos de inseticida, com solução de sacarose 10% *ad libitum*, no qual permaneceram por 24 horas, momento no qual realizou-se a leitura de mortalidade. Foram considerados mortos os mosquitos que não se mexiam ou que apresentaram alteração no padrão de voo (Figura 11B). Os dados de mortalidade foram submetidos a análise de regressão com auxílio do programa Probit (Raymond, 1985), obtendo-se, assim, a DL_{95} (incluindo intervalo de confiança) e o *slope*.

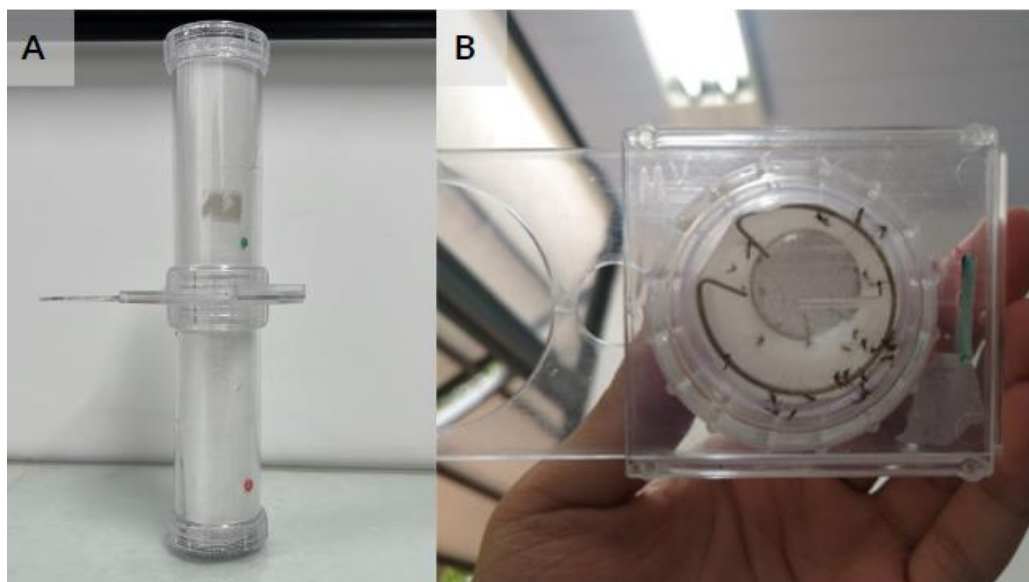


Figura 11. (A) Kit adotado para a realização de bioensaios com adultos de *Aedes aegypti* segundo metodologia recomendada pela Organização Mundial de Saúde (1981; 2022). Com essa metodologia as fêmeas adultas são expostas por 60 minutos a papel impregnado com o inseticida de interesse (indicado com a bolinha vermelha), sendo transferidos, em seguida, para um recipiente isento de inseticida (indicado pela bolinha verde). A mortalidade é avaliada 24 horas após a exposição. (B) Insetos mortos dentro do kit OMS.

4.2.4.2 Caracterização do perfil de suscetibilidade/resistência das populações de campo

Nos testes com os insetos de campo foi utilizada a mesma metodologia adotada para a LRS (item 4.2.4.1) contudo, para a obtenção de 10% a 90% de mortalidade foram utilizadas no mínimo 8 doses que variaram de 0,05 a 1,5 e de 0,1 a 2 mg/L nos testes com as larvas e adultos, respectivamente. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de regressão com auxílio do programa Probit (Raymond, 1985), obtendo-se, assim, a CL_{95} (para larvas) ou (para adultos) e o *slope*. Em seguida, foi calculada para cada população a RR_{95} utilizando a fórmula “ CL_{95} ou DL_{95} da população de campo / CL_{95} ou DL_{95} da LRS”. As populações foram classificadas em suscetíveis ($RR_{95} \leq 3$) ou resistentes ($RR_{95} > 3$) em concordância com Ministério da Saúde (Brasil, 2006).

4.2.5. Ensaio Biológico com os inseticidas adotados em saúde pública

Nos bioensaios utilizando os produtos formulados utilizados em saúde pública serão utilizadas duas metodologias distintas: uma metodologia para o larvicida do tipo ID SumiLarv® e outra para os demais produtos, ambas preconizadas pela OMS (1981; 2022), conforme descrito abaixo.

4.2.5.1 Ensaios biológicos com SumiLarv®

O SumiLarv® foi adicionado à água da torneira, na dose de 2mg/L (recomendada pelo fabricante para o controle de larvas *Ae. aegypti*) sendo a solução estocada em condições de laboratório, em frascos plásticos escuros, por um período de 28 dias^{xv}. Vencidos 1 dia, 7 dias, 14 dias e 28 dias após o preparo da solução de inseticida, 30 larvas (L3-L4) foram acondicionadas em copos plásticos de 300ml contendo 250 ml da solução de interesse. Os insetos do grupo controle foram expostos somente a água utilizada para fazer a solução de inseticida e estocada em simultâneo, da mesma forma. Foram utilizados 30 insetos/data de exposição, em triplicatas realizadas em dias distintos. Os experimentos foram mantidos até se observar a morte do último inseto^{xvi}. Para garantir que a mortalidade não estivesse sendo ocasionada por fome, aos frascos foi adicionada diariamente ração para peixes (Gold Fish Colour Alcon®). A leitura foi realizada diariamente sendo considerados mortos os insetos que não se mexiam após estimulados por uma pinça ou que apresentaram alteração no padrão de mobilidade (nado no caso das larvas e pupas; voo no caso dos adultos). A população de mosquitos foi considerada: i) suscetível quando apresentou mortalidade $\geq 98\%$; ii) com resistência a verificar quando apresentou mortalidade entre 80% e 98%, e; iii) com resistência estabelecida quando a mortalidade foi $\leq 80\%$ (OMS, 1981; 2022).

4.2.5.2 Ensaios Biológicos com Natular™ DT, Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora® Fusion e Alfatek® 200 SC

Nos testes com larvas (L3-L4) utilizando o Natular™ DT 30 insetos foram acondicionadas em copos plásticos de 300ml numa solução contendo 250ml do inseticida na dose recomendada pelo fabricante para o controle de larvas de mosquitos (Tabela 2). O inseticida foi diluído em água de torneira. Os insetos do grupo controle foram expostos a 250 ml apenas da água. Foram utilizados 30 insetos tanto para o grupo experimental quanto para o controle, em triplicatas realizadas em dias distintos. A leitura foi realizada 24h após a exposição dos insetos, sendo consideradas mortas aquelas que não se mexiam após estimulada por uma pinça ou que apresentaram alteração no padrão de mobilidade. Os dados de mortalidade foram analisados de acordo com a natureza e distribuição dos dados. A população de mosquitos foi considerada: i) suscetível quando apresentou mortalidade $\geq 98\%$; ii) com

^{xv} Justifica-se a realização do acompanhamento por 28 dias com vistas a acompanhar o efeito residual do produto.

^{xvi} Justifica-se o acompanhamento do experimento até a morte do último inseto por se tratar de um ID que não mata de imediato e sim, ao longo do desenvolvimento do inseto, desde a fase de larva até a de adulto

resistência a verificar quando apresentou mortalidade entre 80% e 98%, e; iii) com resistência estabelecida quando a mortalidade foi $\leq 80\%$ (OMS, 1981; 2022).

Nos testes com adultos, 30 espécimes fêmeas, 5 dias de idade, alimentadas com solução de sacarose 10% colocadas em jejum 24 horas antes do experimento) de cada população foram expostas por 60 minutos, utilizando os Kits da OMS (Figura 11), a papéis impregnados (Filtro whatman n.1) com uma solução do inseticida de interesse, diluída em água de torneira, nas doses recomendadas pelo fabricante para o controle de mosquito (Tabela 2) ou de *L. longipalpis*, no caso do Alfatek® 200 SC (Tabela 2). Atenta-se que o Cielo já vem na diluição de uso e, portanto, não foi diluído e por isso, não foi realizado controle em simultâneo. Os insetos do grupo controle foram expostos a papéis impregnados apenas com água. Foram utilizados 30 insetos/população, em triplicatas realizadas em dias distintos. Vencidos os 60 minutos de exposição, os insetos foram transferidos para recipientes isentos de inseticida, com solução de sacarose 10% *ad libitum*, no qual permaneceram por 24 horas, momento no qual realizou-se a leitura de mortalidade. Foram considerados mortos os mosquitos que não se mexiam ou que apresentaram alteração no padrão de voo (Figura 11). Os dados de mortalidade foram analisados de acordo com a natureza e distribuição dos dados. A população de mosquitos foi considerada: i) suscetível quando apresentou mortalidade $\geq 98\%$; ii) com resistência a verificar quando apresentou mortalidade entre 80% e 98%, e; iii) com resistência estabelecida quando a mortalidade foi $\leq 80\%$ (OMS, 1981; 2022).

5. RESULTADOS

5.1 Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas

Foram selecionados nas bases de dados eletrônicas 741 estudos. Em uma primeira fase, foram excluídos por duplicidade ou por serem literatura cinza 210 e 10, respectivamente. Dessa forma, foram mantidos 531 trabalhos. Desses, após a leitura do título foram excluídos 308 por não apresentarem relação com a pergunta do estudo. Dos 223 mantidos, 140 foram excluídos a partir da leitura do resumo, permanecendo assim, 83 trabalhos. Por fim, após a leitura completa dos trabalhos foram mantidos apenas 55, tendo sido incluídos nessa revisão sistemática (Figura 12)

Dos 55 estudos que atenderam aos critérios de elegibilidade para inclusão na presente revisão sistemática observou-se que 818 populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* tiveram o perfil de suscetibilidade/resistência caracterizado. Quanto a área de coleta dessas populações, 93 (11,4%) eram da região norte, 189 (23,1%) da nordeste, 419 (51,2%) da sudeste, 20 (2,4%) do Distrito Federal, 72 (8,8%) da Centro-Oeste e 25 (3,1%) da Sul (Anexo 1- Tabela 4).

Nos 55 estudos incluídos nesta revisão 44 (80%) realizaram bioensaios. Destes, em 1 foi investigada a resistência aos inseticidas OC (2,2%), em 3 de CB (6,82%), em 38 de OP (86,4%), em 27 de PI (61,4%) em 12 de IGR (27,3%), observando-se que 38 (86%) se apresentavam como GT e 14 (32%) como PF. Quanto a fase de desenvolvimento do *Ae. aegypti*, 19 (43,2%) estudos investigaram a resistência aos inseticidas nas larvas, 5 (11,4%) nos adultos e 20 (45,4%) em ambos os estágios. Pensando na metodologia de realização dos bioensaios de laboratório, 33 (75%) seguiram preconização exclusivamente da OMS (OMS, 1981), 2 (4,5%) exclusivamente do CDC (CDC, 1998) e 9 (20,5%) ambas. E por fim, 38 (86,4%) utilizaram exclusivamente a Rockefeller como LRS, 1 (2,3%) utilizaram uma única LRS que não foi a Rockefeller, 2 (4,5%) utilizaram a Rockefeller junto a outra LRS e 3 (6,8 %) não informaram qual a LRS foi utilizada (Anexo 2 – Tabela 5).

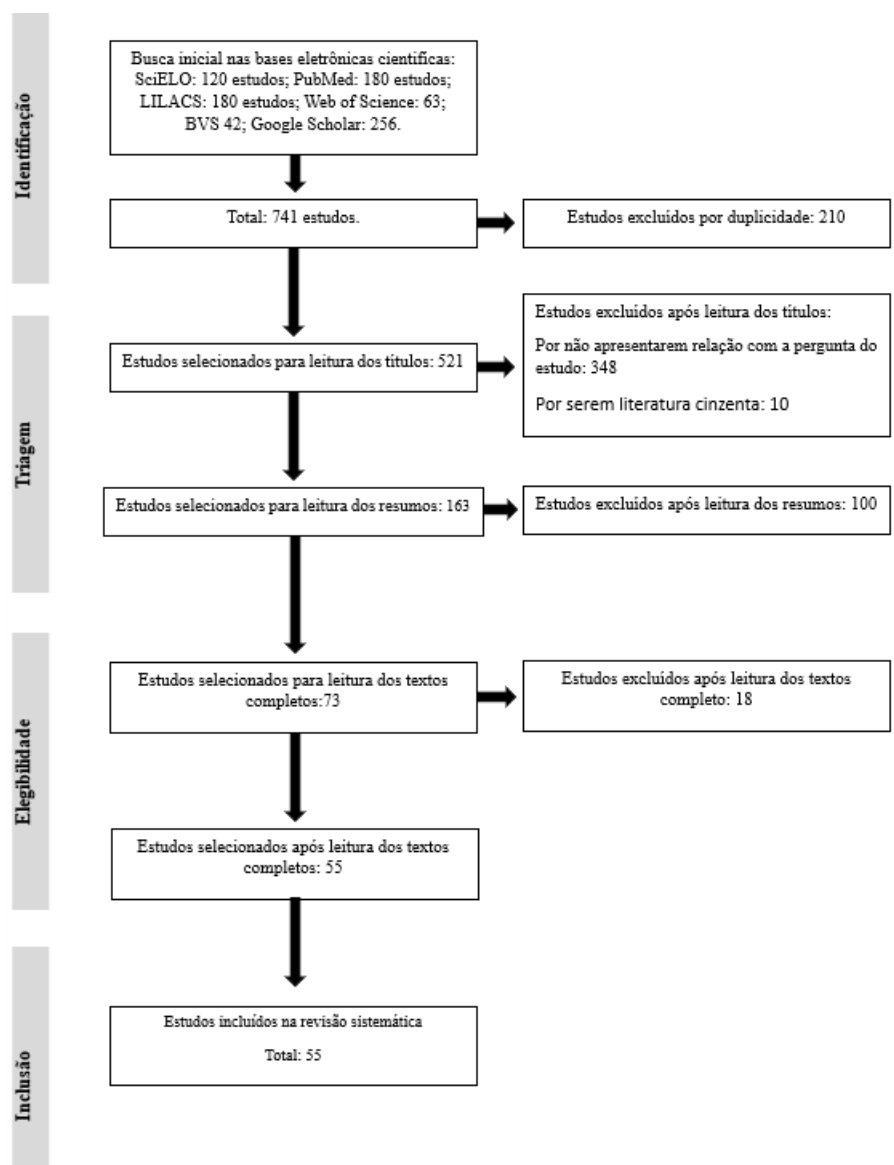


Figura 12. Fluxograma de seleção dos artigos científicos nas bases eletrônicas de dados para a revisão sistemática sobre a resistência das populações brasileiras de campo de *Aedes aegypti* aos inseticidas.

Nos 44 estudos incluídos nesta revisão sistemática que realizaram bioensaios, 5 (11,4%) realizaram exclusivamente testes qualitativos (dose diagnóstica ou dose única recomendada pelo fabricante do inseticida PF), 16 (36,3%) realizaram exclusivamente testes quantitativos (dose resposta utilizando inseticida GT) e 23 (52,3%) realizaram ambos. Quanto ao critério de mortalidade, todos os estudos seguiram a preconização da OMS (1981) ou CDC (1992) de acordo com a metodologia usada pelos autores. Já em relação aos pontos de corte para caracterização do *status* da suscetibilidade/resistência das populações nos testes quantitativos, 13 (33,3%) estudos adotaram a preconização de Mazzarri & Georghiou (1995), 8 (20,5%) a do Brasil (2006) e 18 (46,2%) outros. Ao final, 591 (72,2%) populações

estudadas foram caracterizadas como resistentes a pelo menos um inseticida avaliado (Anexo 3 - Tabela 6).

Em relação aos mecanismos responsáveis pela resistência aos inseticidas, dos 55 trabalhos selecionados, 22 (40%) estudaram se dedicaram a investigar possível(is) mecanismo(s) envolvido(s) na resistência sendo que 3 (14%) estudos investigaram exclusivamente a resistência bioquímica a partir das enzimas detoxificativas, 9 (40%) investigaram exclusivamente a resistência do sítio alvo a partir de mutações do gene Nav e 10 (46%) que investigaram ambos os mecanismos. Ressalta-se que, de fato, a maior parte dos estudos 33 (60%) se dedicou exclusivamente a realização dos bioensaios, não investigando mecanismos relacionados à resistência aos inseticidas (Anexo 4 -Tabela 7)

Por fim, dos 46 (83,6%) dos estudos detectaram resistência em laboratório apenas 5 (10,9%) investigaram tal fenômeno no campo. Destes, apenas 1 (20%) confirmou no campo a resistência observada no tetes de laboratório (Anexo 5 – tabela 8).

Destaca-se, por fim, que todos os trabalhos selecionados para compor essa revisão sistemática são tipo bioensaios. Considerando que o modelo de estudo desses trabalhos é um organismo não humano (em nosso caso, o mosquito *Ae. aegypti*) não foi identificada nenhuma ferramenta/checklist na literatura que pudesse ser adotada para a avaliação da qualidade metodológica dos estudos, justificando-se assim, o motivo dela não ter sido feita. Dessa forma, todos os estudos triados em concordância com critérios de elegibilidade e exclusão relacionados à pergunta do trabalho, foram considerados aptos para essa revisão.

5.2 Investigação a resistência de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse

5.2.1 Ensaios Biológicos com deltametrina

Os bioensaios com larvas utilizando a deltametrina GT revelaram para LRS a CL_{95} de 1,21 mg/L (1,02 - 1,59) e *slope* de 7,8 ($\pm 0,55$). Utilizando tal informação, foi possível fazer o cálculo da RR_{95} para as populações de campo. Em 2019, a RR_{95} e o *slope* variaram de 3,20 a 5,43 e 3,20 a 5,43, respectivamente. Em 2021, a RR_{95} e o *slope* variaram de 3,00 a 4,94 e 4,18 a 5,41, respectivamente. E por fim, em 2022 a RR_{95} e o *slope* variaram de 3,19 a 5,79 e 4,4 a 6,0, respectivamente (Tabela 9). Os dados de mortalidade foram analisados da seguinte

forma: i) dentro do mesmo ano de coleta, comparando as populações de campo entre si e com a LRS e ii) entre os diferentes anos (2019, 2021 e 2022) comparando as populações coletadas na mesma regional de saúde. Observou-se dentro de cada um dos três anos amostrados que todas as populações apresentaram mortalidade superior a LRS e semelhantes entre si. Não foi observada alteração na linha temporal entre insetos coletados na mesma regional. Em relação ao *slope*, foram feitas duas avaliações: i) dentro do mesmo ano, comparando cada população de campo com a LRS e ii) entre os diferentes anos (2019, 2021 e 2022) comparando as populações coletadas na mesma regional de saúde. Observou-se dentro de cada um dos três anos amostrados que todas as populações apresentaram *slope* menor do que a LRS. Não foi observada alteração na linha temporal entre insetos coletados na mesma regional. De acordo com os parâmetros estabelecidos pelo MS (2006) todas as populações de campo, em todos os tempos, foram classificadas como resistentes a deltametrina GT.

Tabela 9. Concentração letal 95% (CL₉₅), razão de resistência 95% (RR₉₅) e *slope* de larvas de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida deltametrina (GT 99,1% pureza, Bayer). Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.

	2019			2021			2022		
	CL ₉₅ (IC 95%)	RR ₉₅	<i>Slope</i>	CL ₉₅ (IC 95%)	RR ₉₅	<i>Slope</i>	CL ₉₅ (IC 95%)	RR ₉₅	<i>Slope</i>
Rockfeller (LRS)	1,21 (1,02 - 1,59)	1,00	7,58 ±0,55	1,21 (1,02 - 1,59)	1,00	7,58 ±0,55	1,21 (1,02 - 1,59)	1,00	7,58 ±0,55
Industrial	6,57 (5,19 - 9,33)	5,43	5,51 ±0,72	5,97 (4,36 - 6,51)	4,94	5,41 ±0,62	7,00 (5,95 - 8,33)	5,79	6,00 ±0,72
Riacho	5,60 (4,04 - 8,82)	4,63	4,80 ±0,45	4,99 (3,64 - 5,99)	4,12	4,00 ±0,39	6,33 (5,38 - 7,55)	5,23	4,90 ±0,39
Eldorado	5,85 (4,67 - 8,14)	4,83	4,58 ±0,57	4,99 (3,64 - 5,43)	4,12	4,18 ±0,67	5,93 (5,04 - 7,05)	4,90	4,44 ±0,62
Ressaca	4,89 (3,63 - 8,66)	4,04	6,10 ±0,75	3,92 (2,86 - 4,51)	3,24	5,30 ±0,65	5,14 (4,37 - 6,11)	4,24	5,80 ±0,55
Sede	4,20 (3,48 - 4,19)	3,48	4,13 ±0,48	3,76 (2,74 - 4,51)	3,11	4,22 ±0,58	4,21 (3,58 - 5,01)	3,47	4,52 ±0,68
Nacional	4,93 (3,94 - 6,93)	4,08	5,55 ±0,55	4,61 (3,36 - 5,99)	3,81	4,73 ±0,61	5,94 (5,05 - 7,06)	4,90	5,03 ±0,50
Petrolândia	4,80 (3,89 - 6,58)	3,97	5,29 ±0,69	3,88 (3,07 - 4,58)	3,21	5,00 ±0,42	3,87 (3,29 - 4,60)	3,19	5,00 ±0,57
Vargem	3,87 (3,26 - 4,95)	3,20	4,38 ±0,54	3,63 (3,23 - 4,38)	3,00	4,24 ±0,56	5,02 (4,26 - 5,97)	4,14	4,44 ±0,66

Legenda: LRS – Linhagem Referência de Suscetibilidade; CL₉₅ - concentração letal 95% em mg/L; RR₉₅ - razão de resistência 95%; IC 95% = intervalo de confiança 95%.

Já nos bioensaios com adultos utilizando a deltametrina GT observaram-se para LRS a DL₉₅ de 1,45 mg/m² (1,161 - 2,704) e *slope* de 7,8 (±0,45). Utilizando tal informação, foi possível fazer o cálculo da RR₉₅ para as populações de campo. Em 2019, a RR₉₅ e o *slope* variaram de 60,57 a 81,43 e de 3,9 a 6,5, respectivamente. Em 2021, a RR₉₅ e o *slope* variaram

de 50,16 a 69,0 e de 3,64 a 5,9, respectivamente. E por fim, em 2022 a RR_{95} e o *slope* variaram de 44,12 a 72 e de 4,12 a 7,22, respectivamente (Tabela 10). Os dados de mortalidade foram analisados da seguinte forma: i) dentro do mesmo ano de coleta, comparando as populações de campo entre si e com a LRS e ii) entre os diferentes anos (2019, 2021 e 2022) comparando as populações coletadas na mesma regional de saúde entre si. Observou-se dentro de cada um dos três anos amostrados todas as populações apresentaram mortalidade superior a LRS e semelhantes entre si. Não foi observada alteração na linha temporal entre insetos coletados na mesma regional. Em relação ao *slope*, foram feitas duas avaliações: i) dentro do mesmo ano, comparando cada população de campo com a LRS e ii) entre os diferentes anos (2019, 2021 e 2022) comparando as populações coletadas na mesma regional de saúde entre si. Observou-se dentro de cada um dos três anos amostrados que todas as populações apresentaram *slope* menor do que a LRS ($7,8 \pm 0,45$). Contudo, a comparação na linha temporal entre os mosquitos coletados na mesma regional revelou não haver diferença em todas as populações, exceto em Eldorado e Petrolândia. Em Eldorado o *slope* em 2019 e 2021 foi menor ao da LRS, igualando-se ao dela em 2022. Por sua vez, em Petrolândia o *slope* em todos os 3 tempos avaliados foi inferior ao da LRS, contudo houve um aumento em 2022. De acordo com os parâmetros estabelecidos pelo MS (2006) todas as populações de campo, em todos os tempos, foram classificadas como resistentes a deltametrina GT.

Tabela 10. Dose letal 95% (DL_{95}), razão de resistência 95% (RR_{95}) e *slope* de adultos de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida deltametrina (GT 99,1% pureza, Bayer). Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.

	2019			2021			2022		
	DL_{95} (IC 95%)	RR_{95}	<i>Slope</i>	DL_{95} (IC 95%)	RR_{95}	<i>Slope</i>	DL_{95} (IC 95%)	RR_{95}	<i>Slope</i>
Rockfeller (LRS)	1,45	1,00	$7,8 \pm 0,45$	1,45	1,00	$7,8 \pm 0,45$	1,45	1,00	$7,8 \pm 0,45$
Industrial	95,6 (77,4 - 107,4)	65,96	$6,50 \pm 0,72$	79,92 (64,24 - 107,9)	55,12	$5,90 \pm 0,76$	82,80 (74,62 - 92,92)	57,10	$5,11 \pm 0,66$
Riacho	118,12 (91,01 - 182,35)	81,46	$3,90 \pm 0,79$	95,93 (82,54 - 240,47)	66,16	$3,80 \pm 0,71$	95,21 (85,80 - 106,85)	65,66	$6,3 \pm 0,71$
Eldorado	93,97 (74,85 - 135,84)	64,81	$4,94 \pm 0,62$	100,0 (89,04 - 140,07)	69,00	$5,00 \pm 0,52$	100,05 (90,17 - 112,29)	69,00	$7,22 \pm 0,6$
Ressaca	54,86 (64,40 - 112,70)	54,86	$5,00 \pm 0,61$	72,73 (56 - 87,28)	50,16	$4,64 \pm 0,55$	78,29 (70,55 - 87,86)	53,99	$5,96 \pm 0,65$
Sede	87,82 (67,08 - 150,60)	60,57	$4,22 \pm 0,61$	65,42 (52,34 - 77,2)	45,12	$4,10 \pm 0,51$	63,97 (57,66 - 71,80)	44,12	$4,12 \pm 0,49$
Nacional	98,55 (78,32 - 142,71)	67,97	$3,99 \pm 0,49$	71,42 (60 - 100)	49,26	$3,87 \pm 0,49$	71,92 (64,82 - 80,72)	49,60	$4,73 \pm 0,71$
Petrolândia	93,24 (75,69 - 129,24)	64,3	$5,90 \pm 0,51$	86,08 (68,01 - 112,77)	59,37	$5,23 \pm 0,47$	94,22 (84,91 - 105,74)	64,98	$6,4 \pm 0,62$

Vargem	108,39 (81,95 - 176,14)	74,75	4,04 ±0,66	82,82 (57,98 - 106,84)	57,12	3,64 ±0,54	85,85 (77,37 - 96,35)	59,21	4,37 ±0,66
--------	----------------------------	-------	------------	---------------------------	-------	------------	--------------------------	-------	------------

Legenda: LRS – Linhagem Referência de Suscetibilidade; DL₉₅ - dose letal 95% em mg/L; RR₉₅ - razão de resistência 95%; IC 95% - intervalo de confiança 95%.

5.2.2 Ensaios biológicos com o SumiLarv®

Referindo-se ao SumiLarv®, observou-se que a LRS apresentou, frente as soluções com diferentes dias de preparo, mortalidade similar, variando de 94% a 100%. O estágio de desenvolvimento mais acometido foi o de pupa (91% a 100% de mortalidade) seguido por adultos (3% a 6% de mortalidade) e larvas (3% de mortalidade).

Em relação às populações de campo coletadas em 2019, foi observada mortalidade similar entre elas e a LRS, frente as soluções com os diferentes dias de preparo, variando de 91,7% a 100%. O estágio de desenvolvimento mais afetado foi o de pupa (66,6% a 96,6% de mortalidade) seguido dos adultos (8,33% a 38,33% de mortalidade) e das larvas (3,33% a 16,5% de mortalidade). Comparando as populações de campo entre si, a mortalidade frente à solução de 1 dia pós-preparo (56,7% a 66,7%) foi menor quando comparada a obtida frente as soluções de 7,14, 21 e 28 dias (91,6% a 100%). Adicionalmente, a mortalidade frente à solução de 1 dia pós-preparo das populações de campo também diferiu da observada na LRS (93,3%) (Figura 14A) Considerando que as populações apresentaram mortalidade acima de 98% a pelo menos uma das soluções avaliadas elas foram classificadas como suscetíveis ao PF.

Em relação as populações de campo coletadas em 2021, foi observada mortalidade similar entre elas e a LRS, frente as soluções com diferentes dias de preparo, variando de 91,7% a 100%. O estágio de desenvolvimento mais afetado foi o de pupa (50% a 100% de mortalidade) seguido pelos adultos (0% a 45% de mortalidade) e pelas larvas (0% a 8,3% de mortalidade). Comparando as populações de campo entre si, a mortalidade frente à solução de 1 dia pós-preparo (56,7% a 65%) foi menor que a observada frente às soluções com 7,14, 21 e 28 dias (91,7% a 100%). Adicionalmente, a mortalidade frente à solução de 1 dia pós-preparo das populações de campo também se diferiu da observada na LRS (93,3%) (Figura 14B). Considerando que as populações apresentaram mortalidade acima de 98% a pelo menos uma das soluções avaliadas elas foram classificadas como suscetíveis ao PF.

Em relação às populações de campo coletadas em 2022, foi observada mortalidade similar entre elas e a LRS, frente as soluções com diferentes dias de preparo, variando de 91,7% a 100%. O estágio de desenvolvimento mais afetado foi o de pupa (55% a 91,7% de

mortalidade) seguido pelos adultos (8,3% a 38,3) % de mortalidade) e pelas larvas (0% a 5% de mortalidade). Comparando as populações de campo entre si, a mortalidade frente à solução de 1 dia pós-preparo (53,3% a 65%) foi menor que a observada frente às soluções com 7,14 ,21 e 28 dias (91,7% a 100%). Adicionalmente, a mortalidade das populações de campo frente à solução de 1 dia pós-preparo também se diferiu da observada na LRS (91,7%) (Figura 15). Considerando as populações terem apresentado mortalidade acima de 98% frente a pelo menos 1 das soluções avaliadas elas foram classificadas como suscetíveis ao PF.

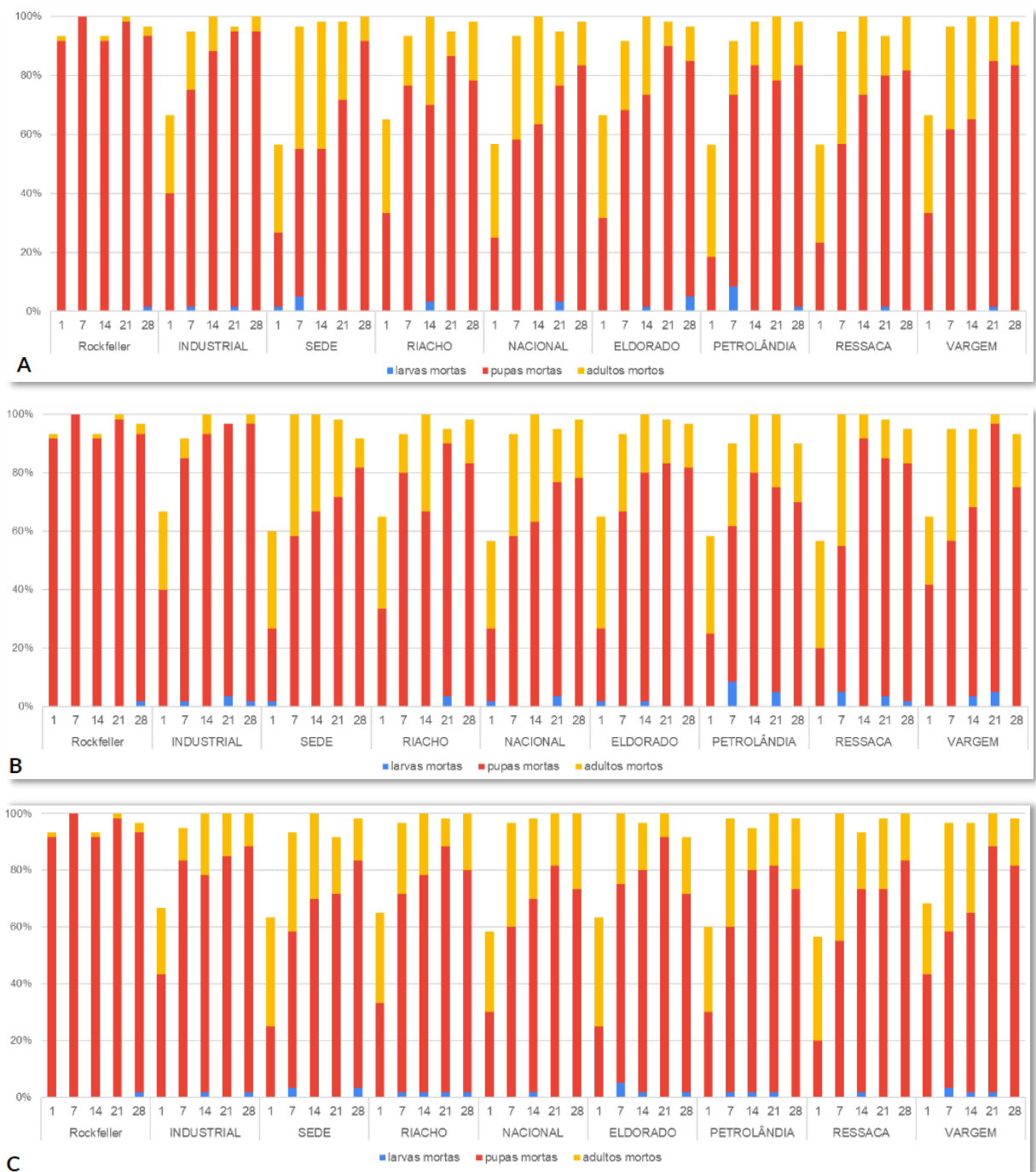


Figura 13. Mortalidade (%) de larvas (azul), pupas (laranja) e adultos (cinza) de populações de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida SumiLarv® (piriproxifeno 0,5g, Sumitomo Chemical) com 1, 7, 14, 21 e 28 dias após o preparo. Os insetos foram coletados em 2019 (A), 2020 (B) e 2021 (c) junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.

5.2.3 Ensaios biológicos com Natular™ DT, Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora® Fusion e Alfatek® 200 SC

Nos testes com larvas utilizando o Natular™ DT e com adultos utilizando o Komvektor™ 440 EW, o Cielo™ ULV e o Fludora® Fusion tanto para a LRS, quanto para as 8 populações de campo, nos três momentos amostrados (2019, 2021 e 2022), observou-se 100% de mortalidade, caracterizando as populações como suscetíveis aos PFs.

Diferentemente, nos testes nos quais os adultos foram submetidos ao Alfatek® 200 SC (na dose recomendada para o controle de *L. longipalpis*) em 2019, 2020 e 2021 observou-se 100% de mortalidade na LRS. Já nas populações de campo a mortalidade variou de 35% a 45% em 2019, de 33% a 44% em 2021 e de 35% a 46% em 2022 (Figura 16). A comparação da mortalidade das populações de campo com a LRS e entre si, dentro de cada um dos períodos de coleta e entre eles, foi realizada utilizando o teste Qui-quadrado. Nos casos em que o p-valor foi significativo ($p > 0,05$) realizou-se os pós-testes de Qui-quadrado comparando as populações par a par seguido da correção de Bonferroni voltado à múltiplas comparações. Em todas as situações as populações de campo apresentaram mortalidade semelhantes entre si e significativamente maior que a da LRS.

De acordo com os parâmetros estabelecidos pela OMS (1981; 2022) todas as populações de campo, em todos os tempos, foram classificadas como resistentes ao Alfatek® 200 SC.

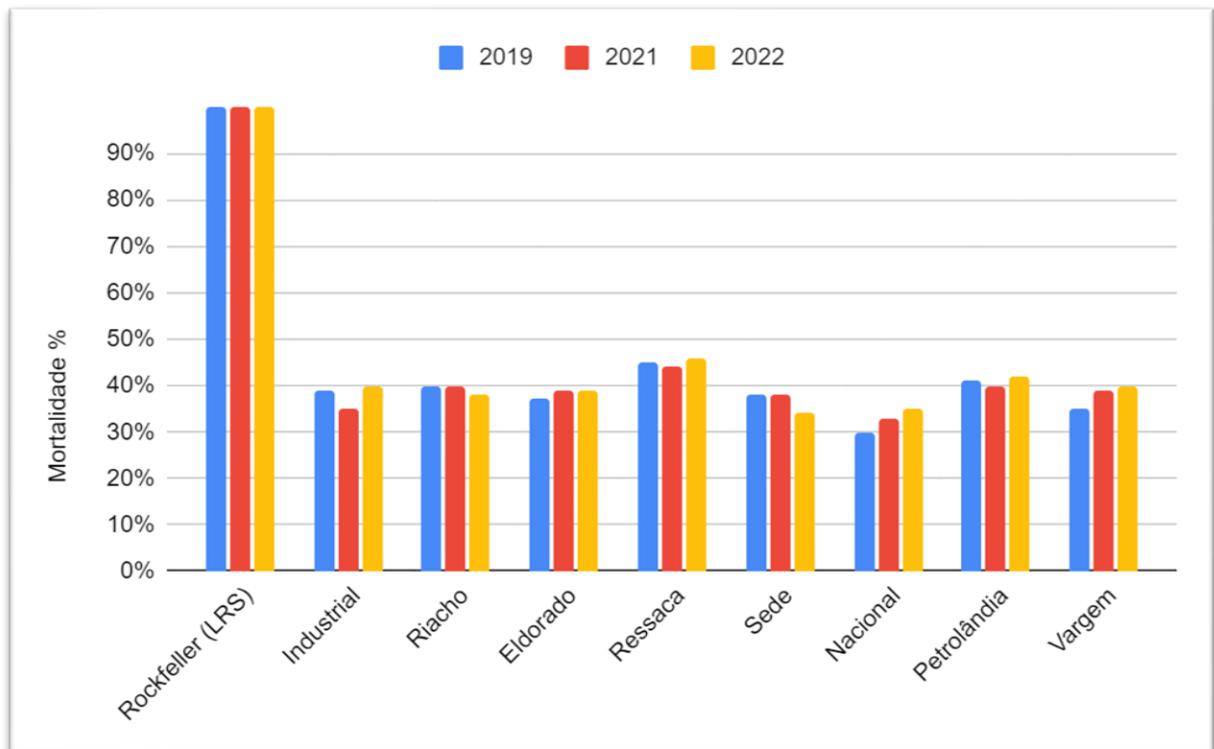


Figura 14. Mortalidade (%) de adultos de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) em resposta ao inseticida Alfatek® 200 SC (alfacipermetrina 20% p/p – Rogama) na concentração de uso recomendada pelo fabricante para o controle de *Lutzomyia longipalpis* (5ml/L para 500m²). Os insetos foram coletados em 2019, 2021 e 2022 junto às atividades de rotina da Secretaria Municipal de Saúde do município.

6. DISCUSSÃO

6.1. Revisão sistemática da literatura sobre o conhecimento acumulado referente a resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas

6.1.1. A resistência aos inseticidas das populações brasileiras de campo de *Aedes aegypti*

O primeiro ativo químico usado no Brasil para o combate de *Ae. aegypti* no Brasil foi o “Verde de Paris” em 1923, em uma campanha de erradicação coordenada pela Fundação Rockefeller. O verde de Paris, assim como os inseticidas o antes da Segunda Guerra Mundial, eram extremamente tóxicos para mamíferos, apresentando um grande risco para a saúde ambiental e animal (Soper, 1965). Nesse cenário, a descoberta do DDT foi revolucionária. Apesar desse inseticida ter sido responsável pela erradicação do *Ae. aegypti* no Brasil em 1955, com a reintrodução do vetor em 1967, esperava-se que o DDT pudesse ser novamente usado logrando o êxito até então observado. Contudo, nessa ocasião, os relatos da dificuldade no combate do mosquito com o DDT no estado do Pará já alertavam para um quadro de resistência (Franco, 1976). Considerando tal cenário, atrelado ao fato de existir no país em 1960 relato de resistência *Anopheles aquasalis* do Pará ao DDT (Rachou et al, 1960), ele teve seu uso descontinuado sendo substituído pelos OPs Temefós, como larvicida, e Fention como adulticida (Franco, 1976).

Em 1985, o CB propoxur foi introduzido no país para o controle de *Ae. aegypti* através da aplicação do tipo Ultra Baixo Volume (UBV). Em 1996, onze anos após o início do uso do propoxur para o controle de *Ae. aegypti*, algumas populações de São Paulo foram investigadas e mostraram-se suscetíveis (CAMPOS et al, 2001). Outro CB usado no Brasil foi o bendiocarb, o qual a data exata de início do uso para o controle de *Ae. aegypti* não é descrita na literatura, mas sabe-se que o PNCD o tinha como um inseticida a ser utilizado (Brasil, 2002). A este inseticida foi encontrada resistência em populações de São Paulo em 2002 (mortalidade DD 60%) (Macoris et al, 2015).

Em 1995, tem-se o primeiro relato de resistência de populações brasileiras de *Ae. aegypti*, coletadas em Goiás (GO) entre 1992 à 1994, ao OP Temefós (mortalidade DD 86,5 a 97,5%). Segundo a OMS (1981) os resultados indicavam uma resistência a se verificar que já se mostrava preocupante considerando ser o temefós o inseticida mais utilizado naquela época para o combate do mosquito (Macoris et al 1995). Em 1999, foram detectadas populações resistentes do Rio de Janeiro (RR₉₀ 3,6 a 12,4) ao Temefós (Lima et al, 2003), cenário que se espalhou por todo o país, apresentando-se de forma mais crítica em Pernambuco (RR₉₀ 240) e

no Ceará (RR₉₅ 192,7) (Lima et al, 2009; Moyes et al, 2017; Valle et al, 2019). Devido ao fato do temefós ter sido um inseticida utilizado por longo período no país, da década de 1980 até o final 2009, momento no qual foi substituído por IRGs, ele foi um inseticida com muitos estudos sobre a resistência. E como esperado, infelizmente, esse uso intenso e prolongado selecionou populações resistentes por todo o território nacional (OMS, 1997; Macoris et al, 1999; Valle et al, 2019).

Em 1985 o malathion foi implementado para controle de *Aedes* no Brasil sendo que em 1999, Macoris et al (1999) relataram resistência a se verificar de *Ae. aegypti* coletados em 9 municípios de São Paulo (mortalidade a DD 96,5%). Adicionalmente, os autores observaram resistência em São Paulo (mortalidade a DD 42,6%), Pernambuco (mortalidade de 66,3% a 87,5%) e Sergipe (mortalidade DD 61% a 81,3%). No mesmo ano, foram detectadas as primeiras populações com mesmo *status* de resistência no Rio de Janeiro (mortalidade DD 83,3% a 93,8%) e no Espírito Santo (mortalidade DD 97%) (Lima et al, 1999).

Em 1989, o malathion foi substituído pelo fenitrothion (como adulticida) sendo que em 1999, foram detectadas as primeiras populações resistentes em São Paulo (mortalidade DD 75%) (Lima et al, 2003), ano em que ele foi substituído pelo PI cipermetrina (Macoris et al., 1999)

No período de 1995 a 1998, momento anterior ao uso dos PIs foram relatadas populações de São Paulo e do Pará com resistência a cipermetrina (RR₉₅ 3,5) e a lambdacialotrina (mortalidade DD 38%), respectivamente (Campos et al, 2001; Brengues et al, 2003). Este fato foi atribuído a resistência cruzada entre OP e PI. Desse modo, em 2001 foram observadas as primeiras populações de *Ae. aegypti* resistentes ao PI após a introdução desses inseticidas para o controle de mosquito. da-Cunha et al (2005) observaram resistência a cipermetrina em populações de *Ae. aegypti* oriundas do Rio de Janeiro (mortalidade DD 51,1 a 94%), em Alagoas (mortalidade DD 62 a 87,5%) e no Sergipe (mortalidade DD 92,7%). Os PIs foram amplamente usados no país, sendo distribuídos continuamente para 19 estados entre 2003 e 2014 (Valle et al, 2019). Durante e após esse período foram detectadas populações resistentes a PIs, em todos o território nacional, a ciflutrina, a alfacipermetrina, a betaciflutrina, a cipermetrina, a deltametrina, a lambdacialotrina e a permetrina (Campos et al, 2001; Brengues et al, 2003; Luna et al, 2004; da-Cunha et al, 2005; Macoris et al, 2007; Lima

et al, 2011; Fontoura et al, 2012; Bellinato et al, 2012; Bellinato et al, 2013; Maciel-de-Freitas et al, 2014; Chapadense et al, 2015; Bellinato et al, 2016; Bona et al, 2016; Viana-Medeiros et al 2017; Moyes et al, 2017; Garcia et al, 2018; Macoris et al, 2018; Corte et al, 2018; Garcia et al, 2019; Valle et al, 2019; Rahman et al, 2021; Filho et al 2021). Destaca-se que São Paulo interrompeu o uso de PI 2000 para o controle de vetores, porém esta classe de inseticidas continua sendo usada pelo setor privado para controle de vetores e pragas, bem como pela própria população considerando a demanda doméstica, com impacto de selecionar populações resistentes (Macoris et al, 2014).

Em 1999, no mesmo ano em que se observaram os primeiros relatos de resistência de *Ae. aegypti* ao malation, foi criada a Rede MoReNAa. Ela tinha por objetivo investigar, caracterizar e monitorar a resistência das populações brasileiras *Ae. aegypti* aos inseticidas (Brasil, 1999; Moyes et al, 2017; Valle et al, 2019). Periodicamente eram inseridas novas populações para o estudo, geralmente provenientes de áreas que relatavam dificuldade no controle com inseticidas. A cada dois anos, algumas populações eram reavaliadas gerando informações importantes sobre a dinâmica da resistência no mosquito, bem como sobre o impacto de algumas ferramentas/estratégias de controle no campo. Dessa forma, entre 1999 e 2012, os estudos dessa rede indicavam em todo o país populações do mosquito com resistência a se verificar e/ou já estabelecida (Moyes et al, 2017).

Além dos bioensaios, a Rede MoReNAa foi pioneira nos estudos de mecanismos de resistência de populações brasileiras, neste sentido foram realizados ensaios moleculares com o intuito de avaliar a resposta enzimática de populações resistentes e investigações de mutações do sítio-alvo de inseticidas. Nos primeiros ensaios moleculares, Brengues et al (2003) e Macoris et al (2003) detectam alterações na atividade de MFOs, GSTs e ESTs (A-EST, B-EST e PNPA-EST), em populações resistentes a temefós de 5 estados brasileiros. Em relação a mutações de sítio alvo, Brengues et al (2003) investigaram a presença de mutações de sítio alvo em população do Para resistente a DDT (RR₉₅ 54) e permetrina (RR₉₅ 8,6), sendo detectada (substituição na posição 104 do aminoácido, devido a uma mutação A/G no nucleotídeo 314, e uma substituição de glicina por valina no aminoácido 16, devido a uma mutação G/T no nucleotídeo 49).

Em colaboração com a Rede MoReNAa, o estado de São Paulo implementou a realização periódica de ensaios de campo e semicampo dos inseticidas utilizados pelo programa de controle. Os ensaios foram realizados dentro de um período de 10 anos e avaliou

malation, deltametrina, bendiocarb e cipermetrina. Destaca-se que foi observada resistência a cipermetrina em campo (mortalidade DD 40% a 60%) entre 2000 e 2001, levando o governo de São Paulo a substituir PIs pelos OPs malation e fenitrothion em 2001. Dez anos depois, em 2011 se observou resistência em ensaios de campo ao malation (mortalidade DD 60%), ao bendiocarb (mortalidade DD 42% a 65%), ao fenitrothion (mortalidade DD 45% a 60%), a cipermetrina (mortalidade DD 60%) e a deltametrina (mortalidade DD 15% a 30%). Destacar o teste de campo considerado padrão ouro para avaliação de resistência, uma vez que é o mais próximo do cenário encontrado por um inseto selvagem (Macoris et al, 2014).

Em 2001, o MS abandonou o objetivo de erradicar *Ae. aegypti* pela terceira vez do país, optando por focar no manejo desse inseto (Brasil, 2001). Destaca-se que na ocasião, já haviam sido detectadas populações resistentes a OPs em todas as macrorregiões do Brasil (Montella, 2007; Moyes, 2017).

Em 2007, Montella et al (2007) realizam um extenso estudo investigando a alteração de resposta enzimática em populações de *Ae. aegypti* resistentes provenientes de sete Estados. Foi detectada alteração na atividade de AChE, MFOs, GSTs e ESTs (A-EST, B-EST e PNPA-EST) em populações resistentes aos OPs e aos PIs. Este achado motivou a revisão dos pontos de cortes adotados para a classificação de atividade enzimática das populações de campo, a partir da observação da LRS, entendendo-se como: inalterada se a atividade da população de campo fosse <15%; alterada quando se apresentasse entre 15% e 50%; e muito alterada quando fosse >50%. Porém, mesmo após os exaustivos ensaios relacionados, aumentando-se inclusive o número de substratos/genes avaliados não foi observada correlação entre resistência aos inseticidas e alteração das enzimas detoxificativas, e, menos ainda, entre níveis de resistência e os níveis de alteração enzimática. Dessa forma, a partir de 2012 esses estudos foram interrompidos.

Em 2009, foram reportadas populações resistentes ao temefós em todos os estados brasileiros, momento no qual o cenário era semelhante para o fenitrothion e os PIs (Lima et al, 2003a; Lima et al 2003b; Campos et al, 2003; Carvalho et al, 2004; Braga et al, 2004; Braga et al, 2005; Lima et al, 2006; Beserra et al, 2007; Montella et al 2007; Macoris et al, 2007; Moyes et al, 2017). Nesse ano, o MS substituiu o temefós pelo do Bti, adotando, em simultâneo a estratégia de rotatividade de inseticidas para tentar desacelerar a seleção de novas populações resistentes (Brasil, 2009). Mesmo sem ter sido reportada a resistência ao Bti em *Ae. aegypti* no Brasil, em 2014, ela foi substituída pelo IGR piriproxifeno (Araújo et al,

2013; Suter et al, 2017). Os IGRs - biopren, diflubenzuron, novaluron, piriproxifeno, triflumuron - foram utilizados em rotatividade até 2019, contudo os primeiros relatos de resistência ao piriproxifeno datam de 2017 em populações do Distrito Federal (RR₅₀ 7,7), do Ceará (mortalidade DD 95,3%) e da Bahia (mortalidade DD 85,8) (Carvalho et al, 2017; Campos et al, 2020). Os outros IGRs também foram avaliados, porém sem relato de resistência (Braga et al, 2005; Fontoura et al, 2012; Bellinato et al, 20015; Bellinato et al, 2016; Viana-Medeiros, 2017; Garcia et al, 2018; Araújo et al, 2019; Garcia et al, 2019). Sendo que anterior a escolha da implementação dos IGRs foram realizados estudos de campo e semicampo para averiguação da eficácia dos PFs e da possível presença de resistência cruzada com temefós. Os produtos foram considerados eficazes (Brasil, 2008; Fontoura et al, 2012)

Em 2009, em simultâneo a mudança dos larvicidas, o MS retomou o uso, como adulticida, do malation e do CB bendiocarb em sistema de rotação (Brasil, 2009). Em 2017 e 2018, foram detectadas resistência ao bendiocarb em populações de Belo Horizonte (ano 2017 RR₉₅ 3,1 a 5,2 e ano 2018 RR₉₅ 9,8) (Serravite, 2021). Por sua vez, em 2011, populações do Mato Grosso do Sul foram detectadas com resistência ao bendiocarb (mortalidade DD 91,6%) (Moyes et al, 2017).

Ainda em 2009, Martins et al, (2009) detectaram em um *screening* de populações de todo país a presença da mutação KDR V1016Ile em 15 Estados. Apesar do fim da Rede MoReNAa em 2012, as investigações de mutações de sítio alvo continuaram sendo realizadas pelo LAFICAVE. No Brasil já foram detectadas as mutações V410L, V1016I e F1534C, sendo as duas últimas as mais frequentes, podendo ser encontradas caracterizando os 2 principais perfis de resistência a PIs no país, R1 (apenas F1534C) e R2 (V1016I + F1534C) (Lins et al, 2014; Maciel-de-Freitas et al, 2014; Bellinato et al, 2016; Collet et al, 2016; Dolabela et al, 2016; Haddi et al, 2017; Viana-Medeiros et al, 2017; Garcia et al, 2018; Valle et al, 2019; Costa et al, 2020). Por fim, tem-se observado um aumento na frequência do perfil R2 em populações resistentes por todos o país, fato esse preocupante tendo em vista que o perfil R2 está relacionado a uma maior resistência a PIs (Costa et al, 2020).

Em 2019, considerando os relatos de resistência ao piriproxifeno e ao malathion, o MS definiu a substituição destes inseticidas pelos adulticidas Cielo® UBV (Praletrina + imidacloprida - Clark®) e Fludora® Fusion (Deltametrina + clotianidina - Bayer) e larvicida Natular™ DT (espinosade - Clark®). Esta foi a primeira vez que um neonicotinóides foram

adotados no país para controle de vetor, sendo que ainda não existem estudos que avaliem seu impacto em populações do campo. Já em relação ao espinosade, já foi detectada em *Ae. aegypti* do Para (RR₉₅3,5), Goiás (RR₉₅ 5,4), Espírito Santo (RR₉₅3,6), São Paulo RR₉₅ 3,9), Bahia (RR₉₅ 3,6) e Alagoas (RR₉₅ 3,4) resistência cruzada devido ao uso de Temefós (Dias et al, 2017). Também foi avaliado em condições de semicampo o próprio Natular, sendo que Dias et al (2017) observou mortalidade acima de 75% durante 7 semanas consecutivas. Portanto o Natular foi considerado eficaz, apesar da resistência detectada em laboratório ao espinosade GT.

6.1.2. Avaliação crítica sobre os principais aspectos relacionados à metodologia adotada nos estudos que avaliaram a resistência aos inseticidas das populações de campo brasileiras

Apesar de ter sido criada em 1948, já em 1958 a OMS, motivada pela preocupação com o surgimento de vetores resistentes ao DDT e a outros inseticidas, iniciou o desenvolvimento e a padronização de metodologias para investigação da resistência em insetos vetores com importância médica. Dessa forma, em 1981 a OMS preconizou, baseada em Davidson & Zahar (1973), a primeira metodologia internacionalmente recomendada para a investigação da resistência de mosquitos aos inseticidas, contemplando as fases de larvas e adultos, com orientações para estudos no laboratório. Para as larvas pressupõe-se a exposição e manutenção dos insetos ao inseticida na dose de interesse, em um recipiente qualquer de plástico ou vidro. Já para os adultos, a metodologia se assemelha, em parte, a realidade no campo, ou seja, a exposição do mosquito em uma superfície tratada com o inseticida de interesse. Para tal, foram desenvolvidos os Kits OMS (Figura 11) nos quais se utilizam papel impregnado com o inseticida de interesse. Destaca-se que em relação ao papel impregnado, a OMS vem atualizando a lista de ativos e doses disponíveis para compra (1976, 1981, 1992, 1998, 2002, 2008, 2012, 2016, 2022) sendo possível a aquisição de algum outro que não conste na lista de produção mediante encomenda. Pensando na exequibilidade desses testes, para as larvas é 100% factível contudo, para os adultos destaca-se uma limitação referente a compra dos kits e dos papeis. Eles são produzidos exclusivamente na Malásia por um laboratório credenciado e certificado pela OMS sendo comercializados em valor acessível. Contudo, para a aquisição no Brasil o valor da taxa de importação é superior ao valor de compra do produto, dificultando ou até inviabilizando a mesma. Para os papeis impregnados, destaca-se que o experimentador tem duas alternativas: adquiri-los comercialmente junto ao

Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores do Instituto Oswaldo Cruz (LAFICAVE/ IOC Fiocruz) que coordenou a Rede MoReNAa ou confeccionar os próprios papeis, o que exige apuro técnico e atenção a alguns detalhes metodológicos importantes (ex. em relação ao papel de filtro porosidade, não pode ter sido tratado previamente com inseticida; em relação a técnica de impregnação - a distribuição da solução nos papeis, secagem e acondicionamento dos papeis, etc).

Alternativamente, para o estudo da resistência dos adultos aos inseticidas, tem-se a metodologia preconizada pelo *Center for Disease Control* (CDC) em 1992. Nela, garrafas de vidro de 250ml são impregnadas com o inseticida na dose de interesse. Se por um lado a aquisição das garrafas é simples, por outro, essa técnica apresenta dificuldades operacionais que precisam ser consideradas, tais como: a necessidade de apuro técnico para impregnar as garrafas; a dificuldade para colocar e retirar os insetos da garrafa; o efeito de estática gerado pelo vidro o que pode atrair e “prender/matar” os insetos e a possibilidade de umidificação de alguns pontos da garrafa ocasionadas pelo “capturador de castro” durante a colocação e/ou retirada dos insetos o que pode gerar áreas nas quais eles ficarão aderidos.

Nos trabalhos incluídos nessa revisão sistemática, observou-se uma maior adoção do kit OMS (1981) (56%) em relação a do CDC (40%), sendo que poucos (4%) estudos adotaram ambas as metodologias. Contudo, destaca-se, que recentemente a OMS padronizou uma nova metodologia denominada “*WHO bottle assay*” (Teste de Garrafa OMS), baseada na do CDC (OMS, 2023). Apesar de ambas utilizarem garrafas e recomendarem a impregnação seguindo o mesmo protocolo a metodologia do CDC (1992) e da OMS (2023) se diferem em relação ao tempo para registro da mortalidade (CDC após 2 horas de exposição e OMS 24 horas).

O uso dos inseticidas é regulamentado internacionalmente pela *World Health Organization Pesticides Scheme* (WHOPES) e nacionalmente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Atualmente no Brasil a escolha dos novos inseticidas a serem utilizados para o controle em saúde pública é feita a partir de uma lista de produtos pré-aprovados pela OMS (Brasil, 2019). Essa lista contém atualmente 87 produtos representantes das classes dos OPs, PIs, NEs, IGRs, CBs, butenolides e bioinseticidas (OMS, 2023). Nos trabalhos selecionados nessa revisão sistemática, observou-se que 32 (72,8%) dedicaram-se ao estudo de inseticidas GT, 6 (13,6%) de inseticidas PF e 6 (13,6) ambos. Um ponto importante a se considerar é que nos estudos com GT observa-se a possibilidade não só de

identificar uma possível resistência em laboratório através dos ensaios qualitativos (também conhecidos por dose Diagnóstica), como também de quantificar a resistência através dos ensaios quantitativos (também conhecidos por dose-resposta).

Nessa revisão, observou que 5 (11,4%) e 16 (36,3%) estudos realizaram exclusivamente bioensaios qualitativos ou quantitativos, respectivamente. Destacam-se ainda que 23 estudos (52,3%) adotaram ambas as metodologias. Nos bioensaios qualitativos a mortalidade frente a uma única dose do inseticida (para inseticida GT pensando nos mosquitos é $DD = 2 \times CL/DL_{99}$ da LRS; para inseticida PF é a dose recomendada pelo fabricante) é utilizada para informar se pode ou não haver resistência a ele. Os testes com mosquitos pressupõem a utilização de três grupos biológicos distintos ($n=30$ espécimes/cada) realizados em dias independentes. Segundo a OMS (1981), mortalidade $\leq 80\%$, $80\%-98\%$ e $\geq 98\%$ indicam resistência, resistência a verificar e suscetibilidade, respectivamente. Frente a um indicativo de resistência ou resistência a verificar, recomenda-se a realização do bioensaio quantitativo (a ser desenvolvido com o inseticida GT). Nesse teste, pressupõe-se o uso de no mínimo oito concentrações/doses com vistas a se obter taxas de mortalidade que variem de 10 a 95% e, em seguida, realizar uma análise de regressão, obtendo-se, assim, as CLs/DLs, as RRs e o *slope*. Para cada dose recomenda-se a utilização de três grupos biológicos ($n=30$ espécimes/cada) com testes realizados em dias independentes. Com os resultados, realiza-se a análise estatística utilizando os intervalos de confiança e o desvio padrão. Por fim, a partir da RR classificam-se as populações em suscetível ou resistente, podendo-se utilizar a preconização de Mazzarri & Georghiou (1995) ($RR \leq 2\%$ suscetível, >2 resistente) ou de Brasil (2006) ($RR \leq 3\%$ suscetível; >3 resistente), respectivamente). Dos 39 estudos que realizaram testes quantitativos, 13 (33,3%) utilizaram a classificação proposta por Mazzarri & Georghiou (1995), 8 (20,5%) utilizaram Brasil (2006) e 18 (46,2%) foram outros. Destes, 3 (16,7%) apresentaram como ponto de corte para classificação da RR o trabalho Montella et al (2007) e 1 (5,6%) apresentou Valle et al (2019), contudo trata-se da preconização de Brasil (2006) permitindo-nos entender que a citação foi realizada errada (Fontoura et al, 2012; Maciel-de-Freitas et al, 2014; Viana-Medeiros et al 2017; Filho et al, 2021). Além destes, 4 (22,2%) trabalhos anteriores a Brasil (2006) e 2 (11,1%) posteriores definiram ponto de corte igual a Brasil (2006) (Lima et al, 2003; Beserra et al, 2007; Montella et al, 2007; Campos et al, 2003; Corte et al, 2018; Garcia et al, 2019). Por fim, 8 (44,4%) trabalhos não apontarão critério de corte para RR descritos na literatura. A utilização de diferentes pontos de corte para classificar as RR não permite a comparação dos estudos. É importante destacar que a

preconização de Brasil (2006) foi realizada tomando como ponto de partida Mazzarri & Georghiou (1995), contudo, acrescida de informações sobre o conhecimento da biologia de *Ae. aegypti* e da dinâmica da resistência no campo observada através do monitoramento por anos de populações brasileiras de *Ae. aegypti* pelo Rede MoReNAa. Nesse sentido, considerando que a resistência é um fenômeno dinâmico na linha temporal fica evidente que estudos que monitorem as populações no tempo é fundamental, contudo, dentre os trabalhos inseridos nessa revisão verificamos que apenas 14 (35%) fizeram esse tipo de avaliação.

Vencida a etapa de realização do bioensaio quantitativo no laboratório, frente a indicação de resistência, recomenda-se a realização dos testes no campo. De fato, para o estudo da resistência, os testes no campo é que são considerados o padrão-ouro. Desse modo, entendem-se os testes de laboratório como uma etapa preliminar por se tratar de uma metodologia operacionalmente mais fácil, rápida e de barata execução podendo ser utilizados produtos GT ou PF. Já os testes no campo apresentam maior complexidade e custo, podendo ser de dois tipos, ambos utilizando inseticidas PF: i) semicampo cuja área de estudo geralmente é reduzida, o acesso a ela geralmente é limitado à equipe de pesquisa e algumas condições podem ser controladas e; ii) campo no qual a área é maior, o acesso é aberto e as condições ambientais são não controladas. Em relação aos estudos no campo segue-se a preconização da OMS (1981). Para os PF destinados ao controle das larvas, os insetos são expostos nos criadouros naturais tratados com o inseticida. Já para PF desenvolvidos para adultos, os mosquitos podem ser expostos dentro gaiolas ao inseticida pulverizado no ambiente por equipamentos do tipo UBV ou podem ser expostos em cones fixados a superfícies tratadas tais como paredes ou outras superfícies. Dos 55 estudos inseridos nesse trabalho, apenas 5 (9,1%) investigaram a resistência no campo sendo três do tipo semicampo e dois de campo.

Considerando-se que *Ae. aegypti* apresentam ciclo de desenvolvimento holometábolo, sabe-se que as larvas se desenvolvem no meio aquático em criadouros com água relativamente limpa e se alimentam de matéria orgânica por filtração ativa. Diferentemente, os adultos de ambos os sexos vivem no ambiente terrestre e se alimentam de solução açucarada (ex. néctar de flores) sendo que as fêmeas também necessitam de sangue com vistas a maturação dos ovócitos (Macfie, 1915; Howard, 1928). Dessa forma, é esperado que larvas e adultos apresentem maquinários fisiológicos, bioquímicos e moleculares distintos que lhes permitam desenvolver nas diferentes condições mencionadas. Nesse sentido, é compreensível

que a resposta do mosquito a diferentes estímulos, incluindo aos xenobióticos (ex. inseticida), seja diferente quando larva ou adulto. Adicionalmente a forma de exposição desse inseto ao inseticida nos testes de laboratório e campo são diferentes: as larvas ficam mergulhadas no inseticida enquanto os adultos podem ter contato por aspersão via UBV ou pousando em superfícies tratadas. Desse modo, o perfil de suscetibilidade/resistência das larvas não pode ser extrapolado para os adultos, ainda que eles sejam da mesma população. Nossa revisão de literatura revelou que dos 44 trabalhos que realizaram bioensaios no laboratório, 19 (43,2%) investigaram a resistência exclusivamente nas larvas, e 5 (11,4%) exclusivamente nos adultos e 20 (45,4%) em ambas as fases de desenvolvimento. O maior número de estudo com larvas pode estar relacionado a uma maior facilidade de obtenção das larvas quando comparado a obtenção dos adultos pensando-se no investimento necessário para a manutenção das colônias em laboratório (ex. tempo, espaço, mão de obra, fonte alimentar etc.). Destaca-se ainda, que invariavelmente os testes com adultos de *Ae. aegypti* são realizados somente fêmeas uma vez que apenas elas realizam a hematofagia e, portanto, apresentam importância na veiculação de patógenos.

Um ponto fundamental para os estudos de resistência aos inseticidas é o controle negativo, ou seja, aquela linhagem de laboratório (LRS) que será utilizada como padrão de suscetibilidade, sendo as populações de campo comparadas com ela. A não utilização da LRS ou não informação da LRS utilizada fragilizam e/ou comprometem a interpretação dos resultados e, portanto, a validação deles. Por sua vez, o uso de LRS diferentes também compromete a comparação entre os diferentes estudos. Ressalta-se que a adoção da LRS para *Ae. aegypti* é de simples resolução considerando que a quiescência dos ovos atribui facilidade de doação para os diferentes laboratórios. Nessa revisão sistemática observou-se que dos 44 estudos que realizaram bioensaios, 3 (6,8%) não informaram a LRS adotada. Das que informaram, 40 (97,6%) utilizaram a Rockfeller, 1 (2,4%) a AEAE e 2 (4,8%) a RecL. AEAE é uma linhagem de suscetibilidade selecionada pelos autores, porém não foi descrita pelos mesmos, nem foi possível encontrá-la na literatura (Bregues et al, 2003). Por sua vez, RecL é uma linhagem suscetível estabelecida a partir de uma grande amostragem de ovos da Região Metropolitana do Recife, que vem sendo mantida desde 1996 no insetário do CPqAM-FIOCRUZ, foi utilizada em conjunto a Rockfeller (Santos et al, 2009; Araújo et al, 2013; Suter et al 2017)

Em relação aos grandes grupos de inseticidas neurotóxicos (OC, CB, OP, PI, NE), a descoberta e adoção para o controle de insetos vem acontecendo de forma gradativa ao longo dos anos, com início em 1940. Dessa forma, era esperado que após as primeiras observações de dificuldade para o controle dos vetores no campo é que começassem a surgir estudos sobre resistência aos inseticidas. Neste contexto, é razoável supor que a sucessão dos inseticidas no campo se traduza na nos estudos de resistência estudos de resistência. Corroborando esse raciocínio, nessa revisão de literatura percebeu-se que os relatos de resistência aos OC, OP e PI datam todos do período de 1994 a 1999, coincidindo com os primeiros estudos de resistência aos inseticidas em *Aedes* no Brasil. Isso porque DDT, um OC, já era usado no controle de vetores (*Aedes*, *Anopheles*, *Triatoma*) no país desde o final da década de 40. Sendo que em 1967 já havia relatos de possível resistência (Franco, 1976). Como consequência do uso deste inseticida foi também selecionada resistência cruzada para PIs, compostos que possuem mesmo sítio alvo do DDT. Dessa forma, entre 1997 e 1999 foram detectadas em São Paulo e no Pará populações resistentes a cipermetrina (RR₉₅ 3,5) e lambdacialotrina (mortalidade DD 38%), antes mesmo do uso de PI ter sido introduzido na região (Franco, 1976; Campos et al, 2001; Brengues et al, 2003;). Destaca-se que as primeiras populações resistentes a PIs devido ao uso de PIs e não devido a resistência cruzada foram detectadas em 2001 (da-Cunha et al, 2005). Em relação aos OPs, eles foram os inseticidas que substituíram o DDT durante os esforços para eliminar *Ae. aegypti* pela segunda vez do território brasileiro, sendo intensamente utilizados desde 1967 (Franco, 1976; Macoris et al, 1999; Valle et al 2019).

Referindo-se ainda aos inseticidas neurotóxicos tem-se descritos como sítios de ação:

- i) para os OC (DDT e *DDT like*) e PI, as proteínas do canal de sódio; ii) para os OC (alíclicos clorados) e NE, os canais GABA; iii) para os CB e OP a acetilcolinesterase. Esse conhecimento é fundamental para o desenvolvimento dos estudos que se dedicam a investigação da resistência aos inseticidas, estando descritos os seguintes mecanismos: i) resistência bioquímica a partir da alteração da atividade enzimática (seja pelo aumento das enzimas detoxificativas ou da presença de enzimas mutadas mais eficientes na biotransformação) e ii) resistência mutação do sítio alvo nos quais os alvos de ação dos inseticidas, por mudanças em resíduos de aminoácidos passam a não serem mais sensíveis aos ativos e iii) resistência cuticular (seja por seu espessamento ou mudança na composição química da cutícula) uma vez que essa é a primeira barreira para a entrada do inseticida pelo inseto pensando no tegumento. A partir da revisão sistemática, observamos que 33 dos

trabalhos (60%) limitaram-se em caracterizar a resistência através dos bioensaios, sendo que apenas 22 (40%) dedicaram-se ao estudo do(s) possível(is) mecanismo(s) envolvido(s). Desses, 13 (59,1%) investigaram a resistência bioquímica e 17 (77,3%), a mutação no sítio alvo. Destaca-se que nenhum estudo se dedicou a investigação do mecanismo molecular permitindo-nos questionar, se, de fato, esse mecanismo é pouco presente ou se é pouco investigado. Com o objetivo de avaliar o impacto da nitisinona na sobrevivência de *Ae. aegypti*, Ramirez et al, (2023) avaliaram a entrega da droga de duas formas a mosquitos resistentes e suscetíveis a PI: de forma oral e por aplicação tópica. Os autores observaram que houve variação na sobrevivência apenas frente a aplicação tópica da droga sendo que houve maior mortalidade nos insetos suscetíveis quando comparados aos resistentes indicando a cutícula como uma barreira importante nessa proteção.

Em relação aos estudos bioquímicos da resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas no Brasil, de fato, se tornaram presentes devido ao investimento da Rede MoReNAa, estando concentrados no período entre 1999 a 2012 como mostrado nessa revisão (Lima et al 2003; Braga et al, 2005; Lima et al, 2005; Montella et al, 2005; Martins et al, 2009; Martins et al, 2009; Melo-Santos et al, 2010; Lima et al 2011; Araujo et al, 2013; Diniz et al, 2015; Belinato et al, 2016; Viana-Medeiros et al, 2017; Macoris et al, 2018; Valle et al, 2019). Contudo, a falta de correlação entre a resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas e as enzimas ensaiadas sugeriu que estava sendo adotado um número reduzido de substratos (n=6) e ainda, que esses alvos poderiam ser pouco específicos pensando na detoxificação dos inseticidas. Essa hipótese foi confirmada por Storde et al (2008) que ao avaliarem 204 substratos possivelmente envolvidos com a resistência enzimática aos inseticidas, em 2 populações que apresentavam sabidamente diferentes RR, não observaram um padrão de reposta. Dessa forma, os estudos bioquímicos foram interrompidos cedendo lugar aos estudos de bioinformática com diferentes vetores para o melhor entendimento das famílias multienzimáticas, como o realizado por Schama et al (2016).

Ainda no momento em que os estudos bioquímicos para a detecção da resistência aos inseticidas em *Ae. aegypti* eram realizados pela Rede MoReNAa, os estudos moleculares investigando mutações nas proteínas do canal de sódio foram iniciados no Brasil, datando o primeiro de 2009 (Martins et al, 2009). Dessa forma, as investigações moleculares ganharam força motivadas também por uma época sabidamente de domínio de novas técnicas moleculares. Dessa forma, mesmo após o encerramento da Rede MoReNAa, essa linha de

pesquisa se manteve no LAFICAVE que atualmente é o principal grupo dedicado a tais estudos no país (Martins et al, 2009; Martins et al, 2009; Belinato et al, 2012; Linss et al, 2014; Chapadense et al, 2015; Belinato et al, 2016; Moyes et al 2017; Macoris et al, 2018; Garcia et al, 2018; Campos et al, 2020). Vale destacar, contudo, que apesar de ser o mecanismo mais investigado no cenário da resistência dos mosquitos aos inseticidas, dos 55 estudos triados nessa revisão sistemática apenas 17 (31%) apresentaram tal abordagem.

Por fim, pensando ainda nos mecanismos que conferem resistência aos vetores, incluindo *Ae. aegypti*, o envolvimento de um mecanismo não descarta a participação de outros. A partir dessa revisão de literatura foram observados que apenas 8 (36%) dos 22 estudos que avaliaram mecanismos de resistência, se dedicaram a uma avaliação conjunta das enzimas detoxificativas e de mutações gene Na_v .

Sobre o local de coleta das populações brasileiras de *Ae. aegypti* que tiveram a resistência aos inseticidas investigada nos trabalhos selecionados nessa revisão, foi possível observar que apesar de contemplarem todo as macrorregiões do país (11,4% norte, 23,1% nordeste, 8,8% centro oeste e 2,4% do Distrito federal, 51,2% sudeste e 3,1% sul) em sua maioria são de populações do nordeste e sudeste (Macoris et al, 1995; Macoris et al, 1999; Campos et al, 2001; Lima et al, 2003; Lima et al, 2003; Campos et al, 2003; Braga et al, 2004; da-Cunha et al, 2005; Braga et al, 2005; Montella et al, 2007; Macoris et al, 2007; Fontoura et al, 2012; Belinato et al, 2013; Macoris et al, 2014; Bona et al, 2016; Dias et al, 2017; Moyes et al, 2017; Garcia et al, 2018; Macoris et al, 2018; Garcia et al, 2019; Valle et al, 2019; Campos et al, 2020; Rahman et al, 2021; Filho et al, 2021). Se considerarmos que tais estudos foram desenvolvidos predominantemente após 1999, ano no qual foi criada a Rede MoReNAa, e que essa rede foi composta por laboratórios que estavam localizados na região sudeste e nordeste, pode-se intuir correlação entre o local do laboratório e o local de coleta das amostras. Desse modo, conhecendo o perfil de resistência das populações brasileiras de *Ae. aegypti* no país e a capacidade de dispersão desse mosquito, inferimos que a resistência de *Ae. aegypti* conhecida no Brasil não está presente nas demais áreas simplesmente porque elas não foram investigadas. Após 2012, ao encerrar as atividades da Rede MoReNAa essa linha de pesquisa se manteve no LAFICAVE que atualmente é o principal grupo dedicado a tais estudos no país ((Martins et al, 2009; Martins et al, 2009; Belinato et al, 2012; Linss et al, 2014; Chapadense et al, 2015; Belinato et al, 2016; Moyes et al 2017; Macoris et al, 2018; Garcia et al, 2018; Campos et al, 2020).

6.2. Investigação a resistência de *Aedes aegypti* de Contagem (Minas Gerais) aos inseticidas de interesse

O registro mais antigo do combate a pragas, parasitos e vetores utilizando plantas com efeito inseticida data de aproximadamente 1200 anos antes de Cristo, na China, através da técnica de fumigação (Retnakaran et al, 1985). Ainda em 1697, Boccone relatou o uso de pó extraído das plantas do gênero *Pyrethrum* (*Pyrethrum carneum* e *P. roseum*) para o controle de insetos, indicando um efeito inseticida nessas plantas (Ruigt, 1985). Já no século XX, ao final da década de 1930, com o advento da síntese dos inseticidas pelo homem, o DDT em 1939 foi conhecido como “o inseticida maravilha” devido a sua alta eficácia na morte dos insetos (Becker et al, 2003). Contudo, passados pouco mais que 20 anos começaram a surgir os primeiros relatos de populações de *Ae. aegypti* resistentes ao DDT no mundo, o que juntamente com a alta toxicidade desse inseticida desencadeou uma corrida no desenvolvimento de novos ativos (Camargo, 1967; Becker et al, 2003).

De fato, é inegável que os inseticidas são ferramentas essenciais para o controle de vetores, tendo a capacidade de impactar diretamente na incidência das doenças a eles relacionados a partir do controle populacional. Considerando tal pressuposto, no Brasil, o combate ao *Ae. aegypti* é realizado através da adoção conjunta de estratégias de controle mecânico, ações educativas e uso de inseticidas. As estratégias de controle mecânico visam a reordenação ambiental com vistas a eliminação dos criadouros do mosquito. Por sua vez, a educação em saúde visa fomentar a população conhecimentos capazes de desenvolver competências e habilidades necessárias ao controle do vetor. E por fim, o uso de inseticidas está voltado a redução dos níveis populacionais do mosquito com foco nas formas larval e adulta, principalmente nos períodos epidêmicos. Atualmente, o MS disponibiliza uma lista de inseticidas recomendados para o controle de *Ae. aegypti* no país, sendo alguns deles subsidiados com o recurso público e distribuídos aos municípios para o uso local. É importante destacar que essa lista de inseticida começou a ser atualizada em 1999 a partir do conhecimento da resistência de *Ae. aegypti* aos inseticidas gerados pela Rede MoReNAa, sendo mantida até os dias atuais, contudo de forma frágil após o desfazimento da mesma em 2012 (Brasil, 2019).

Na presente dissertação, nos testes com a deltametrina GT, observamos, nos três momentos avaliados, resistência nas larvas (2019 RR₉₅ 3,20 a 5,43 - *slope* 3,20 a 5,43; 2021 RR₉₅ 3,00 a 4,94 - *slope* 4,18 a 5,41; e 2022; RR₉₅ 3,19 a 5,79 - *slope* 4,4 a 6,0) e nos adultos (2019 RR₉₅ 60,57 a 81,43 - *slope* 3,9 a 6,5; 2021 RR₉₅ 50,16 a 69,0 - *slope* 3,64 a 5,9; e 2022 RR₉₅ 44,12 a 72 - *slope* ,12 a 7,22). Apesar dos PIs terem sido introduzidos para o combate dos mosquitos em 1999 tendo permanecido até 2009, a resistência a esses inseticidas vem sendo frequentemente reportada (Campos et al, 2001; Brengues et al, 2003; Luna et al, 2004; da-Cunha et al, 2005; Macoris et al, 2007; Macoris et al, 2007; Lima et al, 2011; Fontoura et al, 2012; Belinato et al, 2012; Belinato et al, 2013; Maciel-de-Freitas et al, 2014; Macoris et al, 2014; Bellinato et al, 2016; Bona et al, 2016; Viana-Medeiros et al, 2017; Moyes et al, 2017; Garcia et al, 2018; Macoris et al, 2018; Corte et al, 2018; Garcia et al, 2019; Valle et al, 2019; Rahman et al, 2021; Filho et al, 2021). O primeiro relato de resistência ao PI, após sua introdução no país data de 2001 sobre em *Ae. aegypti* do Rio de Janeiro (mortalidade DD 51,1 a 94%) e de Alagoas (mortalidade DD 62 a 87,5%) (da-Cunha et al, 2005). Serravite em 2021 relatou resistência a deltametrina GT (2017 larvas: RR₉₅ 17,6 a 46,8 e adultos: 77,2 a 186,6; 2018 larvas: RR₉₅ 10,2 a 13,3 e adultos: 66,3 a 631,3) e alfacipermetrina GT (2017 adultos: 67,1 a 202,3; 2018 33,4 a 96,1) em *Ae. aegypti* coletados em Belo Horizonte, município que faz divisa com Contagem, em 2017 e 2018. A partir do monitoramento de populações de *Ae. aegypti* de São Paulo por uma década, Macoris et al (2018) observaram que mesmo na ausência de exposição no campo para o controle de mosquitos a resistência se manteve (mortalidade DD<80%). A investigação dos mecanismos responsáveis pela manutenção da resistência aos PIs nas populações brasileiras de *Ae. aegypti* sugestionam a participação de GST (atividade enzimática >99% da LRS) (Montella et al, 2005) e mutações do tipo Kdr nas proteínas do canal de sódio do tipo V410L, G923V, I1011M, V1016I e F1534C, sendo as duas últimas mais frequentes (Costa et al, 2020). Essas duas mutações apresentam-se geralmente como R1 (apenas F1534C) e R2 (V1016I + F1534C) sendo que o perfil R2 parece ser responsável por conferir maior resistência a população (Brengues et al, 2003; Saavedra-Rodrigues et al, 2007; Martins et al, 2009a; Martins et al, 2009b; Lima et al, 2011; Araújo et al, 2013; Lins et al, 2014; Maciel-de-Freitas et al, 2014; Bellinato et al, 2016; Collet et al, 2016; Dolabela et al, 2016; Haddi et al, 2017; Viana-Medeiros et al, 2017; Garcia et al, 2018; Valle et al, 2019; Costa et al, 2020). Destacamos que um dos objetivos iniciais dessa dissertação era investigar a participação de mutações kdr na resistência observada a deltametrina, contudo, foi possível detectar apenas a presença da mutação F1534C sem mais informações sobre sua frequência. Os testes moleculares foram realizados no LAFICAVE

pela equipe do Dr. Ademir Martins que nos relatou a impossibilidade de separar isoladamente os espécimes, atrelado a uma baixa qualidade do DNA extraído. Acreditamos que tais fragilidades possam ser atribuídas a problemas no transporte aéreo dos insetos e ao descongelamento das amostras, anterior ao envio, em função da interrupção de funcionamento do freezer -70°C no quais as amostras estavam acondicionadas durante um final de semana.

Na presente dissertação, o primeiro PF avaliado foi o SumiLarv®. A mortalidade foi avaliada na solução com 1, 7, 14, 21 e 28 dias após o preparo uma vez que esse inseticida apresenta formulação de pequenos grânulos (semelhante a areia) o que lhe permite liberar de forma lenta, por até 4 semanas, o inseticida piriproxifeno. Essa formulação é importante pensando na manutenção desse PF no campo considerando a facilidade operacional de distribuição e sua manutenção por período prolongado sem a necessidade de intervenção dos agentes de endemia. Observou-se, frente a solução com 1 dia de preparo, baixa mortalidade em todas as populações de campo, bem como na LRS, nos 3 momentos avaliados (2019, 2021 e 2022), variando de 40% e 60%. Acreditamos que isso ocorra em função de uma menor disponibilidade do piriproxifeno na solução com 1 considerando a liberação lenta do produto. Frente às soluções com 7 ou mais dias de preparo a mortalidade foi elevada (90-100% de mortalidade) mantendo-se estável, próxima ou igual a 100% até no último momento de avaliação (solução com 28 dias), o que permitiu-nos caracterizar as populações como suscetíveis. No Brasil, o piriproxifeno vem sendo utilizado em todo o território nacional desde 2013 (Brasil, 2014) contudo, tem-se poucas informações sobre o *status* de suscetibilidade/resistência das populações brasileiras a ele. Em 2017, foram registradas populações resistentes no Distrito Federal (RR₅₀ 7,7) (Carvalho et al, 2020), no Ceará (mortalidade DD 95,3% a 97,7%) (Campos et al, 2020) e na Bahia (mortalidade DD 85,8% a 96,5% - RR₉₅ 3,6) (Campos et al, 2020). Destaca-se, contudo, o estudo desenvolvido por Serravite (2021) que demonstrou em populações coletadas em Belo Horizonte entre 2017 e 2018 suscetibilidade ao SumiLarv® corroborando nossos resultados. Ainda pouco se conhece sobre os mecanismos responsáveis pela resistência aos IGRs, incluindo o piriproxifeno. Estudos com *Ae. albopictus* e *Anopheles gambiae* demonstraram atividade enzimática elevada de P450s e GST sugerindo uma resistência bioquímica (Zach, 2014; Yunta et al, 2016). Adicionalmente, Campos et al. (2022) sugeriram que a resistência esse inseticida pode dificultar a infecção do *Ae. aegypti* pelo Zika Virus, tendo-se observado nos estudos uma correlação negativa entre a resistência ao piriproxifeno e a infecção por Zika Virus.

Dentre os PF recomendados para o controle de *Ae. aegypti* no Brasil foram avaliados na presente dissertação o larvicida Natular™ DT e os adulticida Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV, tendo sido observada suscetibilidade a todos eles, contudo de forma distinta, com discutido abaixo. Já em relação ao Alfatek® 200 SC, inseticida usado para o controle de *L. longipalpis*, observou-se resistência.

Em relação ao Natular™ DT (espinosade 7,48%) avaliamos a mortalidade somente para as populações de 2021 e 2022 uma vez que esse inseticida só foi implementado para controle de *Ae. aegypti* no campo em 2019 (Brasil, 2019). Observou 100% de mortalidade frente a dose recomendada pelo fabricante, nos dois momentos avaliados, para a LRS e para todas as populações de campo. Dias et al, (2017) relatou resistência cruzada a espinosade em *Ae. aegypti* resistentes a temefós no Brasil, em 2017 no Pará (RR₉₅ 3,5), em Goiânia (RR₉₅ 5,4), no Espírito Santo (RR₉₅ 3,6), em São Paulo (RR₉₅ 3,9), na Bahia (RR₉₅ 3,6) e em Alagoas (RR₉₅ 3,4). Porém no mesmo trabalho os autores descreveram a suscetibilidade dessas populações ao Natular™ DT (Mortalidade > 80% por 8 semanas). Mesmo sabendo-se que o espinosade age sobre os receptores da acetilcolina e/ou GABA (Scott, 2008)., ainda não foram descritos os mecanismos relacionados a resistência para esse ativo.

Quanto ao adulticida Komvektor™ 440 EW (malathion 40,9%) observamos mortalidade de 100%, nos três momentos avaliados, para a LRS e para todas as populações de campo. O malathion, ingrediente ativo do Komvektor™ 440 EW, é um dos inseticidas cuja resistência foi mais estudada no Brasil, já tendo sido relatada em todo o território nacional (Lima et al, 2003; Macoris et al, 2014; Viana-Medeiros et al, 2017; Campos et al, 2020; Dos Santos et al, 2020; Hayd et al, 2020; Rahman et al 2021; Serravite et al, 2021). O malathion foi implementado para o controle de *Aedes* no Brasil em 1985 sendo que em 1999 já foram encontradas as primeiras populações com resistência a verificar no Rio de Janeiro (Mortalidade DD 83,3%), no Espírito Santo (Mortalidade DD 83,3%), em São Paulo (mortalidade DD 42,6% a 81,4%), em Pernambuco (mortalidade DD 66,3% a 87,5%) e em Sergipe (mortalidade DD 61% a 81,3%) (Macoris et al, 1999). Em 1989 o malathion foi substituído pelo fenitrothion, voltando a ser utilizado no período de 2009 a 2019 (Brasil, 2019; Valle et al, 2019). Entre 1999 e 2012 foi detectada resistência ao malathion em Alagoas (mortalidade DD 90,3%), Amazonas (mortalidade DD 96,5% a 97,1%), Amapá (mortalidade DD 91,6%), Bahia (mortalidade DD 75,2% a 88,1%), Ceará (mortalidade DD 87,5% a 94,3%), Minas Gerais (mortalidade DD 96,6%), Mato Grosso do Sul (mortalidade DD 91,5% a 96,3%), Pernambuco (mortalidade DD 72,2% a 96,8%), Paraná (mortalidade DD

82,1% a 91,6%), Roraima (mortalidade DD 71,9% a 97,4%), Sergipe (mortalidade DD 80,7 a 95, 4), São Paulo (mortalidade DD 78,1% a 93,4%) e Tocantins (mortalidade DD 92,7%) (Moyes et al, 2017). Em 2018, foi observada resistência a verificar na Paraíba (mortalidade DD 91,3%) no Piauí (mortalidade DD 91,2%) em Goiás (mortalidade DD 93,4%) e no Mato Grosso (mortalidade DD 91,6%) (Campos et al, 2020). Destaca-se o estudo desenvolvido por Serravite (2021) que observou em *Ae. aegypti* de Belo Horizonte coletadas entre 2017 e 2018 suscetibilidade ao Komvektor™ 440 EW (mortalidade de 100% ao PF), corroborando nossos resultados.

Entende-se por resistência cruzada quando um inseto apresenta um mecanismo que lhe confere resistência a inseticidas de mesmo modo de ação, sejam pertencentes ao mesmo grupo químico (ex. os PIs deltametrina e alfacipermetrina) ou a grupo químicos diferentes (ex. OC DDT e PI cipermetrina) (Macoris et al, 2018, Valle et al, 2019). Partindo de tal pressuposto, deve-se considerar a possibilidade de participação de outros inseticidas frente a resistência ao malathion, tais como o temefós, o fenitrothion e o bendiocarb. O temefós foi um dos inseticidas utilizados continuamente por mais tempo no Brasil de 1980 até 2009) (OMS, 1997; Macoris et al, 1999; Valle et al, 2019). O uso extensivo e prolongado deste inseticida selecionou populações resistentes por todo o território nacional com elevadas RR_{95} (3,3 a 192,7) (Macoris et al, 1995; Lima et al, 2003; Lima et al, 2009; Moyes et al, 2017; Valle et al, 2019) sendo indicada a resistência bioquímica, com atenção especial para a alteração das alfa-esterases CCEAE3A e CCEAE6A, como mecanismo causal (Hemingway et al, 2000; Saavedra-Rodriguez et al, 2014; Moyes et al, 2017). (Poupardin et al, 2014; Grigoraki et al, 2015; 2016). Por sua vez, o fenitrothion foi adotado pelo MS para o controle de *Aedes* em 1985, substituindo o malathion como adulticida. Em 1999 foi detectada resistência em São Paulo (Mortalidade DD 75%), fenótipo esse observado pela Rede MoReNAa até 2012 (Moyes et al, 2017). Por fim, referindo-se ao bendiocarb ele teve uso no país de 2006 a 2019, contudo foi detectada resistência em São Paulo (mortalidade DD 60%) e Belo Horizonte (RR_{95} 9,8) (Serravite, 2021)

Em relação aos PFs Cielo™ ULV (PI praletrina 0,75% + neonicotinóide NE imidacloprida 3%) e Fludora® Fusion (PI deltametrina 6,25% + NE clotianidina 50%) observamos, nos três momentos avaliados, mortalidade de 100% para a LRS e para todas as populações de campo. Contudo, frente ao Alfatek® 200 SC (alfacipermetrina 20%), em 2019, 2020 e 2021 observou-se 100% de mortalidade na LRS. Já nas populações de campo a

mortalidade variou de 35% a 45% em 2019, de 33% a 44% em 2021 e de 35% a 46% em 2022, o que caracterizou todas as populações como resistentes ao PF. Apesar de saber que inseticidas que integram um mesmo grupo químico (ex. os PIs praletrina, deltametrina e alfacipermetrina) apresentam eficiência diferente justificada por terem composição química distinta (Marcet, 2021), considerando a resistência a PI já bem conhecida em *Ae. aegypti*, acreditamos que a mortalidade observada no Cielo™ ULV e no Fludora® Fusion seja devido a presença dos NEs imidacloprida e clotianidina, respectivamente. Até o momento não foi descrita resistência de populações de campo de *Ae. aegypti* aos NEs.

Em relação ao Alfatek® 200 SC, destaca-se que mesmo sendo utilizado no campo para o controle de *L. longipalpis*, é evidente que ele pressiona as populações de outros insetos, incluindo *Ae. aegypti*, selecionando os espécimes resistentes. Corroborando nossos resultados, Serravite et al (2021) demonstrou resistência de populações *Ae. aegypti* de Belo Horizonte ao PF Alfatek® 200 SC (2017 mortalidade DD 0% a 31%; 2018 mortalidade DD 0%) como também a alfacipermetrina, ingrediente ativo do Alfatek – a alfacipermetrina GT (2017 adultos: RR₉₅ 67,1 a 202,3; 2018 33,4 a 96,1) (Serravite 2021).

Os bioensaios avaliando a resistência das populações de *Ae. aegypti* coletadas em Contagem em resposta aos inseticidas PF utilizados para o controle de vetores na região - o larvicida Natular™ DT e os adulticidas Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV – revelaram suscetibilidade. Por sua vez, nos estudos com o GT deltametrina e o PF Alfatek® 200 SC foi detectada resistência. Contudo, para todos os inseticidas, independente de ter sido detectada resistência ou suscetibilidade, a comparação das populações com elas mesmas, durante os três anos de coleta (2019, 2021 e 2022), para cada inseticida em separado, seja larva ou adulto, não revelou diferença estatisticamente significativa, sugerindo homogeneidade ao longo do tempo. A análise do *slope* obtido dos estudos com a delta GT confirmam tal observação: todas apresentam *slope* semelhantes entre si na linha temporal e inferior ao da LRS, ou seja, são semelhantes entre si nos diferentes tempos se mostrando menos homogêneas que a LRS. Foram observadas duas exceções: com os adultos de Eldorado e de Petrolândia. A comparação do *slope* Eldorado revelou semelhança em 2019 e 2021, sendo menores que a LRS, revelando, portanto, maior homogeneidade das populações de campo. Contudo, em 2022 observou-se um incremento do *slope* igualando-o ao da LRS, ou seja, sugerindo uma perda na heterogeneidade. Já em Petrolândia de 2019 para 2021 observou-se redução do *slope* sugerindo perda de heterogeneidade, seguida de um aumento de 2021 para 2022, regressando ao patamar de 2019, mantendo-se, assim, uma maior heterogeneidade em relação a LRS. A

alteração de heterogeneidade das populações de Eldorado e do Petrolândia pode estar relacionada ao uso de inseticidas na região e a alguma alteração no padrão de dispersão dos mosquitos.

A interpretação desses dados pressupõe a avaliação dos mesmos considerando as características ambientais da área de coleta dos insetos (sob o aspecto do uso e ocupação do solo) atrelada ao uso de inseticidas na região (discriminados por produto/tempo/quantidade). Infelizmente, apesar de terem sido cumpridos todos os trâmites burocráticos/administrativos, não foi possível obter esses dados em tempo hábil junto a SMS-Contagem. De modo informal sabemos apenas que durante o ano de 2020, em virtude pandemia de COVID 2019, não foi realizado controle químico na região pela equipe municipal. Contudo, essa informação nos permite apenas intuir de modo superficial que esse fato não tenha impactado na resistência observada em 2021 uma vez que não se observou de 2019 a 2022 diferença na resistência e no grau de homogeneidade das populações (com exceção de Eldorado e Petrolândia). Ainda nesse sentido, não podemos deixar de considerar a capacidade de dispersão dos mosquitos pelo voo. Uma vez em região altamente urbanizada, a dispersão ativa do *Ae. aegypti* é de cerca de 100m em média e chegando a cerca de 250m no máximo (David et al, 2009; Wilke et al, 2017). Entretanto, em áreas suburbanas e rurais, há relatos que esse mosquito consegue migrar em até 1 km de distância (Schoof, 1967; Wilke et al, 2021). Isso nos permite pensar em um aporte de mosquitos das regiões vizinhas contudo estudos de genética populacional fazem-se necessários.

Por fim, sabe-se que a ocorrência de surtos de dengue e de outras arboviroses relacionadas ao *Ae. aegypti* podem estar associados a presença de populações resistentes aos inseticidas (Maciel de Freitas et al 2014, Yiguan et al 2016; Badolo, 2019; Su et al 2019, Valle, 2019; Gan, 2021). Nesse sentido pretendíamos investigar a existência ou não de correlação entre o número de casos de dengue, zika e chikungunya e a resistência observada nos mosquitos, contudo não foi possível pois não nos foi dado acesso aos dados da SMS-Contagem em tempo hábil.

Se por um lado, frente as epidemias veem-se a necessidade de intensificar o uso de inseticidas para reduzir rapidamente o tamanho da população dos vetores alvo, por outro, quando o inseticida ainda funciona, além de reduzir a população, ele seleciona espécimes resistentes que colonizarão o ambiente, desdobrando-se, em um futuro próximo, no caso dos mosquitos, num problema maior que o inicial. Adicionalmente, essa intensificação do uso de

inseticida nos períodos epidêmicos representa uma maior contaminação do meio ambiente, a mortandade e/ou seleção de espécimes resistentes de insetos não alvo (praga ou vetores) que coabitarem a região, bem como, impactam na vida útil do PF utilizado. Deste modo, sabendo-se que é caro, oneroso e demorado a descoberta de uma molécula inseticida com novo sítio de ação e/ou mecanismo distinto dos já disponíveis, essa se torna uma preocupação crítica pensando na preservação dos inseticidas já disponíveis pelo maior período possível. Nesse sentido, esperamos que o conhecimento gerado nessa dissertação possa dar direcionamento prático aos gestores responsáveis pelas atividades de controle na área de estudo, contribuindo, dessa forma não somente para o fortalecimento das políticas públicas junto ao SUS, mas acima de tudo, refletindo em uma melhoria nas condições de saúde da população ali residente.

7. CONCLUSÕES

- Na revisão sistemática dedicada a investigação da resistência de populações brasileiras de campo de *Ae. aegypti* aos inseticidas, a partir dos critérios de inclusão e exclusão definidos, foram selecionados 55 trabalhos. Nesses, 818 populações oriundas de todas as regiões do país (11,8% norte, 23,1% nordeste, 8,8% centro-oeste, 2,1%DF, 51,2% sudeste e 3% sul) tiveram o perfil de resistência caracterizado a inseticidas de 7 classes distintas OC, CB, OP, PI, NE, IGR e bioinseticidas estando esses apresentados como PF (80%) ou GT (20%). Foram adotadas para os 44 (80%) estudos que realizaram bioensaios de laboratório a metodologia preconizada pela OMS (1981) (70,5%), pelo CDC (2010) (4,5%) ou ambas (25%). Quanto a fase de desenvolvimento do *Ae. aegypti*, 19 pesquisas (43,2%) avaliaram a resistência em larvas, 5 em adultos (11,4%) e 20 em ambos os estágios (45,4%). Quanto ao tipo de bioensaios, 5 pesquisas (11,4%) realizaram testes qualitativos (dose diagnóstica ou dose única recomendada pelo fabricante do inseticida PF), 16 (36,3%) testes quantitativos (dose resposta utilizando inseticida GT) e 23 ambos (52,3%). Ainda dentre os 44 estudos que realizaram bioensaios, um total de 3 estudos (6,8%) não informaram a LRS adotada. Das que informaram, 38 (92,6%) utilizaram exclusivamente Rockfeller, 1 (2,5%) a AEAE e 2 (4,9%) a RecL em conjunto a Rockfeller. 13 trabalhos (33,3%) utilizaram a classificação proposta por Mazzarri & Georghiou (1995), 8 (20,5%) utilizaram Brasil (2006) e 18 (46,2%) foram outros. Ao final 591 (72,2%) das populações foram caracterizadas como resistentes aos ativos testados a algum dos ativos testados. Dentre os 22 trabalhos que avaliaram os mecanismos de resistência, 3 (14%) investigaram resistência molecular, 9 (41%) investigaram mutações do gene Nav e 10 (45%) investigaram ambos os mecanismos. Dos 44 trabalhos que realizaram bioensaios, 5 (9%) avaliaram a resistência no campo sendo que destes apenas 1 (20%) detectou resistência.

- As populações de Contagem, coletadas em 2019, 2021 ou 2022 se mostraram resistentes a deltametrina GT, tanto as larvas (2019 RR95 3,20 a 5,43 - slope 3,20 a 5,43; 2021 RR95 3,00 a 4,94 - slope 4,18 a 5,41; e 2022; RR95 3,19 a 5,79 – slope 4,4 a 6,0) como os adultos (2019 RR95 60,57 a 81,43 - slope 3,9 a 6,5; 2021 RR95 50,16 a 69,0 - slope 3,64 a 5,9; e 2022 RR95 44,12 a 72 – slope ,12 a 7,22). O mesmo se observou para o PF Alfatek® 200 SC (mortalidade: 35% a 45% em 2019, de 33% a 44% em 2021 e de 35% a 46% em 2022). Detectou-se mutações do tipo F1534C nas proteínas do canal de sódio que podem estar envolvidas no fenótipo observado.

- As populações de Contagem, coletadas em 2019, 2021 ou 2022 se mostraram suscetíveis ao larvicidas PF SumiLarv®.PF (com mortalidade de 100% até 28 dias após a preparação do inseticida) e Natular™ DT, bem como aos adulticidas Cielo™ ULV, Fludora® e Komvektor™ 440 EW.
- Para todos os inseticidas, a comparação das populações com elas mesmas, durante os três anos de coleta (2019, 2021 e 2020), para cada inseticida em separado, não revelou diferença estatisticamente significativa, sugestionando homogeneidade ao longo do tempo. A análise do slope obtido dos estudos com a delta GT confirmam tal observação: todas as populações são semelhantes entre si diferentes tempos e menos homogêneas que a LRS, observando-se, portanto, *slopes* inferiores ao dela. Às exceções foram observadas para adultos das regionais de Eldorado e Petrolândia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo AP, Araujo Diniz DF, Helvecio E, Barros RA De, Oliveira CMF De, Ayres CFJ, Melo- Santos MAV De, Regis LN, Silva-Filha MHNL 2013. The susceptibility of *Aedes aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: A basis for management. *Parasites and Vectors* 6.

Araújo AP, Paiva MHS, Cabral AM, Cavalcanti AEHD, Pessoa LFF, Diniz DFA, Helvecio E, Silva EVG, Silva NM, Anastácio DB, Pontes C, Nunes V, Souza MFM, Magalhães FJR, Santos MAVM, Ayres CFJ 2019. Screening *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Pernambuco, Brazil for resistance to temephos, diflubenzuron, and cypermethrin and characterization of potential resistance mechanisms. *Journal of Insect Science*, 19(3), 16.

Aryaprema VS, Steck MR, Peper ST, Xue RD, Qualls WA. A systematic review of published literature on mosquito control action thresholds across the world. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023 Mar 3;17(3): e0011173. doi: 10.1371/journal.pntd.0011173. PMID: 36867651; PMCID: PMC10016652.

Belinato TA, Martins AJ, Valle D 2012. Fitness evaluation of two Brazilian *Aedes aegypti* field populations with distinct levels of resistance to the organophosphate temephos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107: 916–922.

Belinato TA, Martins AJ, Lima JBP, Valle D 2013. Effect of triflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* under laboratory conditions. *Parasites and Vectors* 6.

Belinato TA, Valle D 2015. The impact of selection with Diflubenzuron, a chitin synthesis inhibitor, on the fitness of two Brazilian *Aedes aegypti* field populations. *PLoS One* 10.

Bellinato DF, Viana-Medeiros PF, Araújo SC, Martins AJ, Lima JBP, Valle D 2016. Resistance status to the insecticides temephos, deltamethrin, and diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* populations. *Biomed Res. Int*. 2016.

Becker N 2003. Mosquitoes and their control. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 377p.

Beserra EB, Fernandes CR, De Queiroga MDF, Castro Jr FPD 2007. Resistance of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) populations to organophosphates temephos in the Paraíba State, Brazil. *Neotropical Entomology*, 36, 303-307.

Bona ACD, Piccoli CF, Leandro A de S, Kafka R, Twerdochilib AL, Navarro-Silva MA 2012. Genetic profile and molecular resistance of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) in foz do Iguacu (Brazil), at the border with Argentina and Paraguay. *Zoologia* 29: 540–548.

Bondarenko S, Gan J, Haver DL, Kabashima JN 2004. Persistence of selected organophosphate and carbamate insecticides in waters from a coastal watershed. *Environ. Toxicol. Chem.* 23: 2649–2654.

Braga IA, Lima JBP, Silva Soares S Da, Valle D 2004. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99: 199–203.

Braga, IA, Mello CB, Montella IR, Lima JBP, Martins AJ, Medeiros PFV, Valle D 2005. Effectiveness of methoprene, an insect growth regulator, against temephos-resistant *Aedes aegypti* populations from different Brazilian localities, under laboratory conditions. *Journal of medical entomology*, 42(5), 830-837.

Braga IA, Valle D 2007a. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília 16: 279–293.

Braga IA, Valle D 2007b. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiol. serv. saúde* 16: 113–118.

Braga IA, Valle D 2007c. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 16(4), 295-302.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Metodologia para qualificação de atividades de enzimas relacionados com a resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*/ Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz = Quantification methodology for enzyme activity related to insecticide resistance in *Aedes aegypti*/Ministry of Health of Brazil, Fundação Oswaldo Cruz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 128 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Brasil. Ministério da Saúde 2006. Reunião técnica para discutir status de resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 160 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

Brasil. Nota técnica Nº 5/2020-CGAR/DEIDT/SVS/MS. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 8 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. (2021). Plano de Contingência para Resposta às Emergências de Saúde Pública: Febre Amarela.

Brasil. Ministério da Saúde 2014. Orientações técnica para utilização do larvicida pyriproxyfen (0,5 G) no controle de *Aedes aegypti*.

Brasil, Ministério da Saúde. Nº 103/2019-CGAR/DEIDT/SVS/MS: Recomendações para Manejo da Resistência de *Aedes aegypti* a Inseticidas. Brasília, 2019. 3 p.

Brasil. Ministério da Saúde 2019. Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias.

Brasil - Ministério da Saúde 2021. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos por *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020. Boletim Epidemiológico., Vol 52., 01/2021.

Brasil - Ministério da Saúde 2022. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos por *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika), semanas epidemiológicas 1 a 52, 2022. Boletim Epidemiológico., Vol 53.,

Brasil. Ministério da Saúde. Dengue - notificações registradas no sistema de informação de agravos de notificação - Minas Gerais. 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/denguebmg.def>. Acesso em: 19 maio 2023.

Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol* 17:87-94.

Brito LP, Linss JG, Lima-Camara TN, Belinato TA, Peixoto AA, Lima JBP, Valle D, Martins AJ 2013. Assessing the effects of *Aedes aegypti* kdr mutations on pyrethroid resistance and its fitness cost. *PLoS one*, 8(4), e60878.

Brito LP, Carrara L, Freitas RMD, Lima JBP, Martins AJ 2018. Levels of resistance to pyrethroid among distinct kdr alleles in *Aedes aegypti* laboratory lines and frequency of kdr alleles in 27 natural populations from Rio de Janeiro, Brazil. *BioMed research international*, 2018.

- Brogdon WG, McAllister JC 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in glass bottles. *J Am Mosq Control Assoc* 14: 159-164.
- Busvine J, Barnes M 1947. Observations on mortality among insects exposed to dry insecticidal films. *Bull Ent Res* 38:81-90.
- Camargo S 1967. History of *Aedes aegypti* eradication in the Americas. *Bull. World Health Organ.* 36: 602–603.
- Campos J, Andrade CF. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* an inseticidas químicos [Larval susceptibility to chemical insecticides of two *Aedes aegypti* populations]. *Rev Saude Publica.* 2001 Jun;35(3):232-6. Portuguese. doi: 10.1590/s0034-89102001000300003. PMID: 11486144.
- Campos KB, Martins AJ, Rodovalho CDM, Bellinato DF, Dias LDS, Macoris MDLDG, Andrighetti MTM, Lima JBP, Obara MT 2020. Assessment of the susceptibility status of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations to pyriproxyfen and malathion in a nation-wide monitoring of insecticide resistance performed in Brazil from 2017 to 2018. *Parasites & Vectors*, 13, 1-18.
- Campos KB, Alomar AA, Eastmond BH, Obara MT, Alto BW 2022. Brazilian Populations of *Aedes aegypti* Resistant to Pyriproxyfen Exhibit Lower Susceptibility to Infection with Zika Virus. *Viruses*, 14(10), 2198.
- Castro KR, Scodro RB, Dias-Sversutti Ade C, Neitzke HC, Rossi RM, Kühl JB, Silveira TG, Teodoro U. Avaliação de medidas de controle de flebotomíneos. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 May-Jun;41(3):269-76. Portuguese. doi: 10.1590/s0037-86822008000300009. PMID: 18719807.
- Carvalho BL, Germano RNL, Braga KML, Araújo ERFD, Rocha DDA, Obara MT 2020. Susceptibility of *Aedes aegypti* populations to pyriproxyfen in the Federal District of Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53.
- Carvalho MD, Caldas ED, Degallier N, Vilarinhos PDTR, Souza LCKRD, Yoshizawa MAC, Knox MB, Oliveira CD (2004). Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide temephos in the Federal District, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 38, 623-629.
- Casida JE 1963. Mode of Action of Carbamates. *Annu. Rev. Entomol.* 8: 39–58.
- Casida JE 1980. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspect.*
- Cavalcanti M, Henriques AS, Leandro RS, Aguiar DL, & Beserra EB 2014. Resistance of *Aedes aegypti* to temephos and adaptive disadvantages. *Revista de saude publica*, 48, 775-782.
- CEVARB - Coordenadoria Estadual De Vigilância Das Arboviroses De Minas Gerais. Boletim Epidemiológico: Arboviroses Urbanas: Dengue, Chikungunya e Zika. Nº 194 – Semana epidemiológica 53 - 12/2020.
- Chamberlain WF 1975. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. *J. Med. Entomol.* 12: 395–400.
- Chapadense FGG, Fernandes EKK, Lima JBP, Martins AJ, Silva LC, Rocha WT da, Santos AH dos, Cravo P 2015. Phenotypic and genotypic profile of pyrethroid resistance in populations of the mosquito *Aedes aegypti* from Goiânia, Central West Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 48:
- Chediak M, Pimenta FG, Coelho GE, Braga IA, Lima JBP, Cavalcante J, Sousa LC de, Melo-Santos MA V. de Macoris MG, Araújo AP de, Ayres CFJ, Andrighetti MTM, Gomes RG de A, Campos KB, Guedes RNC 2016. Spatial and temporal country-wide survey of temephos resistance in Brazilian populations of *Aedes aegypti*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 111: 311–321.

- Chen D, Zhang Y, Wu X, Wu J, Gong F, Qiao L, Li L, Wang C. A survey of clinical and laboratory characteristics of dengue fever epidemic from 2014 to 2018 in Guangzhou, China. *Ann Palliat Med*. 2020 Jan;9(1):70-81. doi: 10.21037/apm.2019.12.11. PMID: 32005065.
- Chilcuit CF, Tabashnik BE 1995. Evolution of pesticide resistance and slope of the concentration-mortality line: are they related? *Journal of Economic Entomology*, 88(1), 11-20.
- Christophers R. *Aedes aegypti* (L.). The Yellow Fever Mosquito. Its Life History, Bionomics and Structure. 1960.
- Clark AG, Shamaan NA 1984. Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22: 249–261.
- Coats JR 1990. Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspect.* 87: 255–262.
- Cohen E 1987. Chitin Biochemistry: Synthesis and Inhibition. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 71–93.
- Collet ML, Frizzo C, Orlandin E, Rona LDP, Nascimento JC, Montano MAE, Müller GA, Wagner G 2016. Frequency of the Val1016Ile mutation on the kdr gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in south Brazil. *Genet. Mol. Res.* 15.
- Consoli RAGB, Oliveira RL de 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil.
- Corbel V, Kont MD, Ahumada ML, Andréo L, Bayili B, Bayili K, Brooke B, Pinto Caballero JA, Lambert B, Churcher TS, Duchon S, Etang J, Flores AE, Gunasekaran K, Juntarajumnong W, Kirby M, Davies R, Lees RS, Lenhart A, Lima JBP, Martins AJ, Müller P, N'Guessan R, Ngufor C, Praulins G, Quinones M, Raghavendra K, Verma V, Rus AC, Samuel M, Ying KS, Sungvornyothin S, Urabayala S, Velayudhan R, Yadav RS. A new WHO bottle bioassay method to assess the susceptibility of mosquito vectors to public health insecticides: results from a WHO-coordinated multi-centre study. *Parasit Vectors.* 2023 Jan 20;16(1):21. doi: 10.1186/s13071-022-05554-7. PMID: 36670470; PMCID: PMC9863080.
- Corte RL, Melo VAD, Dolabella SS, Marteis LS 2018. Variation in temephos resistance in field populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the State of Sergipe, Northeast Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 51, 284-290.
- Cosme LV, Lima JBP, Powell JR, Martins AJ 2022. Genome-wide Association Study Reveals New Loci Associated with Pyrethroid Resistance in *Aedes aegypti*. *Frontiers in Genetics*, 13.
- Costa MDM 2017. *Avaliação da resistência a inseticidas e mecanismos selecionados em populações de Aedes aegypti Linnaeus 1762 (Diptera, Culicidae) da fronteira entre Brasil e Guiana Francesa* (Doctoral dissertation).
- Costa MM, Campos KB, Brito LP, Roux E, Melo Rodvalho C, Bellinato DF, Lima JBP, Martins AJ. Kdr genotyping in *Aedes aegypti* from Brazil on a nation-wide scale from 2017 to 2018. *Sci Rep.* 2020 Aug 6;10(1):13267. doi: 10.1038/s41598-020-70029-7. PMID: 32764661; PMCID: PMC7414026.
- Da-Cunha MP, Lima JBP, Brogdon WG, Moya GE, Valle D 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100: 441–444.
- Davies TG, Field LM, Usherwood PN, Williamson MS 2007. A comparative study of voltage gated sodium channels in the Insecta: implications for pyrethroid resistance in Anopheline and other Neopteran species. *Insect Mol Biol* 16:361-375

De Sá ELR, Rodovalho CDM, Sousa NPRD, Sá ILRD, Bellinato DF, Dias LDS, Silva LC, Martins AJ, Lima JBP 2019. Evaluation of insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations connected by roads and rivers: the case of Tocantins state in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 114.

Dias LS, Macoris MDLDG, Andrighetti MTM, Otrera VCG, Dias ADS, Bauzer LGSDR, Rodovalho CM, Martins AJ & Lima JBP 2017. Toxicity of spinosad to temephos-resistant *Aedes aegypti* populations in Brazil. *Plos one*, 12(3), e0173689.

Diniz DFA, Melo-Santos MAV De, Santos EMDM, Beserra EB, Helvecio E, Carvalho-Leandro D De, Santos BS Dos, Menezes Lima VL De, Ayres CFJ 2015. Fitness cost in field and laboratory *Aedes aegypti* populations associated with resistance to the insecticide temephos. *Parasites and Vectors* 8: 1–15.

Dolabella SS, Santos RLC, Silva MCN, Steffler LM, Ribolla PEM, Cavalcanti SCH, Jain S, Martins AJ 2016. Detection and Distribution of V1016Ikdr Mutation in the Voltage-Gated Sodium Channel Gene in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations from Sergipe State, Northeast Brazil. *J. Med. Entomol.* 53: 967–971.

Dos Santos CR, de Melo Rodovalho C, Jablonka W, Martins AJ, Lima JBP, dos Santos Dias L, Neto MACS, Atella GC 2020. Insecticide resistance, fitness and susceptibility to Zika infection of an interbred *Aedes aegypti* population from Rio de Janeiro, Brazil. *Parasites & Vectors*, 13(1), 1-14.

Dos Santos Dias L, Macoris ML, Andrighetti MT, Otrera VC, Dias AD, Bauzer LG, Rodovalho CM, Martins AJ, Lima JB. Toxicity of spinosad to temephos-resistant *Aedes aegypti* populations in Brazil. *PLoS One*. 2017 Mar 16;12(3): e0173689. doi: 10.1371/journal.pone.0173689. PMID: 28301568; PMCID: PMC5354417.

Du W, Awolola TS, Howell P, Koekemoer LL, Brooke BD, Benedict MQ, Coetzee M, Zheng L 2005. Independent mutations in the Rdl locus confer dieldrin resistance to *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*. *Insect Mol. Biol.* 14: 179–183.

Du Y, Nomura Y, Zhorov BS, Dong K 2016. Sodium channel mutations and pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Insects* 7: 1–11.

Ellis MM, Westfall BA, Ellis MD 1944. Toxicity of dichloro-diphenyltrichlorethane (DDT) to goldfish and frogs. *Science* (80-). 100: 477.

Estrada JG, Mulla MS 1986. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2: 57–60.

Excoffier L, Laval G, Schneider S 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinforma.* 1: 117693430500100.

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479–491.

Farnesi LC, Martins AJ, Valle D, Rezende GL. Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 Feb;104(1):124-6. doi: 10.1590/s0074-02762009000100020. PMID: 19274388.

Fay RW, Eliason DAA. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, [s. l], v. 26, n. 4, p. 531-535, 1966. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/part/129402#/summary>. Acesso em: 18 dez. 2020.

Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, [s. l], v. 25, n. 3, p. 276-281, 1965. Disponível em: <https://www.biodiversitylibrary.org/part/129217#/summary>. Acesso em: 18 dez. 2020.

Fernandes MF 2004. Campus de dourados programa de mestrado em entomologia e conservação da biodiversidade (Doctoral dissertation, Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul).

Ferreira-de-Brito A, Ribeiro IP, Miranda RM, Fernandes RS, Campos SS, Silva KA, Castro MG, Bonaldo MC, Brasil P, Lourenço-de-Oliveira R. First detection of natural infection of *Aedes aegypti* with Zika virus in Brazil and throughout South America. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2016 Oct;111(10):655-658. doi: 10.1590/0074-02760160332.

Ferreira BJ, Souza Mde F, Soares Filho AM, Carvalho AA. Evolução histórica dos programas de prevenção e controle da dengue no Brasil. *Cien Saude Colet*. 2009 May-Jun;14(3):961-72. Portuguese. doi: 10.1590/s1413-81232009000300032. PMID: 19547796.

Ffrench-Constant RH, Daborn PJ, Le Goff G. The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends Genet*. 2004 Mar

Filho AAP, Pessoa GCD, Yamaguchi LF, Stanton MA, Serravite AM, Pereira RH, Neves WS, Kato, MJ (2021). Larvicidal activity of essential oils from Piper species against strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids. *Frontiers in Plant Science*, 12, 685864.

Fontoura NG, Bellinato DF, Valle D, Lima JBP 2012. The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate resistant *Aedes Aegypti* in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107: 387–395.

Forattini, O.P. 2002. *Culicidologia Médica*. EdUSP, São Paulo, v.2, 860p.

Franco O. História da Febre Amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública; 1976

Fukuto TR 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ. Health Perspect*. 87: 245–254.

Funasa 2001. *Dengue: Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. Manual de Normas e Técnicas*: 84.

Fundação Nacional de Saúde. (2001). *Controle de vetores: procedimentos de segurança*. Fundação Nacional de Saúde.

Gan SJ, Leong YQ, bin Barhanuddin MFH, Wong ST, Wong SF, Mak JW, Ahmad RB 2021. Dengue fever and insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes in Southeast Asia: a review. *Parasites & vectors*, 14(1), 1-19.

Garcia GA, David MR, Martins AJ, Maciel-de-Freitas R, Linss JGB, Araújo SC, Lima JBP, Valle D 2018. The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 12: e0006227.

Garcia, GDA, Sylvestre G, Aguiar R, Costa GB, Martins AJ, Lima JBP, Petersen MT, Lourenço-de-Oliveira R, Shadbolt MF, Rašić G, Hoffmann AA, Villela DAAM, Dias FBS, Dong Y, O'Neill SL, Moreira LA, Maciel-de-Freitas R 2019. Matching the genetics of released and local *Aedes aegypti* populations is critical to assure *Wolbachia* invasion. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(1), e0007023.

George SR 1957. Laboratory tests on mosquito tolerance to insecticides and the development of Resistance by *Aedes aegypti*. *Bull. World Health Organ*. 17: 377–411.

Gersdorff WA 1947. Toxicity to house flies of the pyrethrins and cinerins, and derivatives, in relation to chemical structure. *J. Econ. Entomol*. 40: 878–882.

- Gilkes CD, Gillete HP, Kellett FR. Yellow fever in Trinidad and the development of resistance in *Aedes aegypti* Linn, to D.D.T. formulations. West Indian Med J. 1956
- Graf JF 1993. The role of insect growth regulators in arthropod control. Parasitol. Today 9: 471–474.
- Griffing SM, Tauil PL, Udhayakumar V, Silva-Flannery L 2015. A historical perspective on malaria control in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110, 701-718.
- Haddi K, Tomé HVV, Du Y, Valbon WR, Nomura Y, Martins GF, Dong K, Oliveira EE 2017. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *Aedes aegypti*: A potential challenge for mosquito control. Sci. Rep. 7.
- Hemingway, Janet; Field, Linda; Vontas, John. An Overview of Insecticide Resistance. Science, [S.L.], v. 298, n. 5591, p. 96-97, 4 out. 2002. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1078052>.
- Hemingway J, Ranson H 2000. Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. Annu. Rev. Entomol. 45: 371–391.
- Hemingway, Karunaratne 1998. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. Med. Vet. Entomol. 12: 1–12.
- Holan G 1969. New halocyclopropane insecticides and the mode of action of DDT. Nature 221: 1025–1029.
- Howard L 1928. The yellow-fever mosquito. U.S. Department of Agriculture.
- Insecticide Resistance Action Comitee 2011. *Prevention and Management of Insecticide Resistance in Vectors of Public Health Importance*. 72p.
- Kamal M, Kenawy MA, Rady MH, Khaled AS, Samy AM. Mapping the global potential distributions of two arboviral vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* under changing climate. PLoS One. 2018 Dec 31;13(12): e0210122. doi: 10.1371/journal.pone.0210122. PMID: 30596764; PMCID: PMC6312308.
- Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, Moore CG, Carvalho RG, Coelho GE, Bortel W Van, Hendrickx G, Schaffner F, Elyazar IR, Teng HJ, Brady OJ, Messina JP, Pigott DM, Scott TW, Smith DL, William Wint GR, Golding N, Hay SI 2015. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *Elife* 4.
- Kuno, Goro. “Early History of Laboratory Breeding of *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) Focusing on the Origins and Use of Selected Strains.” Journal of Medical Entomology, vol. 47, no 6, novembro de 2010, p. 957–71. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1603/ME10152>.
- Leandro AS, de Castro WAC, Lopes RD, Delai RM, Villela DAM, de-Freitas RM. Citywide Integrated *Aedes aegypti* Mosquito Surveillance as Early Warning System for Arbovirus Transmission, Brazil. Emerg Infect Dis. 2022;28(4):701-706. doi:10.3201/eid2804.211547
- Lehmstedt K 1951. [A synthetic Pyrethrum insecticide]. Arzneimittelforschung. 1: 80–801.
- Li V, Schuler MA, Berenbaum MR 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. Ann Rev Entomol 52:231-53. Review.
- Li Y, Xu J, Zhong D, Zhang H, Yang W, Zhou G, Su X, Wu Y, Wu K, Cai S, Yan G, Chen XG. Evidence for multiple-insecticide resistance in urban *Aedes albopictus* populations in southern China. Parasit Vectors. 2018 Jan 3;11(1):4. doi: 10.1186/s13071-017-2581-y. PMID: 29298700; PMCID: PMC5753460.

- Li YC, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E 2002. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms a review. *Molecular Ecology* 11: 2453-2465.
- Li YC, Korol AB, Fahima T, Nevo E 2004. Microsatellites w
- Lima JBP, Pereira Da-Cunha M, Carneiro Da Silva R, Ribeiro Galardo AK, Silva Soares SD Da, Aparecida Braga I, Pimentel Ramos R, Valle D 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68: 329–333.
- Lima EP, Oliveira Filho AMD, Lima, JWDO, Ramos Júnior, AN, Cavalcanti, LPDG, & Pontes, RJS. (2006). Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39, 259-263.
- Lima EP, Paiva MHS, Araújo AP De, Silva ÉVG Da, Silva UM Da, Oliveira LN De, Santana AEG, Barbosa CN, Paiva Neto CC De, Goulart MO, Wilding CS, Ayres CFJ, Melo Santos MA V. De 2011. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites and Vectors* 4: 1–12.
- Linss JGB, Brito LP, Garcia GA, Araki AS, Bruno RV, Lima JBP, Valle D, Martins AJ 2014. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. *Parasites and Vectors* 7: 25.
- Luna JED, Martins MF, Anjos AFD, Kuwabara EF, Navarro-Silva MA 2004. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temefos e cipermetrina, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 38, 842-843.
- McAllister JC, Scott M, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2020. CONUS manual for evaluating insecticide resistance in mosquitoes using the CDC bottle bioassay kit. *CDC, Atlanta, GA*.
- Macfie JS 1915. Observations on the bionomics of *Stegomyia fasciata*. *Bull. Entomol. Res.* 6: 205–229.
- Maciel-de-Freitas R, Avendanho FC, Santos R, Sylvestre G, Araújo SC, Lima JBP, Martins AJ, Coelho GE, Valle D 2014. Undesirable consequences of insecticide resistance following *Aedes aegypti* control activities due to a dengue outbreak. *PLoS One* 9.
- Macoris MG, de Fátima Camargo M, Takaku L, & Andrighetti MT 1995. MODIFICAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* AO TEMEPHOS. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 24(1).
- Macoris, MG, Andrighetti MTM, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, & Bracco JE 2003. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98, 703-708.
- Macoris ML, Andrighetti, MTM, Rodrigues Nalon KDC, Garbeloto VC, Caldas Junior AL 2005. Standardization of bioassays for monitoring resistance to insecticides in *Aedes aegypti*.
- Macoris ML, Andrighetti MTM, Otrera VCG, Carvalho LRD, Caldas Júnior AL, & Brogdon WG 2007. Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102, 895-900.
- Macoris ML, Andrighetti MTM, Wanderley DMV, Ribolla PEM 2014. Impact of insecticide resistance on the field control of *Aedes aegypti* in the State of São Paulo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 47: 573–578.
- Macoris ML, Martins AJ, Andrighetti MTM, Lima JBP, Valle D 2018. Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *Aedes aegypti* in governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12: 1–18.

Macoris ML, Andrighetti MTM, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Cirino VCB 1999. Alteração de resposta de suscetibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 33: 521–522.

Magalhães RD 2016. A erradicação do *Aedes aegypti*: febre amarela, Fred Soper e saúde pública nas Américas (1918-1968).

Manjarres-Suarez A, Olivero-Verbel J 2013. Chemical control of *Aedes aegypti*: a historical perspective. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 22(1), 68-75.

Martins AJ, Brito LP, Linss JGB, Rivas GB da S, Machado R, Bruno RV, Lima JBP, Valle D, Peixoto AA 2013. Evidence for gene duplication in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti*. *Evol. Med. Public Heal.* 2013: 148–160.

Martins AJ, Lima JBP 2019. Evaluation of insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations connected by roads and rivers: The case of Tocantins state in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 114.

Martins AJ, Ribeiro CD e. M, Bellinato DF, Peixoto AA, Valle D, Lima JBP 2012. Effect of insecticide resistance on development, longevity and reproduction of field or laboratory selected *Aedes aegypti* populations. *PLoS One* 7.

Martins AJ, Lima JBP, Peixoto AA, Valle, D. 2009. Frequency of Val1016Ile mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* Brazilian populations. *Tropical Medicine & International Health*, 14(11), 1351–1355. doi:10.1111/j.1365-3156.2009.02378.

Martins AJ, Lins RMA, Linss JGB, Peixoto AA, Valle D 2009. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil.

Melo-Santos MA, Varjal-Melo JJ, Araújo AP, Gomes TC, Paiva MH, Regis LN, Furtado AF, Magalhaes T, Macoris ML, Andrighetti MT, Ayres CF. Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. *Acta Trop.* 2010

Metcalf RMR 1949. Studies of the mode of action of parathion and its derivatives and their toxicity to insects. *J. os Econ. Entomol.* 42: 721–728.

Milani RI. Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbatante del DDT: correlazione tran abbatimento e mortalita in *Musca domestica* L. *Riv Parasitol.* 1954; 15:513-42

Ministério da Saúde 2014a. Monitoramento dos casos de dengue Semana Epidemiológica (SE) 35 e febre de chikungunya SE 36 de 2014 - Boletim Epidemiológico - Secretaria de Vigilância em Saúde.

Ministério da Saúde 2014b. Orientações técnica para utilização do larvicida pyriproxyfen (0,5 G) no controle de *Aedes aegypti*.

Ministério da Saúde 2017. Controle de vetores. www.saude.gov.br/vigilancia-em-saude/controle-de-vetores. Acessado em 14/12/2021

Ministério da Saúde 2019. Procedimento Operacional Padrão No 09 ARMADILHAS OVITRAMPAS.

Ministério da Saúde do Brasil 2020. Monitoramento dos casos de Arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika).

Ministério da Saúde Inseticidas Recomendados. 2014.

Montella IR, Martins AJ, Viana-Medeiros PF, Lima JBP, Braga IA, Valle D 2007. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77: 467–477.

Montella IR, Schama R, Valle D 2012. The classification of esterases: An important gene family involved in insecticide resistance - A review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107: 437–449.

Moreira IM. Avaliação da suscetibilidade de populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) do Distrito Federal à inseticidas e seu controle de qualidade químico.

Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, Rocha BC, Hall-Mendelin S, Day A, Riegler M, Hugo LE, Johnson KN, Kay BH, McGraw EA, van den Hurk AF, Ryan PA, O'Neill SL. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. *Cell*. 2009 Dec 24;139(7):1268-78. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.042. PMID: 20064373.

Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, Raghavendra K, Pinto J, Corbel V, David JP, Weetman D 2017. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11: 1–20.

Narahashi T 1969. Mode of action of DDT and allethrin on nerve: cellular and molecular mechanisms. *Residue Rev.* 25: 275–288.

Narahashi T 1986. Mechanism of action of pyrethroids on sodium channel and calcium channel gating. In: *Neuropharmacol. Pestic. action*, pp. 36–60.

Nishizawa Y 1971. Development of new synthetic pyrethroids. *Bull. World Health Organ.* 44: 325–336.

Nunes RF, Souza MAD, Oliveira JCD, Grangeiro RFDO, Marinho, MJDM, Pereira WO 2016. Caracterização de perfis enzimáticos de cepas do *Aedes aegypti* do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 21, 285-292.

Nwoke BE, Nduka FO, Okereke OM, Ehigbibe OC 1993. Sustainable urban development and human health: septic tank as a major breeding habitat of mosquito vectors of human diseases in south-eastern Nigeria. *Appl. Parasitol.* 34: 1–10.

Ogunlade ST, Meehan MT, Adekunle AI, Rojas DP, Adegboye OA, McBryde ES. A Review: *Aedes*-Borne Arboviral Infections, Controls and *Wolbachia*-Based Strategies. *Vaccines* (Basel). 2021 Jan 8;9(1):32. doi: 10.3390/vaccines9010032. PMID: 33435566; PMCID: PMC7827552.

Organização Mundial de Saúde 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides.

Organização Mundial de Saúde 2016. Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations Interim guidance for entomologists.

Organização Mundial da Saúde. Prequalified Vector Control Products. Disponível em: <https://extranet.who.int/pqweb/vector-control-products/prequalified-product-list>. Acesso em: 19 maio 2023.

Organização Mundial da Saúde. Control of Neglected Tropical Diseases. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/interventions/strategies/vector-control/insecticide-resistance>. Acesso em: 19 maio 2023.

Paul, L M. Dengue virus antibodies enhance Zika virus infection. *Clinical & Translational Immunology*, vol. 5, no 12, dezembro de 2016, p. e117. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1038/cti.2016.72>.

Pereira Lima JB, Pereira Da-Cunha M, Carneiro Da Silva R, Ribeiro Galardo AK, Silva Soares SD Da, Aparecida Braga I, Pimentel Ramos R, Valle D 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68: 329–333.

Piccoli CF 2010. Análise de mutações no fragmento do gene que expressa a proteína transmembrana de canal de sódio (kdr) e da suscetibilidade a inseticidas em populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).

Pinto SB, Riback TIS, Sylvestre G, Costa G, Peixoto J, Dias FBS, Tanamas SK, Simmons CP, Dufault SM, Ryan PA, O'Neill SL, Muzzi FC, Kutcher S, Montgomery J, Green BR, Smithyman R, Eppinghaus A, Saraceni V, Durovni B, Anders KL, Moreira LA. Effectiveness of Wolbachia-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021 Jul 12;15(7): e0009556. doi: 10.1371/journal.pntd.0009556. PMID: 34252106; PMCID: PMC8297942.

Polson KA, Rawlins SC, Brogdon WG, Chadee DD. Characterisation of DDT and Pyrethroid Resistance in Trinidad and Tobago populations of *Aedes aegypti*. *Bulletin of Entomological Research* 2011; 101:435–41.

Prophiro JS, Silva OS, Luna JED, Piccoli CF, Kanis LA, & Silva MAND 2011. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44, 300-305.

Rahman RU, Cosme LV, Costa MM, Carrara L, Lima JBP, Martins AJ 2021. Insecticide resistance and genetic structure of *Aedes aegypti* populations from Rio de Janeiro State, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 15: e0008492.

Rajatileka S, Black WC, Assacedra-Rodriguez K, Trongtokit Y, Apiwathnasorn C, McCall PJ, Ranson H 2008. Development and application of a simple colorimetric assay reveals widespread distribution of sodium channel mutations in thai populations of *Aedes aegypti*. *Acta Trop.* 108: 54-57.

Ranson H, Claudianos C, Orтели F, Abgrall C, Hemingway J, Sharakhova MV, Unger MF, Collins FH, Feyereisen R. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science.* 2002 Oct

Raymond, M. 1985. "Basic program for log-probit analysis for microcomputer." *Cahiers ORSTOM: serie entomologie medicale et parasitologie.*

Retnakaran A, Grenett J, Ennis T 1985. Insect Growth Regulators, in: *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology.* (G. A. Kerkut, and L.I. Gilbert, eds.), Volume 12, Pergamon Press, Oxford, pp. 529-601

Rodrigues, Rosangela Aparecida, et al. "Microsatellite markers for population genetic studies of the blowfly *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae)". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 104, no 7, novembro de 2009, p. 1047–50. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000700020>.

Ruigt GS, 1985. Pyrethroids, in: *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology.* (G. A. Kerkut, and L. I. Gilbert, eds.), Volume 12, Pergamon Press, Oxford, pp. 183-263.

Sá ELR De Rodvalho CDM, Sousa NPR De, Sá ILR De Bellinato DF, Dias LDS, Silva LC Da, Martins AJ, Lima JBP 2019. Evaluation of insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations connected by roads and rivers: The case of tocantins state in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 114.

Saavedra-Rodriguez K, Suarez AF, Salas IF, Strode C, Ranson H, Hemingway J, Black IV WC 2011. Transcription of detoxification genes after permethrin selection in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol online:* doi: 10.1111/j.1365-2583.2011. 01113.x

Sarles MP, Vandergrift WB 1952. Chronic oral toxicity and related studies on animals with the insecticide and pyrethrum synergist, piperonyl butoxide. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1: 862–883.

Schatzmayer HG, Nogueira RM, Travassos da Rosa AP 1986. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro--1986. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 81: 245–246.

Schoof HF 1967. Mating, resting habits and dispersal of *Aedes aegypti*. *Bulletin of the World Health Organization*, 36(4), 600.

Schuartz, V. Suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (diptera: culicidae) ao malation utilizando bioensaios e expressão gênica. 2021. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Parasitologia, Universidade Federal de Paraná, Cuiabá, 2021.

Seixas, Gonçalo, et al. “Origin and Expansion of the Mosquito *Aedes Aegypti* in Madeira Island (Portugal).” *Scientific Reports*, vol. 9, no 1, fevereiro de 2019, p. 2241. www.nature.com, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38373-x>.

Serravite, AM. Investigação do Perfil de Suscetibilidade/resistência de *Aedes aegypti* de Belo Horizonte (Minas Gerais) Aos Inseticidas Utilizados Para O Controle Vetorial No Brasil. 2021. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

Silva WRD 2019. Monitoramento da Resistência e dos Efeitos em Parâmetros Biológicos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) de Manaus, Amazonas, exposto ao Biolarvicida Espinosade, em Condições de Laboratório.

Slotman, M. A., et al. “Polymorphic Microsatellite Markers for Studies of *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae), the Vector of Dengue and Yellow Fever: PRIMER NOTE.” *Molecular Ecology Notes*, vol. 7, no 1, novembro de 2006, p. 168–71. DOI.org (Crossref), <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01533.x>.

Soper FL 1965. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 887–891.

Strode C, Wondji CS, David JP, Hawkes NJ, Lumjuan N, Nelson DR, Drane DR, Karunaratne SH, Hemingway J, Black WC 4th, Ranson H. Genomic analysis of detoxification genes in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2008

Su T, Thieme J, Lura T, Cheng ML, Brown MQ. Susceptibility Profile of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) from Montclair, California, to Commonly Used Pesticides, With Note on Resistance to Pyriproxyfen. *J Med Entomol.* 2019 Jun 27;56(4):1047-1054. doi: 10.1093/jme/tjz019. PMID: 30810751.

Su X, Guo Y, Deng J, Xu J, Zhou G, Zhou T, Li Y, Zhong D, Kong L, Wang X, Liu M, Wu K, Yan G, Chen XG 2019. Fast emerging insecticide resistance in *Aedes albopictus* in Guangzhou, China: Alarm to the dengue epidemic. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(9), e0007665.

Suter T, Crespo MM, de Oliveira MF, de Oliveira TSA, de Melo-Santos MAV, de Oliveira CMF, Ayres CFJ, Barbosa RMR, Araújo AP, Régis LM, Flacio E, Engeler L, Müller P, Silva-Filha MHNL 2017. Insecticide susceptibility of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* from Brazil and the Swiss-Italian border region. *Parasites & vectors*, 10(1), 1-11.

Tabashnik, B.E; Roush, R.T. Pesticide resistance in arthropods. London: Chapman and Hall, 1990. 303p.

Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005

Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticides: highlights of a symposium on strategic molecular designs. *J Agric Food Chem.* 2011

- Tomizawa M, Cowan A, Casida JE. Analgesic and toxic effects of neonicotinoid insecticides in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001
- Valle D, Bellinato DF, Viana-Medeiros PF, Lima JBP, Martins Junior ADJ 2019. Resistance to temephos and deltamethrin in *Aedes aegypti* from Brazil between 1985 and 2017. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 114: 1–17.
- Valle D, Pimenta DN, Cunha RV da 2015. Dengue: teorias e práticas. Editora FIOCRUZ. VOL.34: 189–202.
- Viana-Medeiros PF, Bellinato DF, Martins AJ, Valle D 2017. Insecticide resistance, associated mechanisms and fitness aspects in two Brazilian *Stegomyia aegypti* (= *Aedes aegypti*) populations. *Medical and Veterinary Entomology*, 31(4), 340-350.
- Vontas JG, Small GJ, Hemingway J 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem. J.* 357: 65–72.
- Ware GW, Whitacre DM 2004. *An Introduction to Insecticides: The pesticide book.*
- Weill M, Fort P, Berthomieu A, Dubois MP, Pasteur N, Raymond M 2008. A novel acetylcholinesterase gene in mosquitos' codes for the insecticide target and is non-homologous to the ace gene in *Drosophila*. *Hungarian Q.* 49: 2007–2016.
- Weill M, Malcolm C, Chandre F, Mogensen K, Berthomieu A, Marquine M, Raymond M 2004. The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors. *Insect Mol. Biol.* 13: 1–7.
- Wigglesworth V 1934. The physiology of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). II. *J. Cell Sci.*: 191–222.
- Wilke ABB, Wilk-da-Silva R, Marrelli MT 2017. Microgeographic population structuring of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *PloS one*, 12(9), e0185150.
- Wilke AB, Vasquez C, Carvajal A, Moreno M, Fuller DO, Cardenas G, Petrie WD, Beier JC 2021. Urbanization favors the proliferation of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in urban areas of Miami-Dade County, Florida. *Scientific reports*, 11(1), 22989.
- Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, Devonshire AL 1996. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.* 252: 51–60.
- Wilson TG 2004. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: How these compounds kill insects. *J. Insect Physiol.* 50: 111–121.
- Wondji CS, Dabire RK, Tukur Z, Irving H, Djouaka R, Morgan JC 2011. Identification and distribution of a GABA receptor mutation conferring dieldrin resistance in the malaria vector *Anopheles funestus* in Africa. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 41: 484–491.
- Yang C, Huang Z, Li M, Feng X, Qiu X 2017. RDL mutations predict multiple insecticide resistance in *Anopheles sinensis* in Guangxi, China. *Malar J* 16: 482.
- Yang L, Norris EJ, Jiang S, Bernier UR, Linthicum KJ, Bloomquist JR 2020. Reduced effectiveness of repellents in a pyrethroid-resistant strain of *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae) and its correlation with olfactory sensitivity. *Pest Manag. Sci.* 76: 118–124.
- Yanola J, Somboon P, Walton C, Nachaiwieng W, Prapanthadara L aied 2010. A novel F1552/C1552 point mutation in the *Aedes aegypti* voltage-gated sodium channel gene associated with permethrin resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 96: 127–131.
- Yeager JF, Munson SC 1945. Physiological evidence of a site of action of DDT in an insect. *Science*

(80-). 102: 305–307.

Yiguan W, Xin L, Chengling L, Su T, Jianchao J, Yuhong G, Dongsheng R, Zhicong Y, Qiyong L, Fengxia M 2017. A survey of insecticide resistance in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) during a 2014 dengue fever outbreak in Guangzhou, China. *Journal of economic entomology*, 110(1), 239-244.

Zalucki MP, Furlong MJ 2017. Behavior as a mechanism of insecticide resistance: evaluation of the evidence. *Curr. Opin. Insect Sci.* 21: 19–25.

Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.

Zanluca C, Melo VCA De Mosimann ALP, Santos GIV Dos, Santos CND dos, Luz K 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110: 569–572.

Zara ALDSA, Santos SMD, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas - período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.

Autoria e ano de publicação	Período de coleta das populações no campo	Estado	Locais de coleta (número de populações)	Número total de populações por estado
Macoris et al, 1995	1992 a 1994	SP	Marília (3); Bauru (2)	5
	1993 a 1994	GO	Goiânia (2)	2
Macoris et al, 1999	1996 a 1998	SP	Araçatuba (1); Bauru (1); Barretos (1); Marília (1); Presidente Prudente (1); Ribeirão Preto (1) e São José do Rio Preto (1); Santos (1); Campinas (1)	9
Campos et al, 2001	1997	SP	Campinas (1)	1
	1998 e 1999	MS	Campo Grande (1)	1
Bregues et al, 2003	1995 a 1998	PA	Belém (1)	1
Lima et al, 2003	1999	RJ	Campos dos Goytacazes (1); Duque de Caxias (1); Niterói (1); Nova Iguaçu (1); Rio de Janeiro (1); São Gonçalo (1); São Joao de Meriti (1)	7
	1999	ES	Cariacica (1); Vila Velha (1); Vitoria (1)	3
Lima et al, 2003	1999	SP	Presidente Prudente (1); Araçatuba (1); São José do Rio Preto (1); Ribeirão Preto (1); Barretos (1); Campinas (1); São Paulo (1); Santos (1); Bauru (1); Marília (1)	10
Campos et al, 2003	2002	SP	Campinas (1)	1
		MT	Cuiabá (1)	1
Braga et al, 2004	2001	RJ	Campos dos Goytacazes (1); Duque de Caxias (1); Niterói (1); Nova Iguaçu (1); Rio de Janeiro (1); São Gonçalo (1); São João de Meriti (1)	7
	2001	SE	Aracaju (1); Barra dos Coqueiros (1); Itabaiana (1)	3
	2001	AL	Arapiraca (1); Maceió (1)	2
Carvalho et al, 2004	2000 e 2001	DF	Planaltina (1); Sobradinho (1); Guará (1); Núcleo Bandeirante (1); Candangolândia (1); Gama (1); Ceilândia (1); Taguatinga (1).	8
Luna et al, 2004	2003	PR	Curitiba (1)	1
Da-Cunha et al, 2005	2001 a 2003	RJ	Duque de Caxias (1); Niterói (1); São Gonçalo (2); São João de Meriti (1); Rio de Janeiro (2); Cabo Frio (1); SJV Rio Preto (1); Três rios (1); Nova Iguaçu (2)	10
		SE	Aracaju (2); Barra dos Coqueiros (1)	3
		AL	Maceió (1)	1
Braga et al, 2005	2005	RJ	Rio de Janeiro (1)	1
		RN	Natal (1)	1
		SP	Presidente Prudente (1)	1
		RO	Porto Velho (1)	1
		AP	Macapá (1)	1
Lima et al, 2006	2005	CE	Fortaleza (1); Barbalha (1); Crato (1); Juazeiro do Norte (1);	4
Beserra et al, 2007	2003 e 2004	PB	Boqueirão (1); Brejo dos Santos (1); Campina Grande (1); Itaporanga (1); Remigio (1)	5
Montella et al, 2007	2001 a 2004	PA	Belém (1); Dom Eliseu (1)	2
		RN	Natal (1); Mossoró (1); Caicó (1)	3
		AL	Maceió (1); Arapiraca (2)	3
		SE	Aracajú (1); Barra dos coqueiros (1); Itabaiana (1)	3
		RJ	Rio de Janeiro (2); Cabo Frio (1); Campos dos Goytacazes (1); Itaperuna (1); Niterói (1); Nova Iguaçu (1); São José do Rio Preto (1)	8
		RS	Ijuí (1); Santa Rosa (1)	2

Continuação Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas - período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.

Autoria e ano de publicação	Período de coleta das populações no campo	Estado	Locais de coleta (número de populações)	Número total de populações por estado
Montella et al, 2007	2001 a 2004	GO	Goiânia (1)	2
Macoris et al, 2007	1999	SP	Araçatuba (1), Bauru (1), Barretos (1), Campinas (1), Marília (1), Presidente Prudente (1), Ribeirão Preto (1), São José do Rio Preto (1), Santos (1)	9
		AL	Arapiraca (1)	1
		PE	Jaboatão (1); Recife (1); Jaboatão dos Guararapes (1)	1
		SE	Aracaju (1); Itabaiana (1); Barra dos Coqueiros (1)	3
Melo-Santos et al, 2010	2004 e 2008	PE	Araripina (1)	1
Lima et al, 2011	2009	CE	Juazeiro do Norte (1); Barbalha (1); Crato (1)	3
Prophiro et al, 2011	2006 a 2007	PA	Ubiratã (1); Santa Helena (1), Foz do Iguazu (1)	3
Fontoura et al, 2012	2006	CE	Fortaleza (1)	1
	2005	SE	Aracaju (1)	1
		MT	Cuiabá (1)	1
		MG	Uberaba (1)	1
Belinato et al, 2012	2007	RR	Boa Vista (1)	1
	2008	GO	Aparecida de Goiânia (1)	1
Araújo et al, 2013	2009 a 2011	PE	F. de Noronha (1); Glória do Goitá (1); Agrestina (1); Araripina (1); A. da Ingazeira (1); Salgueiro (1); Santa Cruz do Capibaribe (1); Recife (1); Cedro (1); S. J. Egito (1)	10
		AP	Macapá (1); Oiapoque (1)	2
		MA	Bacabal (1)	1
		PB	João Pessoa (1)	1
Belinato et al, 2013	2013	SE	Aracaju (1)	1
		AL	Maceió (1)	1
		MG	Montes Claros (1); Belo Horizonte (1)	2
		MS	Dourados (1)	1
		MT	Cuiabá (1)	1
Maciel-de-Freitas et al, 2014	2010 a 2011	RR	Boa Vista (2)	2
Macoris et al, 2014	2000 a 2011	SP	Campinas (1); Marília (1); São Jose do Rio Preto (1); Santos (1); Ribeirão Preto (1); Barretos (1).	1
Corte et al, 2018	2013	GO	Goiânia (1)	1
Bellinato et al, 2015	2007	RR	Boa Vista (1)	1
	2008	GO	Aparecida de Goiânia (1)	1
Diniz et al, 2015	2011	PE	Arcoverde	1
Bellinato et al, 2016	2010	RN	Caicó;(3)	3
	2011	RR	Pacaraima (3)	3
		PA	Castanhal (3); Marabá (3);	6
		ES	Cachoeiro de Itapemirim (3)	3

Continuação Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas - período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.

Autoria e ano de publicação	Período de coleta das populações no campo	Estado	Locais de coleta (número de populações)	Número total de populações por estado
Bellinato et al, 2016	2011 a 2012	GO	Aparecida de Goiânia (3); Campos Belos (3); Goiânia (3); Rio Verde (3); São Miguel do Araguaia (3); São Simão (3); Uruaçu (3)	18
Bona et al, 2016	2016	RJ	Rio de Janeiro (1)	1
Dias et al, 2017	2017	PA	Santarém (1); Marabá (1)	2
		GO	Goiânia (1)	1
		ES	Cachoeiro de Itapemirim (1)	1
		SP	Marília (1)	1
		BA	Salvador (1)	1
		AL	Santana do Ipanema (1)	1
Moyes et al, 2017	1996 a 2016	AC	Rio Branco (3)	3
		AM	Borba (1); Manaus (5)	6
		AP	Macapá (1)	1
		PA	Foz do Iguaçu (6)	6
		RR	Boa Vista (3)	3
		TO	Araguaína (2); Palmas (1); Tocantins (1)	4
		AL	Arapiraca (1); Maceió (1)	2
		BA	Barreiras (3); Eunápolis (2); Ibotirama (1); Ilhéus (1); Itabuna (2); Jacobina (3); Jequié (2); Juazeiro (1); Paulo Afonso (2); Salvador (3); Serrinha (1)	21
		CE	Fortaleza (4); Juazeiro Norte (2)	6
		PE	Araripina (2); Cabo do Santo Agostinho (1); Jaboatão dos Guararapes (2); Recife (3); Tamandaré (1)	9
		PI	Floriano (1); Parnaíba (1); Teresina (3)	5
		RN	Natal (1)	1
		MA	São Luís (1)	1
		SE	Aracaju (1); Barra dos Coqueiros (1); Itabaiana (1)	3
		DF	Brasília (3); Gama Sul (2); Samambaia (1); São Sebastião (DF) (2); Sobradinho (2)	10
		GO	Goiânia (1); Planaltina (1)	2
		MS	Campo Grande (2); Corumbá (1); Coxim (1); Dourados (2); Ponta Porã (1); Três Lagoas (1)	8
		RJ	Marília (18)	18
		MG	Belo Horizonte (1)	1
		SP	Araçatuba (20); Barretos (15); Bauru (13); Botucatu (8); Campinas (15); Itapevi (7); Itu (4); Jandira (1); Nova Europa (1); Pirituba (9); Presidente Prudente (20); Registro (2); Ribeirão Preto (19); Santana do Parnaíba (8); Santos (18); São Carlos (5); São José do Rio Preto (10); São Jose dos Campos (1); São Sebastião (16); Sorocaba (8)	200
PR	Ipiranga (2); Londrina (1); Maringá (3); Paranavaí (1)	7		
Viana-Medeiros et al, 2017	2012	SE	Aracaju (1)	1
	2013	CE	Crato (1)	1
Suter et al, 2017	2013	PE	Recife (1)	1

Continuação Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas - período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.

Autoria e ano de publicação	Período de coleta das populações no campo	Estado	Locais de coleta (número de populações)	Número total de populações por estado
Garcia et al, 2018	2009 a 2010	RJ	Duque de Caxias (2)	2
	2010	RN	Parnamirim (2)	2
	2010 a 2011	MS	Campo Grande (2)	2
		PA	Santarém (2)	2
Macoris et al, 2018	2006 a 2014	SP	São José do Rio Preto (10); Araçatuba (10); Santos (10); Ribeirão Preto (10); Campinas (10); Presidente Prudente (10) Marília (10).	70
Corte et al, 2018	2010 e 2011	SE	Canindé de São Francisco (1); Capela (1); Neópolis (1); Carira (1); Pinhão (1); Maruim (1); Aracaju (1)	7
de Sá et al, 2019	2011 a 2012	TO	Araguatins; Tocantinópolis (1); Araguaína (1); Colinas do tocantes (1); Caseara (1); Paraíso do Tocantins (1); Porto Nacional (1)	6
Araújo et al, 2019	2009 a 2012	PE	Recife (1); Olinda (1); Glória de Goitá (1); Agrestina (1), Santa Cruz do Capibaribe (1); Itaíba (1); Caruaru (1); Cedro (1); Salgueiro (1); Afogados da Ingazeira (1); São José do Egito (1); Araripina (1); Fernando de Noronha (1).	13
Garcia et al, 2019	2014 a 2015	RJ	Rio de Janeiro (1)	1
Carvalho et al, 2019	2017	DF	Brasília (1)	1
Valle et al, 2019	2007 a 2010	AL	Arapiraca (1); Maceió (2); Santana do Ipanema (1)	4
	2007 a 2010	ES	Cachoeiro de Itapemirim (1); Colatina (2); Vila Velha (3); Vitória (3)	9
	2007 a 2009	GO	Goiânia (3); Luziânia (1); Rio Verde (1); Uruaçu (1)	6
	2005 a 2011	MG	Belo Horizonte (1); Governador Valadares (1); Ubá (1); Uberlândia (1)	4
	2005	MS	Campo Grande (1)	1
	2005 a 2010	PA	Ananindeua (1); Belém (3); Benevides (1); Marabá (2); Santarém (2); Tucuruí (1)	7
	2008 a 2011	RJ	Cabo Frio (1); Itaperuna (1); Nova Iguaçu (1); Rio de Janeiro (1); São Gonçalo (1); Volta Redonda (1)	6
	2008 a 2011	RN	Caicó (2); Mossoró (2); Natal (2); Pau dos Ferros (3)	9
	2011	RS	Santa Rosa (1)	1
	2007 a 2010	SE	Aracaju (2); Itabaina (1)	3
Campos et al, 2020	2017 a 2018	AC	Rio Branco (1); Brasília (1)	2
		AM	Parintins (1); São Gabriel da Cache (1); Ira Humaitá (1); Tabatinga (1); Coari (1); Manaus (1)	6
		AP	Macapá (1); Oiapoque (1); Calçoene (1)	3
		PA	Santarém (1); Xinguara (1); Belém (1); Breves (1); Marabá (1); Altamira (1); Itaituba (1); Tucuruí (1); Redenção (1)	8
		RO	Cacoal (1); Jaru (1); Porto Velho (1); Guajará-Mirim (1); Vilhena (1)	5
		RR	Rorainópolis (1); Boa Vista (1)	2
		TO	Dianópolis (1); Palmas (1); Gurupi (1); Araguaína (1)	4
		AL	Maceió (1); Arapiraca (1); Delmiro (1); Gouveia (1)	4
		BA	Irecê (1); Salvador (1); Teixeira de Freitas (1); Itabuna (1); Brumado (1); Serrinha (1)	6
		CE	Fortaleza (1); Sobral (1); Crateús (1); Quixadá (1); Icó (1); Juazeiro do Norte (1)	6
		PB	Sousa (1); João Pessoa (1); Campina Grande (1); Lagoa Grande (1)	4
		PE	Recife (1); Salgueiro (1); Garanhuns (1); Petrolina (1); Palmares (1); Araripina (1); Santa Cruz do Capibaribe (1)	7

Continuação Tabela 4. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere a autoria e às amostras biológicas - período de coleta, procedência (Estado e município) e número total de populações estudadas.

Autoria e ano de publicação	Período de coleta das populações no campo	Estado	Locais de coleta (número de populações)	Número total de populações por estado
Campos et al, 2020	2017 a 2018	PI	Florianópolis (1); Teresina (1); Parnaíba (1); Picos (1); São Raimundo Nonato (1)	5
		RN	Natal (1); Pau dos Ferros (1); Jardim do Seridó (1); Mossoró (1)	4
		MA	São Luís (1)	1
		SE	Aracaju (1); Nossa Senhora da Glória (1); Itabaiana (1); Lagarto (1)	4
		DF	Brasília (1)	1
		GO	Minaçu (1); Posse (1); Cristalina (1); Goiânia (1); Iporá (1); Jataí (1); Morrinhos (1)	7
		MS	Corumbá (1); Dourados (1); Três Lagoas (1); Coxim (1); Ponta Porã (1); Campo Grande (1)	6
		MT	Cuiabá (1); Rondonópolis (1); Confresa (1); Alta Floresta (1); Água Boa (1); Pontes e Lacerda (1); Juína (1); Barra do Garças (1); Sinop (1)	9
		ES	Cachoeiro do Itapemirim (1); Vitória (1); Nova Venécia (1); Aracruz (1)	4
		RJ	Angra dos Reis (1); Campos dos Goytacazes (1); Volta Redonda (1); Rio de Janeiro (1)	4
		MG	Belo Horizonte (1); Governador Valadares (1); Juiz de Fora (1); Montes Claros (1); Uberaba (1); Teófilo Otoni (1); Coronel Fabriciano (1); Varginha (1); Patos de Minas (1)	9
		SP	Ribeirão Preto (1); Presidente Prudente (1); Sorocaba (1); São José do Rio Preto (1); São Sebastião (1); São Paulo (1)	6
		PR	Foz do Iguaçu (1); Londrina (1); Paranavaí (1); Maringá (1); Francisco Beltrão (1);	5
		RS	Santa Rosa (1); Gravataí (1); Passo Fundo (1); Santa Maria (1); Quaraí (1);	5
SC	São Miguel do Oeste (1); Xanxerê (1); Itajaí (1); Chapecó (1);	4		
Rahman et al, 2021	2016	RJ	Vassouras (1); Itaperuna (1); Campos dos Goytacazes (1); Mangaratiba (1); Itaboraí (1)	5
Filho et al, 2021	2018	MG	Belo Horizonte (1)	1

ANEXO 2

Tabela 5. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere ao inseticida avaliado, a metodologia adotada, as fases de desenvolvimento do mosquito investigadas e à linhagem de referência aos inseticidas usada.

Autoria e ano de publicação	Inseticida(s) utilizado(s) (GT ou PF*)	Metodologia(s) adotada(s)	Fase(s) do desenvolvimento do mosquito que foi estudada	Linhagem(ns) referência se suscetibilidade adotada(s)
Macoris et al, 1995	Temephos - GT	OMS ¹	Larvas	(Não Informada)
Macoris et al, 1999	Temephos - GT; Fenitrothion - GT	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Campos et al, 2001	Abate 500 E (Temefós 50%); Sumition PM (Fenitrothion 40%); Baygon 20CE (Propoxur 20%); Ciper 250 CE E Cymperator 25 CE (Cipermetrina 25%); Solfac 5CE (Ciflutrina 5%); Responsar 1,25 SC (Betacyflutrina 1,25%)	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Brengues et al, 2003	DDT - GT; Permetrina - GT; Lambda-Cyhalotrina - GT	OMS ¹ , ²	Larvas; Adultos	AEAE
Lima et al, 2003	Temephos - GT; Fenitrothion - GT; Malathion - GT	OMS ¹ /CDC	Larvas; Adultos	Rockfeller
Lima et al, 2003	Temephos - GT; Fenitrothion - GT	OMS	Larvas	Rockfeller
Campos et al, 2003	Abate 500E, Larvin 1G, Fersol 1G (Temefós); Ciper 250CE (Cipermetrina) Solfac 5CE (Ciflutrina)	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Braga et al, 2004	Temephos - GT	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Carvalho et al, 2004	Temephos - GT	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Luna et al, 2004	Fersol (Temefós - 1%; Cynoff 400 Pm (Cipermetrina - 25%))	OMS ¹	Larvas	Rockfeller
Da-Cunha et al, 2005	Cipermetrina 250 CE (Cipermetrina - 25%)	CDC	Adulto	Rockfeller
Braga et al, 2005	Metoprag 20EC (Methopreno 20%); Temephos - GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Lima et al, 2006	Temephos - GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Beserra et al, 2007	Temephos - GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Montella et al, 2007	Temephos – PF	OMS ¹ ; Simulação De Campo (MoReNAa)	Larva	Rockfeller
Macoris et al, 2007	Temephos - GT; Fenitrothion - GT; Malathion - GT; Cipermetrina - GT; Permetrina - GT	OMS ¹ , ²	Larvas; Adultos	Rockfeller
Melo-Santos et al, 2010	Temephos - GT; Deltametrina - GT; Piriproxifeno - GT; Cipermetrina - GT; Malathion - GT	OMS ¹ ; CDC	Larva; Adulto	Rockfeller
Lima et al, 2011	Temephos - GT; Cipermetrina - GT	OMS ¹ , CDC; Simulação De Semi-Campo	Larvas; Adultos	Rockfeller
Prophiro et al, 2011	Temephos – GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Fontoura et al, 2012	Temephos - GT; Novaluron - PF; Deltametrina - GT	OMS ¹ ; CDC; Simulação De Semi-Campo	Larva; Adulto	Rockfeller
Belinato et al, 2012	Temephos -GT; Deltametrina -GT	OMS ¹ , ²	Larva; Adulto	Rockfeller
Araújo et al, 2013	Temephos - GT; Bti	OMS ¹	Larva	Rockfeller; Recl
Belinato et al, 2013	Temephos - GT; Deltametrina - GT; Starycide SC 0.48® (Triflumuron - 48%)	OMS ¹ ; CDC	Larva; Adulto	Rockfeller

Continuação Tabela 5. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere ao inseticida avaliado, a metodologia adotada, as fases de desenvolvimento do mosquito investigadas e à linhagem de referência aos inseticidas usada.

Autoria e ano de publicação	Inseticida(s) utilizado(s) (GT ou PF*)	Metodologia(s) adotada(s)	Fase(s) do desenvolvimento do mosquito que foi estudada	Linhagem(ns) referência se suscetibilidade adotada(s)
Maciel-De-Freitas et al, 2014	Temefós - GT; Deltametrina - GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Macoris et al, 2014	Temephos - PF; Cipermetrina - PF; Malathion- - PF; Permetrina--PF; Deltametrina - PF; Bendiocarb 'PF; Fenitrothion - PF	OMS ^{1, 2} ; Simulação De Campo; Semi-Campo	Larva; Adulto	Rockfeller
Chapadense et al, 2015	Deltametrina - GT	OMS ²	Adulto	Rockfeller
Bellinato et al, 2015	Diflubenzuron - GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Diniz et al, 2015	Temephos – GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller
Bellinato et al, 2016	Temephos - GT; Diflubenzuron - GT; Deltametrina - GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Bona et al, 2016	Deltametrina - GT	CDC	Adulto	Rockfeller
Dias et al, 2017	Temefós - GT; Natular 20EC (Espinosade 20,6%)	OMS ¹ ; Simulação De Semi-Campo	Larva	Rockfeller
Moyes et al, 2017	Bendiocarb - GT; Cipermetrina - GT; Deltametrina - GT; Etofenproxe - GT; Fenitrothion - GT; Malathion - GT; Temefós - GT; Alfacipermetrina - GT	OMS ^{1, 2} ; CDC	Larva; Adulto	Não Informada
Viana-Medeiros et al, 2017	Temephos -GT; Malathion -GT; Diflubenzuron -GT; Deltametrina -GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Suter et al, 2017	Bti E Bti – GT	OMS ¹	Larva	Rockfeller; Recl
Garcia et al, 2018	Temephos - GT; Diflubenzuron - GT; Deltametrina - GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Macoris et al, 2018	Deltametrina -GT	OMS	Adulto	Rockfeller
Corte et al, 2018	Temephos -GT	OMS	Larva	Rockfeller
De Sá et al, 2019	Temephos - GT; Deltametrina - GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Araújo et al, 2019	Temephos - GT; Diflubenzuron - GT; Cipermetrina. -GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Garcia et al, 2019	Temephos -GT; Diflubenzuron -GT; Deltametrina -GT Malathion - GT	OMS ^{1, 2}	Larva; Adulto	Rockfeller
Carvalho et al, 2019	Piriproxifeno - GT; Malathion - GT	OMS ¹ /CDC ²	Larva; Adulto	Rockfeller
Valle et al, 2019	Deltametrina - GT; Temefós - GT	OMS ¹ /CDC ²	Larva; Adulto	Não Informada
Rahman et al, 2021	Temefós - GT; Piriproxifeno - GT; Deltametrina - GT; Malathion - GT	OMS ¹ /CDC	Larva; Adulto	Rockfeller
Filho et al, 2021	Deltametrina - GT	OMS ²	Adulto	Rockfeller

* - Quando PF foi descrito foi anotado em NOME (Ativo químico – concentração)

¹ - Usou metodologia para larvas da OMS.

² - Usou metodologia de tubo de ensaio para adultos da OMS

ANEXO 3

Tabela 6. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere ao tipo de estudo desenvolvido, ao critério de mortalidade adotado e ao status de suscetibilidade/resistência observado.

Autoria e ano de publicação	Tipo(s) de estudo(s) desenvolvido(s) (qualitativo ou quantitativo)	Ponto(s) de corte para interpretação de mortalidade adotado(s)	Número de populações caracterizadas como resistentes (Classe - variação RR e/ou % mortalidade)
Macoris et al, 1995	Qualitativo	OMS, 1981	3 (OP - 43,7 a 100%)
Macoris et al, 1999	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981	1 (OP - 96,5%)
Campos et al, 2001	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981	1 (PI - RR ₉₅ 3,5) (CB - RR ₉₅ 3,9) (OP - 85,4%)
Bregues et al, 2003	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981	1 (OC - RR ₉₅ 54) (PI - RR ₉₅ 8,6 - 38%)
Lima et al, 2003	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981	10 (OP - RR ₉₅ 3,6 a 8,7 - 23 a 93,8%)
Lima et al, 2003	Qualitativo e quantitativo	Davidson & Zahar, 1973	7 (OP - 75 a 97% / RR ₉₅ 1,5 a 3,2)
Campos et al, 2003	Quantitativo	OMS, 1981	Todas as populações suscetíveis
Braga et al, 2004	Qualitativo e quantitativo	Davidson & Zahar, 1973; Mazzarri and Georghiou, 1995	11 (OP - RR ₉₀ 7,5 a 16,8 7,1 a 61,9%)
Carvalho et al, 2004	Qualitativo	OMS, 1981	6 (OP - 54,1 a 92, 8%)
Luna et al, 2004	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1992	1 (PI - RR ₉₅ 4 - 65%) (OP - 90% - RR ₉₅ 4,7)
Da-Cunha et al, 2005	Qualitativo	OMS (Davidson & Zahar, 1973)	14 (PI - 43 a 95,7%)
Braga et al, 2005	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	3 (OP - RR ₉₀ 8,3 a 17,1)
Lima et al, 2006	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1992; Mazzarri and Georghiou, 1995	5 (OP - RR ₉₅ 8 a 16 - 0 a 28%)
Beserra et al, 2007	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1992; Campos & Andrade, 2003	7 (OP - RR ₉₅ 4 a 16.6 - 1,2 a 94,6%)
Montella et al, 2007	Qualitativo e quantitativo	Davidson & Zahar, 1973, Montella et al, 2007	23 (OP - RR ₉₅ 7,7 a 26,2 e (16,3 a 75.9 %)
Macoris et al, 2007	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1998	14 (OP - RR ₉₅ 1,6 a 8,9) (PI - 12 a 97%)
Melo-Santos et al, 2010	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	1(OP - RR ₉₀ 7 a 50%)
Lima et al, 2011	Qualitativo e quantitativo	OMS; Mazzarri and Georghiou, 1995	3 (OP - RR ₉₅ 7.2 de 192.7) (PI - 49,9 a 97 100%)
Prophiro et al, 2011	Qualitativo	Davidson & Zahar, 1973; Mazzarri and Georghiou, 1995	2(OP - 1,7 a 3,62 75,9 a 77)
Fontoura et al, 2012	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1998; Montella et al, 2007	4 (PI - 82,5 e 92,6% RR ₉₀ 6,3 a 41,6)
Belinato et al, 2012	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981, Brasil, 2006	2(OP - RR ₉₅ 7,4 e 19,2%) (PI - 11,7 e 37,6%)
Araújo et al, 2013	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	13 (OP - RR ₉₅ 6,6 a 252)
Belinato et al, 2013	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981, Brasil, 2006	6 (PI - RR ₉₅ 4 a 19,3) (OP - RR ₉₅ 4 a 19,3)
Maciel-de-Freitas et al, 2014	Quantitativo	OMS, 1998; Montella et al, 2007	1 (PI - R ₉₀ 19,6 38,8) (OP- RR ₉₀ 3,3 a 4,4)
Macoris et al, 2014	Qualitativo e quantitativo	OMS 1981; Brasil, 2006	4 (PI - 22,7 a 83% RR ₉₅ 40 a 95) (OP - 80 a 89,9%)

Continuação Tabela 6. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere ao tipo de estudo desenvolvido, ao critério de mortalidade adotado e ao status de suscetibilidade/resistência observado.

Autoria e ano de publicação	Tipo(s) de estudo(s) desenvolvido(s) (qualitativo ou quantitativo)	Ponto(s) de corte para interpretação de mortalidade adotado(s)	Número de populações caracterizadas como resistentes (Classe - variação RR e/ou % mortalidade)
Chapadense et al, 2015	Quantitativo	OMS, 1998	1 (PI - RR ₉₅ >60)
Bellinato et al, 2015	Quantitativo	OMS, 1981; Brasil, 2006	Todas as populações suscetíveis
Diniz et al, 2015	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	1 (OP - RR ₉₅ 226,0)
Bellinato et al, 2016	Quantitativo	OMS, 1998; Brasil, 2006	14 (OP - RR ₉₅ 4 a 27,1) (PI - RR ₉₅ 13 a 70,7)
Bona et al, 2016	Qualitativo	OMS, 1998	1 (PI - 64%)
Dias et al, 2017	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	8 (OP - RR ₉₅ 3,6 a 119,1) (EP- RR ₉₅ 3,4 a 5,4)
Viana-Medeiros et al, 2017	Quantitativo	OMS, 2005; Montella et al, 2007	2 (PI - RR ₉₅ 12,9 a 64,8)
Moyes et al, 2017	Quantitativo e Qualitativo	OMS; Brasil, 2006	188(PI - 2,7 a 97,2%) (OP - 0 a 97,9%)
Suter et al, 2017	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	Todas as populações suscetíveis
Garcia et al, 2018	Quantitativo	OMS; Brasil, 2006	8 (OP - RR ₉₅ 3,2 a 16,3) (PI - 10,1 a 97,8)
Macoris et al, 2018	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981; Montella et al, 2007	68 (PI - 12,7 a 73%)
Corte et al, 2018	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981	7 (PI - RR ₉₉ 22,2 a 297,8)
De Sá et al, 2019	Quantitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	9 (OP - RR ₉₅ 5,7 a 15)
Araújo et al, 2019	Qualitativo e quantitativo	OMS; Mazzarri and Georghiou, 1995	8 (OP - RR ₉₉ 38,4 a 222,6)
Garcia et al, 2019	Quantitativo	OMS, 1981	1(PI - RR ₉₅ 19 a 46,2) (OP - RR ₉₅ 6,4 a 14,5)
Carvalho et al, 2019	Quantitativo	OMS, 2016	Todas as populações suscetíveis
Valle et al, 2019	Quantitativo e Qualitativo	OMS, 1981; Brasil, 2006	50 (OP - RR ₉₀ 3,3 a 88,8) (PI - 8,1 e 79%)
Campos et al, 2020	Qualitativo	OMS, 1981; Mazzarri and Georghiou, 1995	97 (OP - 31,3 a 95,3%) (IGR - RR ₉₅ 3,4 a 3,5)
Rahman et al, 2021	Qualitativo e quantitativo	OMS, 1981; Brasil, 2006	6 (PI - <80%) (OP RR ₉₀ >3)
Filho et al, 2021	Quantitativo	OMS, 1981; Valle, 2019	1 (PI - RR ₉₅ 3,8)

*Mortalidade < 80% são considerados resistente. Mortalidade >98% considerada suscetível; Mortalidade entre 98% e 80% considerado resistência a confirmar

** 5 > RR > 3 considerado resistência baixa; 10 >RR> 5 considerado resistência moderada; RR > 10 considerada alta resistência

***RR₉₅> 3 considerado resistente

ANEXO 4

Tabela 7. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere ao tipo de estudo desenvolvido, ao critério de mortalidade adotado e ao status de suscetibilidade/resistência observado.

Autoria e ano de publicação	Resistência bioquímica investigada	Resultados relacionados a investigação da resistência bioquímica	Resistência do sítio-alvo investigada	Resultados relacionados aos mecanismo sítio-alvo
Bregues et al 2003	A-EST; B-EST	Atividade enzimática com alta variabilidade	Alterações no sítio alvo de DDT e PI	Substituição de amino ácido na proteína do canal de sódio
Macoris et al, 2003	AChE; MFO; GST; PNPA-EST	Alta atividade de MFO; GST; PNPA-EST	-	-
Lima et al, 2005	A-EST; B-EST	A-EST; B-EST alteradas	Frequência de AceR	Inconclusivo
Montella et al, 2007	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST; PNPA-EST	MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	--	-
Martins et al, 2009	GST; A-EST; B-EST	GST; A-EST; B-EST alteradas	Presença das mutações Nav 1016Ile e 1534Cys	Detectado
Martins et al, 2009	-	-	Presença das mutações Nav 1016Ile e 1534Cys	Detectado
Melo-Santos et al, 2010	MFO; GST; A-EST; B-EST	MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	-	-
Lima et al 2011	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST; PNPA-EST	AChE; MFO; GST; A-EST; PNPA-EST alteradas	Presença das mutações Nav 1016Ile e 1534Cys	Ile1011Met detectado
Belinato et al, 2012	-	-	Presença das mutações Nav 1016Ile e 1534Cys	Detectado
Araujo et al, 2013	MFO; GST; A-EST; B-EST	MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	-	-
Linss et al, 2014	-	-	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2*	S (0 a 0,91); R1 (0 a 0,750) R2 (0 A 0,8)
Chapadense et al, 2015	-	-	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2	S (0 a 0,037); R1 (0,42 a 0,75); R2 (0,61 a 0,84)
Diniz et al, 2015	MFO; GST; A-EST; B-EST	MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	-	-
Belinato et al, 2016	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2	S (0 a 0,92); R1 (0,08 a 0,6 (a)); R2 0 a 0,67
Collet et al, 2016	-	--	Frequência das mutações Nav V1016Ile	V1016Ile (0,46 a 0,82)
Dolabella et al, 2016	-	-	Frequência das mutações Nav V1016Ile	V1016Ile (0,5 a 0,8)
Viana-Medeiros et al, 2017	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST alteradas	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2	S (0,38 a 0,446); R1 (0,1 a 0,39); (R2 0,16 a 0,517)
Costa et al, 2017	-	-	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2	S (0,100 e 0,160); R1 (0,23 e 0,84); R2 (0,000 e 0,67)
Garcia et al, 2018	-	-	Frequência das mutações Nav V1016Ile e F1534Cys	S (0 a 0,9); R1 (0,33 a 1); R2 (0 a 0,52)
Macoris et al, 2018	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST	AChE; MFO; GST; A-EST; alterados	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R2	S (0,1 a 0,96); R1 (0,1 a 0,6); R2 (0,03 a 0,96)
Valle et al, 2019	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST	AChE; MFO; GST; A-EST; B-EST alterados	Frequência de alelos AaNAAV S; R1 e R4	S (0 a 0,92); R1 (0,09 a 0,732); R2 (0 a 0,88)
Campos et al, 2020	-	-	Frequência das mutações Nav V1016Ile e F1534Cys	V1016Ile (0 a 0,81) e F1534Cys (0 a 1)

* AaNAAV R1 - Fenótipo resistente Val1016Val + Phe1534Cys da proteína de canal de sódio de *Aedes aegypti*; AaNAAV R2 - Fenótipo resistente Val1016Ile + Phe1534Cys da proteína de canal de sódio de *Aedes aegypti*; AaNAAV R2 - Fenótipo resistente Val1016Ile + Phe1534Phe da proteína de canal de sódio de *Aedes aegypti*; AaNAAV S - Fenótipo suscetível Val1016Val + Phe1534Phe da proteína de canal de sódio de *Aedes aegypti*

ANEXO 5

Tabela 8. Caracterização dos estudos científicos publicados sobre a investigação da resistência de populações de campo brasileiras de *Aedes aegypti* aos inseticidas no que se refere aos estudos no campo – detalhamento metodológico e resultados observados.

Autoria e ano de publicação	Realização de estudos no campo ou semicampo*	Detalhamento metodológico quanto ao estudo no campo	Resultados
Brasil, 2008	Campo	Testou temefós e piriproxifeno - Larvas L3 - Usou-se vasos de vidro ou rodas - período de avaliação de 58 dias	Inseticidas considerados eficazes
Lima et al, 2011	Semicampo	Testou temefós na formulação de granulo (1ppm) - Larvas L3 - Usou-se um recipiente com 20L de água e 2g de inseticida - período de avaliação de 60 dias	Mortalidade de 90 a 98% até a oitava semana - considerou o PF eficaz
Fontoura et al, 2012	Semicampo	Testou Novaluron - Larvas L3 - Usou-se recipiente com 50L - período de avaliação de 11 semanas	Mortalidade acima de 70% até a 4 semana - considerou o produto é eficaz
Macoris et al, 2014	Campo	Testou cipermetrina, malathion, permetrina e deltametrina - adultos - gaiolas sentinel	Resistencia a deltametrina e cipermetrina
Dias et al, 2017	Semicampo	Testou espinosade - Larvas L3 - Usou-se recipiente com 200L - Período de avaliação de 8 semanas	Mortalidade acima de 75% por até 7 semanas - produto é considerado eficaz

*Estudos realizados em condições abertas contudo semicontroladas