

**Avaliação do polimorfismo na enzima esterase em populações naturais de *Aedes aegypti* em Chapada de Guimarães, Mato Grosso**

**Evaluation of polymorphism in the esterase enzyme in natural populations of *Aedes aegypti* in Chapada de Guimarães, Mato Grosso**

DOI:10.34117/bjdv7n2-477

Recebimento dos originais: 10/01/2021

Aceitação para publicação: 23/02/2021

**Érica Oliveira de Lima**

Graduada em Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas  
Universidade do Estado de Mato Grosso

Endereço: Av. Santos Dumont, n. 164, Bairro DNER - CEP: 78211-260 – Cáceres - MT

**Fabiana A. Caldart Rodrigues**

Titulação: Doutora

Instituição: Universidade do Estado do Mato Grosso

Endereço: Av. Tancredo Neves, 1095 - Cavahada II - CEP: 78.200-000 – Cáceres - MT

**Cristina M. Butakka**

Titulação: Doutora

Instituição: Universidade de Cuiabá,

Endereço: Av. Beira Rio Sul, 3100 - Jardim Europa. CEP. 78065-900- Cuiabá – MT

**Rosina D. Miyazaki**

Titulação: Doutora

Instituição: Universidade Federal do Mato Grosso

Endereço: Av. Fernando Correa da Costa, 2.367 – Boa Esperança. CEP: 78060-900 - Cuiabá - MT

**Lenicy L. de Miranda Cerqueira**

Titulação: Doutora

Instituição: Universidade Federal do Mato Grosso

Endereço: Av. Fernando Correa da Costa, 2.367 – Boa Esperança. CEP: 78060-900 - Cuiabá - MT

**Sandra Mariotto**

Titulação: Doutora

Instituição: Instituto Federal do Mato Grosso

Endereço: Av. Ver. Juliano da Costa Marques, s/nº - Bela Vista. CEP: 78050-560 - Cuiabá, MT

## RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é originário da África, constituindo populações selvagens e domésticas. Ele é adaptado ao ambiente urbano, utilizando recipientes com acúmulo de água para colocar seus ovos. Seu controle é realizado por meio produtos químicos, biológicos e manejo ambiental, infelizmente essa classe de insetos possuem a capacidade de eliminar compostos nocivos do organismo por meio de enzimas como as esterases que conferem resistência ao mosquito. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o polimorfismo das esterases em populações naturais, assim como identificar uma região de atividade enzimática que apresenta variação de diversidade da enzima nesta população. Para o desenvolvimento do trabalho, foram utilizadas armadilhas do tipo ovitrampa para obtenção das amostras, seguidos da utilização da eletroforese em gel de poli(acrilamida) para análise das enzimas esterases. A classificação das esterases foi feita de acordo com sua afinidade para  $\alpha$  naftil. Foram coletadas 111 amostras de *Aedes aegypti* em Chapada dos Guimarães - MT entre os meses de fevereiro a novembro de 2016 em três períodos estacionais (cheia, vazante e enchente), dentre as quais 39 amostras apresentaram alelos superexpressos e 72 apresentaram alelos expressos. Houve maior concentração de coleta nos períodos de cheia e enchente, visto que são épocas propícias para o desenvolvimento do mosquito, a fase estacional cheia se obteve maior superexpressão da enzima esterase. Identificou-se diferenças altamente significativas entre os períodos de amostragem ( $F_{4, 106} = 7.0904$ ;  $p = 0.0000$ ) (Figura 3) e as fases estacionais ( $F_{2, 108} = 14.018$ ;  $p = 0.0000$ ), demonstrando uma tendência da população a se tornar resistente. Portanto pode-se concluir que há polimorfismo nesta população, apontando que há fatores externos interferindo na seleção destes organismos, fazendo com que os indivíduos apresentem a enzima esterase na sua forma superexpressa, o que é preocupante, pois torna seu controle mais difícil, em vista que a esterase proporciona a detoxificação do organismo, tornando-o resistente a substâncias químicas como os inseticidas usados em seu controle.

**Palavras-chave:** Mosquito, Controle, Fases Estacionais e Resistência metabólica.

## ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito originates from Africa, constituting both wild and domestic populations. It is adapted to the urban environment, using containers with water accumulation to lay their eggs. Its control is done by means of chemical and biological products and environmental management. Unfortunately, this class of insects has the ability to eliminate harmful compounds from the body through enzymes such as esterases that confer resistance to the mosquito. This work aimed to evaluate the polymorphism of esterases in natural populations, as well as to identify a region of enzyme activity that presents a variation of enzyme diversity in this population. To develop this work, we used ovitrap-type traps to obtain samples, followed by the use of polyacrylamide gel electrophoresis to analyze the esterase enzymes. The classification of the esterases was made according to their affinity for  $\alpha$ -naphthyl. A total of 111 samples of *Aedes aegypti* were collected in Chapada dos Guimarães - MT between the months of February and November 2016 in three seasonal periods (flood, ebb and flood), among which 39 samples showed overexpressed alleles and 72 showed expressed alleles. There was a higher concentration of collection in the flood and flood periods, since these are propitious times for the development of the mosquito, the full season phase obtained greater overexpression of the esterase enzyme. Highly significant differences were identified between the sampling periods ( $F_{4, 106} = 7.0904$ ;  $p = 0.0000$ ) (Figure 3) and the

seasonal phases ( $F_2$ ,  $108 = 14.018$ ;  $p = 0.0000$ ), demonstrating a tendency of the population to become resistant. Therefore, it can be concluded that there is polymorphism in this population, indicating that there are external factors interfering in the selection of these organisms, causing the individuals to present the enzyme esterase in its overexpressed form, which is worrisome because it makes their control more difficult, considering that esterase provides the detoxification of the organism, making it resistant to chemicals such as insecticides used in its control.

**Keywords:** Mosquito, Control, Seasonal Phases and Metabolic Resistance.

## 1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é um mosquito originário da África tendo populações selvagens e domésticas, sua dispersão ocorreu por meio do homem em sua permanente migração. (BRAGA; VALLE, 2007). A ecologia desta espécie auxilia na sua extensa dispersão, beneficiada em ambientes urbanos, preferencialmente no intra e no peridomicílio humano, pois existem criadouros que favorece a rápida proliferação da espécie, devido a dois fatos; condições perfeitas para reprodução e alimentos disponíveis. (ZARA et al., 2016). O ciclo de vida dos mosquitos passa por dois meios separados, os adultos no meio aéreo e todas as formas imaturas em água, assim suas fases são definidas como aérea e aquática (ALMEIDA, 2011).

O controle do *Aedes aegypti*, mosquito vetor de diversas doenças como febre amarela, dengue, Zika e Chikungunya é hoje um dos principais problemas de saúde pública, em muitas regiões do mundo, incluindo o Brasil. Em nosso país, como documentado por Carvalho et al. (2004), estas arboviroses são responsáveis por elevados índices de morbidade e mortalidade, cuja problemática é algo discutido como uma necessidade organizacional e estrutural de programas que visam uma gestão integrada. (COELHO, 2008; GUIRADO; ELLY; CAMPOS, 2009).

Há muito tempo o Brasil desenvolve ações de combate ao *Aedes aegypti*, tendo conseguido alcançar sua erradicação em 1958. No entanto, houve sua reintrodução em 1976, onde não se conseguiu eliminá-lo novamente, e após dez anos, a estratégia de erradicação foi substituída pelo controle. (TEIXEIRA; BARRETO, 1996).

A complexidade no controle vem de diversos fatores, como a urbanização em grande escala com o aumento populacional, onde só no Brasil, 81% das pessoas residem em áreas urbanas, sendo que a estrutura dessas áreas muitas vezes é inadequada, a crescente globalização com intenso fluxo de pessoas, as mudanças climáticas que influenciam diretamente na duração e regimes de chuvas, são fatores relacionados com o

padrão sazonal da dengue. Esta apresenta maior ocorrência de casos no início do ano período mais quente e úmido, característico de climas tropicais e ainda a rápida adaptabilidade do mosquito contribuem para a difícil monitoração. (COELHO, 2008; KRAEMER et al., 2015). Cujo controle tem constituído um importante desafio, especialmente nos países em desenvolvimento. (ZARA et al., 2016).

As estratégias de combate são baseadas na utilização de produtos químicos e biológicos, integrados com programas de manejo ambiental. (LUNA et al., 2004). Zara et al. (2016) em sua revisão bibliográfica por meio da contribuição de diversos autores chegaram à conclusão para que a vigilância do vetor seja eficiente deve-se integrar diversas estratégias, com uso de tecnologias atuais, levando-se em conta as características socioambientais e socioeconômicas de cada região bem como a integração da sociedade mediante estratégias de comunicação.

Para que não ocorra a transmissão da doença, a fiscalização vetorial deve ser eficaz. A ferramenta comumente utilizada é a aplicação dos inseticidas, um método poderoso. (DAS; DUTTA, 2014). Lamentavelmente estes invertebrados desenvolvem resistência a todas as classes de inseticidas disponíveis, podendo levar ao fracasso o controle populacional (PAIVA, 2006).

O extenso uso desses produtos para controle de pragas relacionadas com cultura de todo o mundo levou a um aumento global de populações resistentes a inseticidas, gerando sérios problemas à maioria dos programas de controle de artrópodes em geral. (MONTELLA; SCHAMA; VALLE, 2012). Uma vez estabelecida populações resistentes, o ressurgimento de doenças transmitidas por vetores que presumidamente estão sob controle é muitas vezes inevitável, e quando essa resistência é detectada, frequentemente é muito tarde. (NAUEN, 2007).

A resistência é definida como a habilidade que uma população de insetos tem de tolerar uma dose de inseticida, que em condições normais, causaria sua morte. A resistência é uma característica genética, um processo de evolução acelerada de uma população que responde a uma intensa pressão seletiva, que como consequência indivíduos que possuem alelos que conferem resistência prevalecem. (BRAGA; VALLE, 2007).

A habilidade de adaptação de um organismo depende da sua variabilidade genética. O estudo da estrutura genética da população é essencial para o entendimento da dinâmica das populações do *Aedes aegypti* e para a análise de fatores responsáveis pela resistência e adaptação ecológica. Essas adaptações muitas vezes são provenientes de

mutações em genes, podendo mudar características fisiológicas e comportamentais do inseto. Estes fatores são determinantes de uma variabilidade dentro de populações, o que pode aumentar a capacidade de eliminar compostos do seu organismo tornando seu controle ineficaz. (HIRAGI et al. 2009; ARAÚJO, 2013).

Os insetos desenvolvem resistência a agentes nocivos por meio de diversas vias, as mais estudadas são as de resistência ao sítio alvo e a metabólica. Nestes dois casos as enzimas são de importância fundamental, pois são responsáveis pela desintoxicação do organismo. A família das esterases compreende enzimas séricas que fazem hidrólise de alguns substratos, entre eles ésteres e carboxilados, sendo que elas podem fazer rápida ligação ou mesmo lenta com os compostos sequestrando-os. (PLAPP, 1976; BROGDON; MCALLISTER, 1998; RODRIGUES, 2006; PAIVA, 2006; GUIRADO, 2008; SOUZA, 2013; ARAÚJO, 2013).

As esterases fazem parte de uma grande família de enzimas que podem ser diferenciadas com base em sua mobilidade eletroforética, frequentemente para a identificação de atividade elevada de esterase total ou específicas. Essas enzimas são testadas por meio de agentes cromogênicos, sendo que as esterases são classificadas com base na sua preferência pelos substratos alfa e beta acetato naftil. (SODERLUND, 1997).

A resistência dos insetos implica frequentemente na presença de esterases que por meio da amplificação de genes, regulação, mutação de codificadores ou uma combinação desses mecanismos confere essa resistência. (LI; SCHULER; BERENBAUM, 2007). Uma vez que a expressão enzimática reflete a atividade dos genes, o polimorfismo ou a variabilidade nestes padrões isoenzimáticos permite identificar e caracterizar a variabilidade genômica em populações de mosquitos. (GIGLIOLLI; LUCENA; LAPENTA, 2011).

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o polimorfismo da enzima esterase em populações naturais de *Aedes aegypti* em Chapada de Guimarães, Mato Grosso, assim como identificar uma região de atividade enzimática que apresente variação da diversidade da enzima nesta população.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

As coletas foram realizadas na cidade de Chapada dos Guimarães no Estado de Mato Grosso entre os meses de fevereiro a novembro de 2016, abrangendo as fases estacionais cheia, vazante e enchente. As amostras de naturais de *Aedes aegypti* foram obtidos por meio de armadilhas do tipo ovitrampa. (FAY; ELIASON, 1966).

As ovitrampas foram instaladas mensalmente, para coleta de ovos de *Aedes aegypti*. Em cada ponto, foram instaladas três armadilhas dispostas a 1,5 m de altura nos locais onde havia grande circulação de pessoas. Após cinco dias, as armadilhas foram recolhidas.

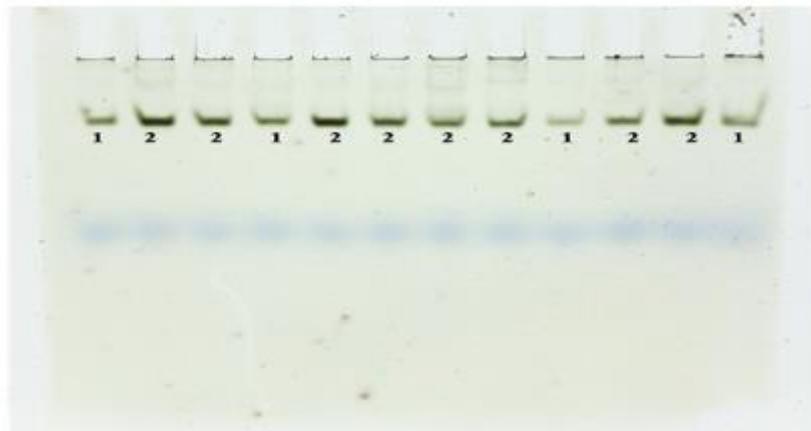
O material biológico foi encaminhado ao Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), para posterior análise como contagem e manutenção dos ovos. Após a eclosão espontânea dos ovos, as larvas foram alimentadas com ração extrusada flutuante (0.01g por dia), até a emergência dos adultos que foram congelados.

O padrão da expressão da  $\alpha$ -esterase nas amostras de cada população de *Aedes aegypti* foi verificado por meio de Eletroforese vertical em gel de poliacrilamida. As amostras foram armazenadas em micro tubo de polipropileno e acondicionadas em freezer antes de cada procedimento.

As análises seguem o protocolo para testes de esterase descrito por Paiva (2006) e Paiva et al. (2016). Para a realização do estudo foi utilizada a eletroforese em gel de poliacrilamida a fim de investigar a expressão da esterase nas amostras biológicas. Primeiramente os mosquitos foram macerados no tampão de amostra azul de bromofenol e glicerol. Posteriormente, foram aplicados nos poços dos géis de tamanho 10x10cm. Estes géis foram produzidos por meio da mistura de 6,3 ml de água destilada, 3,8 ml de solução tampão Tris HCL, 5 ml de Bis-Acrilamida, 200  $\mu$ l de APS 10% (persulfato) e 20  $\mu$ l de TEMED. A corrida em eletroforese vertical foi realizada em Tampão Tris-Glicerina 0.1M, pH 8.3, refrigerada por três horas, a 200V.

A classificação das esterases foi feita de acordo com sua afinidade para alfa naftil. Para verificar a expressão da enzima esterase, as amostras foram coradas com alfa naftil acetato e RR-Salt, diluídos em acetona e tampão fosfato, posteriormente postas em uma estufa com cerca de 37°C, com ausência de luz por uma hora. Ao término deste período foram então analisadas a expressão das bandas da esterase. Para identificação e análise das bandas, foram consideradas normais –bandas fracas (1) e superexpressa-bandas escuras (2). (Figura 1).

Figura 1- Gel de poliacrilamida de mosquitos *Aedes aegypti* corado com RR-Salt e Alfa esterase. Identificação das bandas da enzima esterase por meio da intensidade da banda (mês e ano) bandas fracas (1) e superexpressa-bandas escuras (2).



Os resultados dos valores médios dos alelos expressos e de sua frequência foram analisados pelo Programa Statistic 7.0 por meio de uma ANOVA (Análise de Variância), e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os valores médios de Frequência de ocorrência foram formatados no Programa Excel.

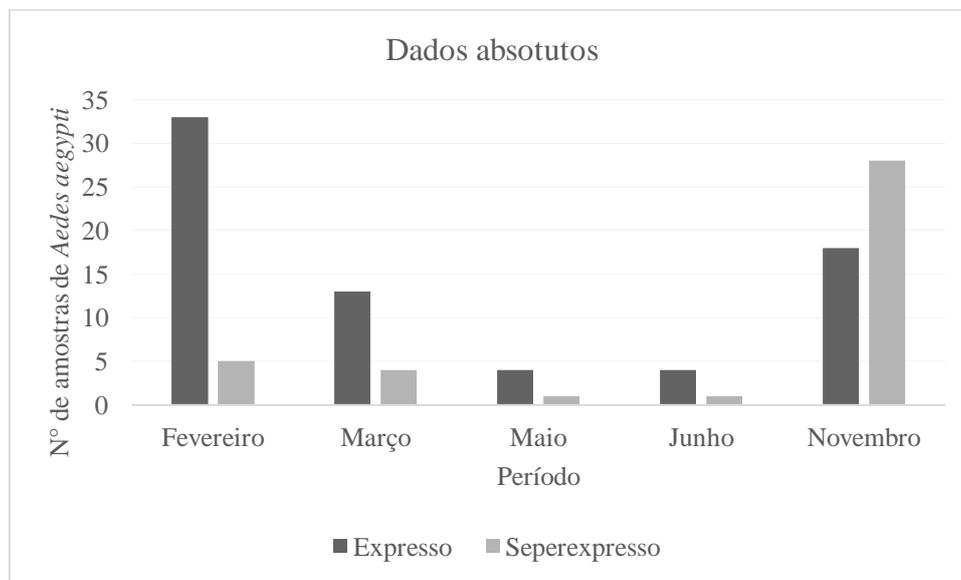
Os dados referentes à temperatura do ar (máxima, mínima) e umidade relativa do ar (média compensada) foram fornecidos pela Estação de São Vicente de Chapada dos Guimarães, e foram analisados por meio da ANOVA fatorial.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 111 amostras do mosquito *Aedes aegypti* no período de fevereiro a novembro de 2016, dentre as quais 72 amostras destas apresentaram alelos expressos, e 39 amostras apresentaram alelos superexpressos.

Observou-se que nos períodos de cheia e enchente obteve-se maior número de coletas, devido a ser a época mais propícia para o desenvolvimento e procriação do mosquito. Já na vazante pode-se ver um número relativamente baixo de coletas, justamente por não ser a época propícia para estes indivíduos já que há pouco acúmulo de água. (Figura 2).

Figura 2- Valores absolutos das amostras de *Aedes aegypti* em relação a expressão da enzima esterase no decorrer dos meses coletados.



Isto é um indicativo da influência das chuvas na proliferação do mosquito, Miyazaki et al. (2009) apontou em seus estudos que as chuvas foram o fator abiótico que apresentou influência no nível de infestação do vetor da dengue e outras doenças.

Tanto a densidade, como disponibilidade de criadouros, condicionados pelo regime de períodos de chuva e seca influenciam na dispersão da espécie. (OLIVEIRA, 2015). Já estudos realizados no México trazem um panorama diferente, abordando que as alterações climáticas, como o aumento na temperatura principalmente na estação fria e seca influenciam na incidência do vetor, conseqüentemente nos casos de dengue. Porém, a precipitação não tem influência direta nestes casos, sugerindo que se houver ambientes adequados para a oviposição os mosquitos se reproduziram durante todo o ano e isto está relacionado com aspectos socioculturais e biológicas de cada local. (GONZÁLEZ; LAKE; BENTHAM, 2011; ASTRÖM, 2013).

Esses fatores como a temperatura e precipitação podem ter influência direta na proliferação e densidade populacional do mosquito *Aedes aegypti*, o que leva a uma variação sazonal. (OLIVEIRA, 2015).

Para a análise da enzima esterase foram utilizados os mosquitos adultos inteiros, pois segundo Guirado (2008), o mosquito apresenta a enzima esterase em diversas partes e órgãos do corpo, e que suas funções em cada parte são iguais às da enzima do sistema nervoso, digestório e excreção.

Os alelos superexpressos representam 35,12% do total de amostras analisadas, em que se percebeu um aumento significativo no mês de novembro/2016. Da mesma forma, um fator que representou maior superexpressão da enzima foi à fase estacional de enchente, que representa 25,22% destes alelos. Houve também uma tendência de redução dos “alelos de resistência” no período de vazante.

A análise de Variância (ANOVA), identificou diferenças altamente significativas entre os períodos de amostragem ( $F_{4, 106} = 7.0904$ ;  $p = 0.0000$ ) (Figura 3) e as fases estacionais ( $F_{2, 108} = 14.018$ ;  $p = 0.0000$ ) (Figura 4).

Figura 3- Valores médios de Expressão da enzima esterase entre os períodos de amostragem no município de Chapada dos Guimarães.

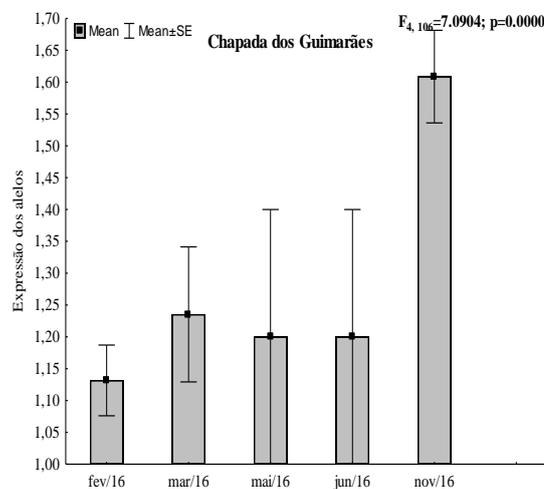
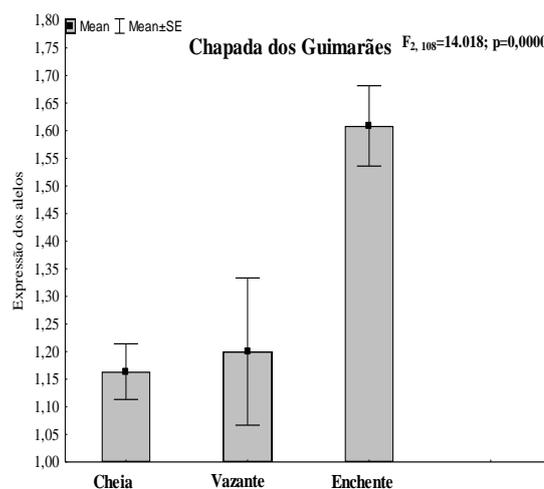


Figura 4- Valores médios de Expressão da enzima esterase entre as três fases estacionais no município de Chapada dos Guimarães.



Estudos realizados nos Municípios de Cuiabá e Várzea Grande identificaram diferenças significativas entre as duas cidades ( $F_{2, 13} = 12.39$ ;  $p < 0,01$ ), a

superexpressão reduziu nos dois locais, porém teve uma leve tendência de aumento em Cuiabá. As pesquisas apontam para o registro e o aumento a variabilidade das esterases, demonstrando que as populações estão metabolicamente ativas em relação aos mecanismos utilizados. A fases estacionais também obtiveram valores significativos ( $F_{3, 381} = 14.74$ ;  $p < 0.01$ ) (BUTAKKA et al., 2019).

Do Estado de São Paulo foram analisadas 11 populações, dessas quatro apresentaram alta frequência de alfa esterase. (GUIRADO, 2008). Outras regiões do mundo já apresentaram o fenômeno de resistência do *Aedes aegypti*, sendo eles Cuba, Caribe, Venezuela e Ilhas Virgens. No Brasil, populações que apresentam padrões de resistência identificados por meio da análise da enzima esterase e de ensaios com inseticidas já foram detectadas em São Paulo, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Rio de Janeiro, Sergipe e Alagoas. (LIMA et al. 2006).

A resistência do mosquito *Aedes aegypti* é resultado de mecanismos metabólicos, que por meio da superexpressão de enzimas de detoxificação do organismo como a esterase, confere ao indivíduo sua maior resistência. Um dos principais problemas no controle do mosquito está associado a inseticidas químicos e seu uso exclusivo, por períodos prolongados, que pode selecionar indivíduos resistentes. Estudos nas cidades de Recife e Jaboatão dos Guararapes apontaram que o *Aedes aegypti* já é resistente ao inseticida temephós, conforme os relatórios divulgados pelo Ministério da Saúde/Fundação Nacional da Saúde nos anos de 2000 e 2002 (PAIVA, 2006; BRAGA; VALLE., 2007; ARAÚJO, 2013).

As enzimas esterases conferem aos mosquitos o status de populações resistente, quando em pesquisas estes são submetidos a ensaios bioquímicos por meio da aplicação in situ de produtos nocivos aos mosquitos como os inseticidas. Após a aplicação é averiguado a mortalidade dos indivíduos e feito as análises enzimáticas e moleculares. No caso das enzimas esterásicas é analisado a variação dentro dessas enzimas entre alfa e beta, a frequência dessas bandas e a intensidade delas. Quanto mais variável e intensa é a presença dessas enzimas na população, mas ela é considera resistente, pois essas são as enzimas responsáveis pela detoxificação do organismo dos mosquitos que age por meio de oxidação, redução e hidrólise de compostos nocivos, como resultado produtos menos tóxicos que podem ser capturados e excretados pelo organismo inviabilizando esses compostos de agirem nos seus locais de ação, como o sistema nervoso dos mosquitos. (CARVALHO et al. 2004; PAIVA, 2006; GUIRADO, 2008; ARAÚJO, 2013).

O estudo dessa enzima e os fatores que influenciam sua expressão se faz necessário devido às importantes funções metabólicas que elas desempenham, tais como, processos digestivos e mecanismos bioquímicos que conferem resistência a esses insetos. (GIGLIOLLI; LUCENA; LAPENTA, 2011). Estudo a longo prazo são de suma importância para a verificação de alterações nesses mecanismos, Guirado (2008) em seu trabalho demonstrou que houve diferenciação entre a expressão das bandas de esterase no decorrer de intervalos de 5 e 7 anos, sugerindo que estas alterações são uma resposta a pressão ambiental.

#### 4 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos, conclui-se que apesar de ainda se ter uma parcela substancial de alelos expressos normais, há comprovação de polimorfismo da enzima esterase nas populações naturais de *Aedes aegypti* de Chapada de Guimarães, pois através das amostras analisadas pode-se identificar alelos superexpressos, isso demonstra que nesta população há insetos com potencial resistência metabólica, o que confere assim a população uma variabilidade genética, também pode-se notar como as fases estacionais interferem diretamente na constituição da população destes organismos, observando que no período de enchente a variabilidade genética de organismos com superexpressão da enzima esterase aumenta significativamente

Portanto há fatores ambientais externos interferindo na seleção destes organismos, fazendo com que a enzima esterase se torne superexpressa nesta população, o que é preocupante, pois torna o controle do vetor difícil, em vista que a esterase proporciona a detoxificação do organismo, tornando-o resistente a substâncias químicas como os inseticidas usados em seu combate.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P. G. Os Mosquitos (Diptera, Culicidae) e a Sua Importância Médica em Portugal: Desafios para o Século XXI. **Acta Médica Portuguesa**, v. 24, n. 6, p. 961–974, 2011.

ARAÚJO, A. P. **Análise da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), de Municípios do Estado de Pernambuco**. 120 p. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2013.

ÅSTRÖM, C. et al. Potential distribution of dengue fever under scenarios of climate change and economic development. **EcoHealth**, v. 9, n. 4, p. 448–454, 2013.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007.

BUTAKKA, C. M. *et al.* Investigation of isoenzyme  $\alpha$ -esterase in *Aedes aegypti* from two municipalities of Mato Grosso. **Mundo da Saude**, v. 43, n. 4, p. 976–995, 2019.

BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging Infectious Diseases**. Vol. 4, No. 4, October/December, 1998.

CARVALHO, L. M. DO S. *et al.* Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide temephos in the Federal District, Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 38, n. 5, p. 623–629, 2004.

COELHO, G. E. Dengue: desafios atuais. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 17, n. 3, p. 231–233, 2008.

DAS, M.; DUTTA, P. Status of insecticide resistance and detoxifying enzyme activity of *Aedes albopictus* population in Sonitpur district of Assam, India. **International Journal of Mosquito Research**, v. 1, n. 4, p. 35–41, 2014.

FAY, R. W.; ELIASON D. A. A preferred oviposition site as surveillance method for *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, v.26, p. 531-535, 1966.

GIGLIOLLI, A. A. S.; LUCENA, A. L. M.; LAPENTA, A. S. Identificação e Caracterização das Esterases em *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Saúde e Biologia**, v.6, n.1, p.25-35, jan. /abr. 2011.

GONZÁLEZ, F. J. C.; LAKE, I. R. BENTHAM, I. R. L. G. Climate variability and dengue fever in warm and humid Mexico. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 5, p. 757–763, 2011.

GUIRADO, M. M. **Caracterização dos padrões de esterase do mosquito *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), resistentes e suscetíveis a inseticidas utilizados no seu controle**. p. 72. Tese (Doutorado em Genética). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Universidade Estadual Paulista, 2008.

GUIRADO, M. M.; ELLY, H.; CAMPOS, M. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas**, v. 6, n. 64, p. 5–14, 2009.

HIRAGI, C. *et al.* Variabilidade Genética em Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Utilizando Marcadores de RAPD. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 542-547, julh. /agos. 2009.

KRAEMER, M. U. G. *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. **eLife**, v. 4, n. JUNE2015, p. 1–18, 2015.

LI, X. SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Molecular Mechanisms of Metabolic Resistance to Synthetic and Natural Xenobiotics. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 231–253, 2007.

LIMA, E. P. *et al.* Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 259-263, mai-jun. 2006.

LUNA, J. E. D. *et al.* Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides, Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 38, n. 6, p. 842–843, 2004.

MIYAZAKI, R. D. *et al.* Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 392–397, 2009.

MONTELLA, I. R.; SCHAMA, R.; VALLE, D. The classification of esterases: An important gene family involved in insecticide resistance - A review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 4, p. 437–449, 2012.

NAUEN, R. Perspective Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. **Pest Management Science**, v. 63, p. 628–633, 2007.

OLIVEIRA, R. L. Dengue: teorias e práticas. In: VALLE, D., PIMENTA, D.N., CUNHA, R.V. (Orgs). **Editora FIOCRUZ**. Rio de Janeiro, 2015. cap. 3, p. 75-92.

PLAPP, F. W. Biochemical genetics of insecticide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* 1976.  
PAIVA, M. H. S. **Monitoramento do gene, que codifica a esterase, envolvido na resistência a inseticidas organofosforados em populações naturais de *Aedes aegypti* do Brasil**. 72 p. Tese (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006.

PAIVA, M. H. S., LOVIN D. D, MORI, A. SANTOS, M. A V, SEVERSON D. W., AYRES C. F.J. Identification of a major Quantitative Trait Locus determining resistance to the organophosphate temophos in the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. **Genomics. Bethesda**, 2016; 107: 40-48.

RODRIGUES, F. C. **Ecogenotoxicologia dos agrotóxicos**: avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e área de proteção ambiental. p. 97. Tese (Doutorado em genética). Departamento de genética e patologia – UnB. Brasília, 2006.

SODERLUND, D. M. Molecular Mechanisms, of Insecticide Resistance. **Chemistry of Plant Protection**, Vol. 13, 1997.

SOUZA, M. W. B. **Mecanismos de resistência toxicológica em populações de *Cimex lectularius***: uma revisão bibliográfica. p. Monografia (Especialização em Entomologia Urbana). Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2013.

TEIXEIRA, M. DA G.; BARRETO, M. L. Erradicar o *Aedes aegypti*. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 1, n. 1, p. 122–136, 1996.

ZARA, A. L. DE S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e serviços de saúde**: revista do Sistema Unico de Saude do Brasil. v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.