

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira

AVALIAÇÃO DO PROGRAMA DE CONTROLE DO CULICÍDEO VETOR (*Aedes aegypti*
Linnaeus, 1762) NO MUNICÍPIO DE MACAÉ

Alessandra da Silva de Alvarenga

2017

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira

AVALIAÇÃO DO PROGRAMA DE CONTROLE DO CULICÍDEO VETOR (*Aedes aegypti*
Linnaeus, 1762) NO MUNICÍPIO DE MACAÉ

Alessandra da Silva de Alvarenga

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Natália Martins Feitosa

Macaé
Abril, 2017

AVALIAÇÃO DO PROGRAMA DE CONTROLE DO CULICIDEO VETOR (*Aedes aegypti*
Linnaeus, 1762) NO MUNICÍPIO DE MACAÉ

Alessandra da Silva de Alvarenga

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Natália Martins Feitosa

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Aprovada por:

Presidente, Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca (UFRJ-Macaé).

Titular Externo, Dr. Márcio José de Medeiros (UFRJ–Macaé).

Suplente Externo, Dr. Eldo Campos (UFRJ-Macaé).

Titular Interno, Dr. José Roberto da Silva (UFRJ-Macaé).

Suplente Interno, Dr. Francisco de Assis Esteves (UFRJ-Macaé).

Suplente Interno, Dr. Carlos Jorge Logullo de Oliveira (UFRJ-Macaé).

Macaé
Abril, 2017

Dedico esta dissertação ao meu pai Jamil, por ser meu exemplo de honestidade e minha mãe Vanda, meu exemplo de bondade.

Agradecimentos

A minha família. Ao meu pai por ser sempre esse homem forte, correto e ter conseguido com toda dificuldade, tendo apenas a primeira série, ter conseguido formar sua filha numa faculdade pública. A minha mãe, a melhor mãe do mundo, que trabalhou muito dando faxinas e me ensinou algo muito importante: Que o necessário basta para viver. Além da frase “Quando tiver, serve?”. Quase nunca tinha o que eu desejava, mas tinha sempre o que puderam me dar. Muito obrigada por tudo. Ao meu irmão Léo, por todo apoio de sempre. Amo vocês.

A vovó Maria (*in memoriam*) que sempre me defendeu. Por me fazer sorrir sempre que eu chegava à noite em casa cansada após as aulas ou trabalho de campo, me perguntando se já tinha molhado as plantinhas (para ela trabalho de biólogo era molhar plantas), eu sempre respondia que sim que já tinha molhado. Eu te amo eternamente e sei que a senhora estará sempre comigo.

Ao Logan. O ser mais incrível do mundo que no pior momento da minha vida veio me mostrar o que é amor incondicional. Ensinou-me tantas coisas, dentre elas: que ninguém é obrigado a nada; nem todas as pessoas são confiáveis; passear é maravilhoso.

As minhas amigas. Rai, minha amiga e psicóloga gata por todos os papos cabeças nos intervalos do serviço, por sempre saber o que me dizer nos momentos difíceis. Gabizinha, a Agente de Endemias mais gata, amável e gentil do CCZ por todo apoio e ajuda com meu projeto de mestrado.

Aos meus amigos do LICM. Tato, meu irmão adquirido no mestrado, que sempre me ajudou e deu forças ao longo desses dois anos da pós. A Rê e Léo, pessoas maravilhosas das quais pude sempre contar para suprir minhas tarefas do laboratório, quando não conseguia realiza-las, e também por identificarem quando precisava de café ou até mesmo de uma praia. Ao meu amigo colombiano Giovanni “Apaga”, por ter um dia me ensinado jogar sinuca, pela amizade e também por identificar quando precisava de uma taça de vinho ou até mesmo uma garrafa de rum.

Ao meu orientador Rodrigo que acreditou em mim para desenvolver um projeto diferente dos demais realizados no laboratório. Por toda paciência que teve comigo e todo aprendizado adquirido. Você certamente é a pessoa mais positiva e otimista que conheço. Aprendi a ser mais confiante contigo. Obrigada.

À professora Natália por me ensinar a gostar de pesquisar outro organismo não artrópoda, como o peixe zebra. São ótimos modelos de pesquisa.

Ao professor Jackson por sempre ser crítico e sincero mostrando quando algo não está bom e precisa ser melhorado. Pelas conversas, apoio e incentivos em momentos difíceis.

A todos os colegas do LICM: Vick, Luan, Lupis, Gabriel, bioterista Josué.

À técnica Paulinha por toda ajuda, preocupação e paciência em me ensinar calcular concentrações. Por sempre sorrir, mesmo quando dá esporros. Por ser essa pessoa linda que sempre ajuda os alunos desesperados.

Ao Centro de Controle de Zoonoses e seus funcionários: Ramon, Fernando, Flávio, Carlinhos e em especial à Marcial e PC por toda ajuda e amizade.

Aos meus queridos desbravadores de campo, Carijó e João Marcelo, por terem me ajudado nas coletas dentro da Lagoa de Imboassica e ensinado como é importante à troca de conhecimentos.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais e Conservação da UFRJ campus Macaé.

A todos os professores e funcionários do NUPEM/UFRJ, esse núcleo de pesquisa e ensino que se tornou minha segunda casa e onde foi o local que realizei meus maiores sonhos, graduação e mestrado. Agradeço em especial os professores: Petri, Zé, Beto, Tati, Lísia, Ruta, Alexandre Azevedo, Rodrigo Lemes por me ensinarem e mostrarem o quão diverso é esse universo acadêmico. E aos funcionários: Sr. Paulo e Vitor Valente pelos bons e longos papos e Marla por sempre me socorrer e salvar do SIGA.

Ao meu querido Abel, grande professor que despertou em mim a vontade e a paixão do estudo com artrópodes.

Aos órgãos financiadores: CAPES, FAPERJ, FUNEMAC.

À Prefeitura Municipal de Macaé pelo apoio.

Agradeço a todos que sempre me apoiaram, demandaram boas energias e acreditaram que tudo isso fosse possível.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda
pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”
(Arthur Schopenhauer)

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

d473a da Silva de Alvarenga, Alessandra
AVALIAÇÃO DO PROGRAMA DE CONTROLE DO CULICÍDEO
VETOR (*Aedes aegypti* Linnaeus, 1762) NO MUNICÍPIO
DE MACAÉ / Alessandra da Silva de Alvarenga. -- Rio
de Janeiro, 2017.
102 f.

Orientador: Rodrigo Nunes da Fonseca.
Coorientadora: Natália Martins Feitosa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Campus Macaé, Programa de Pós
Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, 2017.

1. *Aedes aegypti*. 2. IGRs. 3. Diflubenzuron. 4.
Pyriproxyfen . 5. *Danio rerio*. I. Nunes da Fonseca,
Rodrigo, orient. II. Martins Feitosa, Natália,
coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RESUMO

AValiação DO PROGRAMA DE CONTROLE DO CULICIDEO VETOR (*Aedes aegypti* Linnaeus, 1762) NO MUNICIPIO DE MACAÉ

Alessandra da Silva de Alvarenga

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Natália Martins Feitosa

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

O desenvolvimento econômico da Região Norte Fluminense sempre esteve atrelado à inconsequente ação humana e desta forma o município de Macaé tem sofrido sérios impactos ambientais e sociais. Tais práticas não consideraram possíveis consequências que poderiam acarretar à saúde pública e ao meio ambiente, como o aumento de arboviroses. Com isso, tem-se como objetivo estudar os fatores que contribuem para prevalência de culicídeos nos bairros Lagomar e Praia do Pecado em Macaé. Para verificar a ocorrência e densidade de culicídeos foram coletados ovos de mosquitos, com auxílio de armadilhas (ovitrapas), nas estações de seca e chuva. Foram realizados bioensaios com os larvicidas, diflubenzuron e pyriproxyfen, a fim de avaliar a eficácia destes produtos sobre *Aedes aegypti* de campo e da linhagem Rockefeller. Testes toxicológicos utilizando diflubenzuron sobre embriões de peixe-zebra foram realizados para analisar os efeitos causados pelo larvicida em organismos não-alvos. Os resultados das coletas mostraram um total amostral de 2.149 ovos, sendo coletados 1.537 ovos no Lagomar e 612 ovos no bairro Praia do Pecado. Os culicídeos encontrados nas ovitrapas pertencem às espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Os bioensaios com *Ae. aegypti* mostraram que ambos os larvicidas são eficientes, porém foi visto que alguns indivíduos de campo demoraram mais para morrer que a cepa padrão de laboratório. Os testes com o peixe-zebra mostraram que diflubenzuron pode causar sérios danos no desenvolvimento deste vertebrado. Em conclusão, nossos resultados indicam a necessidade do uso consciente dos larvicidas e do estabelecimento de um programa integrado de avaliação da distribuição do vetor *Ae. aegypti* em Macaé.

Palavras-chave: 1. *Aedes aegypti*. 2. IGRs. 3. Diflubenzuron. 4. Pyriproxyfen. 5. *Danio rerio*.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE *Aedes Aegypti* (*Aedes aegypti* Linnaeus, 1762) VECTOR CONTROL PROGRAMME IN THE CITY OF MACAÉ

Alessandra da Silva de Alvarenga

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Natália Martins Feitosa

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Campus UFRJ-Macaé Professor Aloísio Teixeira, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

The economical development of the North Region of Rio de Janeiro State has always been associated with inconsequent human action and the city of Macaé has suffered serious environmental and social impacts. Such practices did not consider possible consequences that could lead to public health and the environmental problems such as the increase of arboviruses transmitted by vectors. The aim of this study is to study the factors that contribute to the prevalence of culicid mosquitoes in the Lagomar and Praia do Pecado neighborhoods in Macaé. To verify the occurrence and density of culicid species, mosquito eggs were collected, with the aid of ovitraps, in the dry and rainy seasons. Bioassays were performed with larvicides, diflubenzuron and pyriproxyfen, in order to evaluate the efficacy of these products on a field population of *Aedes aegypti* and Rockefeller. Toxicological tests using diflubenzuron on zebrafish embryos were carried out in order to analyze the effects caused by larvicide on non-target organisms. The results of the samples showed a total sample of 2,149 eggs, with 1,537 eggs collected in the Lagomar and 612 eggs in the Praia do Pecado neighborhood. Culicid found in ovitraps belong to *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. The bioassays on *Ae. aegypti* showed that both larvicides are efficient, however it was seen that some field individuals took longer to die. Tests with zebrafish have shown that diflubenzuron can cause serious damage to the development of this vertebrate. In conclusion, our results indicate the need for conscious use of larvicides and the establishment of an integrated program to evaluate the distribution of vector *Ae. aegypti* in Macaé.

Kew-words: *Aedes aegypti*. 2. IGRs. 3. Diflubenzuron. 4. Pyriproxyfen. 5. *Danio rerio*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xx
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Ações antrópicas e danos ambientais observados em Macaé	1
1.2 Doenças causadas por arbovírus.....	5
1.3 O vetor.....	9
1.4 Controle do vetor.....	15
1.5 Resistência.....	17
1.6 Organismos não-alvos.....	21
2. OBJETIVOS.....	24
2.1. Objetivo geral	24
2.2. Objetivos específicos	24
3. PERGUNTA 1	25
4. METODOLOGIA	26
4.1 Área Experimental	26
4.2 Coletas nos bairros (ovitrapas).....	27
4.3 Fatores Abióticos.....	29
4.4 Dados do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ).....	29
4.5 Coletas na Lagoa Imboassica	30
4.6 Identificação do material coletado.....	31
5. RESULTADOS.....	32
5.1 Coletas nos bairros (ovitrapas).....	32
5.2 Fatores Abióticos.....	41
5.3 Dados do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) – LIRAa	42
5.4 Coletas na Lagoa Imboassica	44
5.5 Identificação das espécies coletadas.....	44
6. PERGUNTA 2	49
7. METODOLOGIA	50
7.1 Bioensaios com os larvicidas diflubenzuron e pyriproxyfen sobre <i>Ae. aegypti</i>	50
7.2 Bioensaios com larvicida diflubenzuron sobre peixe-zebra (<i>D. rerio</i>).....	52
8. RESULTADOS.....	54
8.1 Bioensaios com os larvicidas diflubenzuron e pyriproxyfen sobre <i>Ae. aegypti</i>	54

8.2 Bioensaios utilizando diflubenzuron sobre o peixe-zebra (<i>D. rerio</i>)	57
9. DISCUSSÃO	59
9.1 Prevalência de culicídeos nos bairros	59
9.2 Eficácia dos larvicidas IGRs, diflubenzuron e pyriproxyfen, sobre <i>Ae. aegypti</i>	64
9.3 Efeito do diflubenzuron sobre o peixe-zebra (<i>D. rerio</i>).....	66
10. CONCLUSÕES	68
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE ABREVIATURAS

BER: Biotério de Experimentação com Roedores

Bti: *Bacillus thuringiensis var. israelensis*

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CCZ: Centro de Controle de Zoonoses

CHIKV: Vírus Chikungunya

CL50: Concentração Letal 50%

DENV: Vírus Dengue

DENV-1: Vírus da Dengue Sorotipo 1

DENV-2: Vírus da Dengue Sorotipo 2

DENV-3: Vírus da Dengue Sorotipo 3

DENV-4: Vírus da Dengue Sorotipo 4

DENV-5: Vírus da Dengue Sorotipo 5

FET: Fish Embryo Toxicity Test

HJ: Hormônio Juvenil

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IIP: Índices de Infestação Predial

IGRs: Insect Growth Regulators

INMET: Instituto Nacional de Meteorologia

LICM: Laboratório Integrado de Ciências Morfofuncionais

LIRAA: Levantamento de Índice Rápido para *Aedes aegypti*

NUPEM: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento Sócioambiental de Macaé

OMS: Organização Mundial da Saúde

PM: Pó Molhável

UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro

WHOPES: World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme

ZIKV: Vírus Zika

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A instalação da petrolífera brasileira (PETROBRAS) na cidade de Macaé na década de 70 influenciou muito para o crescimento econômico da região.

(A) Local onde hoje é o bairro Praia Campista antes da exploração de petróleo, década de 40-60, contendo poucas casas e nenhuma infraestrutura. (B) Praia Campista atualmente mostrando como a economia do petróleo favoreceu o desenvolvimento urbano. Imagem modificada a partir do Google Imagens. 2

Figura 2. Lagoa Imboassica (marcador vermelho) localizada entre os bairros Praia do Pecado (marcador amarelo) e ao Mirante da Lagoa (marcador azul). Imagem modificada a partir do Google earth. 3

Figura 3. Bairro Lagomar (marcador amarelo) localizado próximo ao Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (marcador vermelho) e do Complexo de Petróleo e gás (Terminal Cabiúnas) (marcador azul). Imagem modificada a partir do Google earth. 4

Figura 4. Mosquitos vetores de doenças pertencentes à família Culicidae e ao gênero Aedes. A) *Ae. aegypti* possui no escudo torácico escamas prateadas em formato de lira. B) *Ae. albopictus* possui em seu tórax escamas branco-prateadas que formam uma faixa longitudinal e central. 11

Figura 5. As fases do ciclo de vida dos mosquitos do gênero Aedes. As fêmeas depositam seus ovos próximos à água com aspecto limpo e contendo pouca matéria orgânica; estes quando em contato com a água levam alguns minutos para eclodir. As larvas possuem quatro estágios (L1, L2, L3 e L4) e permanecem nesta forma por aproximadamente quatro dias, dependem dos fatores abióticos e disponibilidade de alimento para seguirem para o próximo estágio. As pupas não se alimentam e antecedem a emergência da forma adulta do mosquito. Nesta foto tem-se um mosquito macho exemplificando o tamanho do adulto. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205..... 11

Figura 6. Ovos de culicídeos do gênero Aedes. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205 em aumento de 46.7x. 13

Figura 7. Divisão corpórea da larva de *Ae. aegypti*. Região anterior: cabeça e tórax; Região posterior: abdômen, lóbulo anal e sifão. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205..... 13

Figura 8. Cabeça de larva de um indivíduo do gênero Aedes. Vista ventral. Região do aparelho bucal destacando as escovas orais ricas em cerdas e compostas por centenas de filamentos (círculo tracejado branco); olhos compostos por ocelos (seta) e antena (cabeça de seta). Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205. 14

Figura 9. Pupa de um indivíduo do gênero Aedes com aspecto de vírgula destacando o cefalotórax, trompas respiratórias e abdômen. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205 em aumento de 19.8x..... 14

Figura 10. Resistência a inseticidas ocorre por um processo natural e não devido ao efeito de produtos químicos. À direita, dose indicada do fabricante de inseticidas controla população suscetível; à esquerda, por mais que aumente a dosagem do inseticida, os indivíduos naturalmente resistentes não morrem e acabam prevalecendo numa população susceptível. 18

Figura 11. Desenvolvimento embrionário de D. rerio desde a primeira célula até o período de 72 horas pós-fertilização. O desenvolvimento completo leva aproximadamente 96 horas. Adaptado de: Kimmel, Ballard et al. 1995..... 21

Figura 12. Estágio larval do peixe zebra com 96 horas de desenvolvimento pós-oviposição com descrição de suas principais características morfológicas. Adaptado de: Silva 2015. 22

Figura 13. Mapa indicando a localização dos bairros estudados, Lagomar e Praia do Pecado em azul, no município de Macaé em rosa. Imagem modificada a partir do Google earth. 26

Figura 14. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas no bairro Lagomar associados aos corpos hídricos. Os balões vermelhos, numerados de um a dez, indicam os pontos de coletas; e os apontadores em amarelo indicam os corpos hídricos do bairro: Canal Macaé – Campos; brejos; Lagoa dos Patos (local assim denominado pelos moradores) e um braço da Lagoa Cabiúnas. Imagem modificada a partir do Google earth. 27

Figura 15. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas no bairro Praia do Pecado associados aos corpos hídricos. Os balões vermelhos numerados de um a dez indicam os pontos de coletas e os apontadores em amarelo indicam os corpos hídricos do bairro: Lagoa Imboassica e braço da lagoa. Imagem modificada a partir do Google earth. 28

Figura 16. Armadilha para captura de ovos de mosquitos (ovitampa). Estes tipos de armadilhas são capazes de fornecerem dados úteis sobre a distribuição espacial e sazonal dos mosquitos numa determinada região..... 28

Figura 17. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas na Lagoa Imboassica. Os pontos das coletas estão associados às moitas de Tifas e Gigogas, plantas aquáticas, onde há pontos de recebimento de efluentes domésticos e ou industriais, balões vermelhos; e o ponto controle, balão azul, por estar mais afastado da área urbana e de emissões diretos de efluentes. Imagem modificada a partir do Google earth. 30

Figura 18. Quantidade de ovos coletados em cada bairro estudado. O Lagomar (barra preta) apresentou 1.537 ovos, enquanto Praia do Pecado (barra branca) 612 ovos. 32

Figura 19. Distribuição de ovos coletados nos períodos de seca (barra preta) e chuva (barra branca) no bairro Lagomar. O período de seca foi o que mais apresentou ovos, tendo 822 ovos; já o período de chuva teve 715 ovos. 33

Figura 20. Mapas indicando à localização do Lagomar, pontos das coletas, a dispersão e áreas com maior densidade de ovos no bairro (Mapas de Kernel). Os períodos de secas apresentaram valores entre baixo, médio e alto de aglomerações de ovos; já os períodos de chuvas apresentaram valores entre baixo e médio. A) Período de seca referente ao mês de julho/2015, com maior ocorrência de ovos em três pontos distantes, sendo no ponto 3 (próximo ao Canal Campos-Macaé) verificado uma alta densidade e o ponto 5 (local do terreno da UFRJ onde possui uma área de brejo) tendo uma média densidade de ovos. B) Período de chuva referente ao mês de março/2016, com grande dispersão de ovos ao longo do bairro, porém sem altas densidades. C) Período de seca, julho/2016, o ponto 6 (localizado próximo a praia) apresenta uma estimativa média de ovos. D) Período de chuva, outubro/2016, com baixa densidade de ovos..... 35

Figura 21. Distribuição de ovos coletados nos períodos de secas (barra preta) e chuvas (barra branca) no bairro Praia do Pecado. Neste bairro observa-se que a quantidade de ovos nos períodos de secas é inferior a 200, enquanto que nos períodos de chuvas é superior a 400 ovos..... 37

Figura 22. Mapas indicando à localização do bairro Praia do Pecado, pontos das coletas, a dispersão e áreas com maior densidade de ovos (Mapas de Kernel). A) Período de seca, mês de julho/2015, com alta densidade de ovos no ponto 3 (ponto

localizado dentro de uma obra de prédio). B) Período de chuva referente ao mês de março/2016, tendo alta densidade nos pontos 1 e 3, com grande dispersão de ovos no bairro. C) Período de chuva, outubro/2016, pontos com densidade de ovos entre baixa e média. Em julho/2016, período de seca, não foi registrado a presença de ovos nas ovitrampas. 38

Figura 23. Registro da presença dos vetores de doenças, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, em grande parte das coletas realizadas nos bairros Lagomar e Praia do Pecado. Foram identificadas vinte larvas dos ovos eclodidos de cada palheta. A) Lagomar no período de seca, julho/2015, cinco pontos apresentaram indivíduos da espécie *Ae. aegypti*. B) Praia do Pecado no período de seca, julho/2015, contendo *Ae. aegypti* em apenas dois pontos. C) Predomínio da espécie *Ae. albopictus* em sete dos dez pontos coletados, no período de chuva, março/2016, no Lagomar. D) Predomínio de *Ae. aegypti* no período de chuva, março/2016, Praia do Pecado. (E) Em destaque, o Lagomar, no período de seca, julho/2016 teve a eclosão de apenas uma larva de *Ae. aegypti* dos 243 ovos coletados. (F) Ausência de ovos no período de seca, julho/2016, na Praia do pecado. (G) e (H) Presença de *Ae. aegypti* em todos os pontos que foram coletados ovos, em ambos os bairros no período de chuva, outubro/2016. 40

Figura 24. Características morfológicas determinantes para identificação da larva de *Ae. aegypti*. A) Região anterior, composta por cabeça e tórax, em destaque tem-se uma espícula latero-torácica quitinizadas. B) Em maior destaque a espícula latero-torácica quitinizadas. C) Região posterior, apontado com a seta tem-se a cela incompleta no lóbulo anal; e a fileira linear de escamas no oitavo segmento abdominal indicada pela cabeça de seta. D) Em maior destaque as escamas em fileira linear, contendo três espinhos bem definidos, um longo com dentes bilaterais. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205. 45

Figura 25. Características morfológicas determinantes para identificação da larva de *Ae. albopictus*. A) Região anterior, composta por cabeça e tórax, em destaque tem-se uma pequena espícula latero-torácica quitinizadas. B) Em maior destaque a pequena espícula latero-torácica quitinizada. C) Região posterior, apontado com a seta à cela incompleta no lóbulo anal; e a fileira linear de escamas no oitavo segmento abdominal indicada pela cabeça de seta. D) Fileira linear de escamas contendo espinhos centrais contendo borda serrilhada. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205. 46

Figura 26. Larva pertencente à família Culicidae e ao gênero *Culex*, coletada na Lagoa Imboassica em pontos com recebimento de esgoto. A) Vista ventral. B) Em maior aumento, 83.7x, conjunto de escamas no oitavo segmento abdominal. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205. 47

Figura 27. Características morfológicas para identificação de pupas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Culex*. A) *Ae. aegypti*, vista ventral, em aumento de 19.6x. B) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 90.8x, mostrando as cerdas múltiplas no oitavo segmento abdominal (seta) e as paletas natatórias possuindo diminutos cílios (cabeça de seta). C) *Ae. albopictus*, vista ventral, em aumento de 24x. D) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 81.6x, destacando as paletas natatórias que possuem cerdas longas (cabeça de seta) e cerda única ramificada no oitavo segmento abdominal (seta). E) *Culex* sp., vista ventral, em aumento de 19.3x. F) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 65.5x, destacando as paletas natatórias que não possuem cílios (cabeça de seta) e cerdas múltiplas no oitavo segmento abdominal (seta) (Alencar, 2008; Consoli and Oliveira, 1994). Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205. 48

Figura 28. Esquema dos processos de realização do ensaio de toxicidade utilizando embriões de *D. rerio*. A) Coleta dos ovos; B) Separação entre fertilizados e não-fertilizados; C) Distribuição de ovos fertilizados nas placas de 24 poços contendo as soluções testes e o controle. Os ovos não fertilizados são descartados. Adaptado de Lammer, Carr et al., 2009, p. 198 (Silva, 2015). 52

Figura 29. Populações de campo e de laboratório de *Ae. aegypti* são susceptíveis aos efeitos do diflubenzuron. Resultados de bioensaios com larvas de *Ae. aegypti* obtidas a partir de larvas eclodidas de populações de campo e da linhagem Rockefeller, padrão de laboratório. Foram utilizadas as concentrações de 0,075 µg/ml (0,1x a concentração recomendada para utilização em campo); 0,75 µg/ml (concentração recomendada para utilização de campo) e 7,5 µg/ml (concentração dez vezes maior que a recomendada para utilização no campo). Não houve mortalidade larvar no controle (linha azul). O larvicida foi efetivo em todas as concentrações utilizadas tanto na população de campo, quanto na de laboratório. A) Larvas de *Ae. aegypti* coletados no campo. B) Larvas *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller. 54

Figura 30. O larvicida diflubenzuron provoca alterações morfológicas sobre larvas de *Ae. aegypti*. A) Larva controle apresentando desenvolvimento normal de suas estruturas. Seta apontando o tórax e a cabeça de seta apontando a região do abdômen. B) Larva tratada com diflubenzuron apresentando características diferentes da larva controle como pigmentação escura na região da cabeça, tórax e abdômen apontada pela seta. 55

Figura 31. Pupas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller, padrão de laboratório, são susceptíveis aos efeitos do larvicida Sumilarv® 0,5 G (pyriproxyfen). Este larvicida que é um análogo ao HJ dos insetos, demonstrou ser eficaz para o controle de pupas, retardando o desenvolvimento e causando conseqüentemente a sua morte. A

concentração de 1µg/ml (100x o uso em campo) levou às pupas a letalidade mais rapidamente, quando comparado às demais concentrações..... 56

Figura 32. Efeito do larvicida Sumilarv® 0,5 G (pyriproxyfen) sobre pupas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller, em vista lateral com aumento de 19.8x. A) Pupa controle, apresentando desenvolvimento e pigmentação normal tendo aspecto de vírgula. B) Pupa tratada com o larvicida não desenvolveu aspecto de vírgula, apresentando problemas na metamorfose para emergência do adulto. 56

Figura 33. Altas concentrações de diflubenzuron levam a mortalidade de embriões de *D. rerio*. A) Gráfico de colunas mostrando a mortalidade em embriões por concentração ao final do teste. Na concentração de 75 µg/ml (100x mais o indicado para uso no campo) há letalidade dos 20 embriões utilizados no teste. B) Gráfico de linhas mostrando a mortalidade dos embriões em horas de desenvolvimento pós-tratamento. A concentração de 75 µg/ml (100x) matou a totalidade dos embriões nas primeiras 48h de desenvolvimento pós-tratamento..... 57

Figura 34. Embriões de *D. rerio* expostos ao larvicida diflubenzuron apresentaram danos em sua morfologia. As imagens de A-C representam o desenvolvimento em 96 horas pós fertilização (hpf). A) Controle negativo: normal de acordo com o proposto por Kimmel, Ballard et al., 1995), apresentando bexiga natatória inflada (seta). B) Concentração de 0,75 µg/ml (1x uso em campo): desenvolvimento irregular, apresentando bexiga natatória não inflada. C) Concentração de 7,5 µg/ml (10x): desenvolvimento de edema no pericárdio (cabeça de seta), má-formação do crânio e da face (asterisco), consumo irregular do vitelo e bexiga natatória não inflada (seta). A escala representada por um traço negro corresponde a 0,5 milímetros e se aplica a todos os embriões. 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade de ovos coletados no bairro Lagomar nos períodos de seca e de chuva.....	33
Tabela 2. Quantidade de ovos coletados no bairro Praia do Pecado nos períodos de seca e chuva.....	36
Tabela 3. Dados abióticos da cidade de Macaé referente aos meses de coletas nos bairros.....	41
Tabela 4. Dados abióticos referentes ao dia da instalação das ovitrampas nos bairros e a quantidade de ovos obtidos.....	41
Tabela 5. Índices do LIRAA dos meses entre janeiro de 2011 a outubro de 2016 do Município de Macaé.....	42
Tabela 6. Índices do LIRAA dos meses de janeiro de 2011 a outubro de 2016 do bairro da Praia do Pecado.....	43
Tabela 7. Índices do LIRAA dos meses de janeiro de 2011 a outubro de 2016 do bairro Lagomar.....	43

1. INTRODUÇÃO

1.1 Ações antrópicas e danos ambientais observados em Macaé

A primeira fase do desenvolvimento econômico da região Norte Fluminense teve grande desdobramento social e ambiental e foi proporcionada pela riqueza da economia do açúcar, auxiliada pela construção do Canal Campos-Macaé. Em seguida, veio o menor e um dos mais danosos períodos, a economia do café, onde a quase totalidade da Mata Atlântica foi substituída por plantações de café. A última e atual fase do desenvolvimento econômico é a denominada economia do petróleo. A ação humana praticada de forma inconsequente, causando grandes impactos ambientais, visou apenas o desenvolvimento e o progresso da região desconsiderando futuros danos que tais práticas poderiam acarretar à saúde pública e ao meio ambiente (Esteves, 2011a).

O sistema de cultivo de cana de açúcar no Norte Fluminense entre os séculos XIX e XX era ecologicamente insustentável (Soffiati, 1998). Uma grande área de mata foi tombada e suas madeiras exportadas ou usadas como combustível nos fogões das usinas. Com intuito de viabilizar o comércio e transporte da cana, fazendeiros da época com grande poder político e econômico apoiaram a construção do Canal Campos-Macaé (Esteves, 2011c). Para a realização desta grande obra, que se iniciou em 1843 e foi concluída em 1861 por escravos, muitos canais foram drenados e interligados a lagoas e rios da região tendo suas características ecológicas alteradas (Esteves, 2011c). A fim de justificar tal construção, os fazendeiros afirmavam que o Canal Campos-Macaé serviria para “sanear os pântanos infectados por mosquitos que propagavam a febre paludosa” (Soffiati, 1998).

A cidade de Macaé, localizada na região Norte Fluminense, pertence ao Estado do Rio de Janeiro e possui uma população de aproximadamente 239.471 habitantes com área total de 1.216,846 km² (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2016). Após a implantação da Petrobras a partir da década de 1970, a cidade se tornou uma enorme fonte de dinheiro obtida da economia do petróleo. Muitas empresas ligadas ao ramo *offshore* se estabeleceram na cidade permitindo assim seu desenvolvimento (Figura 1) e fornecimento de uma gama de empregos e oportunidades. Macaé é um dos principais municípios da região onde a economia do petróleo gerou grandes

consequências negativas, especialmente do ponto de vista social e ambiental (Esteves, 2011b).



Figura 1. A instalação da petrolífera brasileira (PETROBRAS) na cidade de Macaé na década de 70 influenciou muito para o crescimento econômico da região. (A) Local onde hoje é o bairro Praia Campista antes da exploração de petróleo, década de 40-60, contendo poucas casas e nenhuma infraestrutura. (B) Praia Campista atualmente mostrando como a economia do petróleo favoreceu o desenvolvimento urbano. Imagem modificada a partir do Google Imagens.

A busca por terrenos baratos e espaçosos próximos à rodovia e outras unidades da Petrobras (Parque dos Tubos) foi determinante para que áreas próximas à Lagoa Imboassica se tornassem um atrativo para implantação de grandes empreendimentos imobiliários e aglomerados industriais (Machado, 2012).

A Lagoa Imboassica, localizada no município de Macaé entre os bairros Praia do Pecado e Mirante da Lagoa (Figura 2), ocupa uma área total de 326 hectares (Panosso et al., 1998) e costuma ser utilizada pela população como local de lazer e pesca de subsistência (Caramaschi et al., 2004). Há tempos esse ecossistema vem sofrendo grande influência antrópica, o que tem gerado impactos e causando alteração na sua característica natural como: aterros das margens, aberturas artificiais da barra, assoreamento e diminuição de seu espelho d'água. Esta lagoa também tem sido utilizada como receptora de efluentes domésticos e industriais, principalmente, a partir da década de 70 devido ao crescimento populacional no município (Esteves, 1998a; Santos et al., 2013).



Figura 2. Lagoa Imboassica (marcador vermelho) localizada entre os bairros Praia do Pecado (marcador amarelo) e ao Mirante da Lagoa (marcador azul). Imagem modificada a partir do Google earth.

O crescimento populacional em Macaé também vem acarretando a substituição de outras áreas naturais como restingas, manguezais, florestas e brejos por loteamentos, condomínios residenciais, estradas e áreas industriais (Esteves, 2011b). Por estarem localizadas ao longo da costa acabam sofrendo grandes pressões da ocupação humana e como consequência têm sua paisagem original alterada ou totalmente destruída (Caramaschi et al., 2004).

A Restinga de Jurubatiba localiza-se aproximadamente a quinhentos metros do bairro Lagomar (Figura 3) e na zona de amortecimento desta está instalado um importante complexo de Petróleo e gás, o Terminal de Cabiúnas (Esteves, 2011d). Com o constante crescimento deste bairro e implantações de empresas ao redor deste terminal, uma grande área de Mata Atlântica foi degradada. No Lagomar, a partir do final da década de 1970, um conjunto de ecossistemas constituídos por diferentes formações de florestas, brejos, lagoas e vegetação de dunas foram extintos ou estão em processo acelerado de extinção. A quase totalidade foi substituída por casas, empresas ou depósitos de lixos (Esteves, 2011b).



Figura 3. Bairro Lagomar (marcador amarelo) localizado próximo ao Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (marcador vermelho) e do Complexo de Petróleo e gás (Terminal Cabiúnas) (marcador azul). Imagem modificada a partir do Google earth.

Segundo Tauil, 2001, nas regiões mais carentes, os criadouros potenciais dos vetores de doenças podem estar associados à ausência de destino adequado de lixo ou pela precariedade do abastecimento de água potável à população. As grandes aglomerações urbanas possuem áreas densamente povoadas que dificultam a aplicação de medidas de saneamento. Esta aglomeração pode levar à disseminação de doenças as quais tendem a se espalhar pela população como, por exemplo, a dengue no Brasil (Forattini, 1998).

Em Macaé as extensas e profundas modificações de vegetação observadas associadas à migração de trabalhadores, promovida pela economia do petróleo, permite que o município fique susceptível a entrada de novas infecções virais pela chegada e saída de trabalhadores de todo mundo. A falta de saneamento básico em alguns pontos da cidade podem levar ao aumento de arboviroses, doenças transmitidas por insetos, como a dengue, a febre amarela e agora recentemente a chikungunya e a zika (Leisnham et al., 2014).

1.2 Doenças causadas por arbovírus

Os arbovírus (Arthropod-borne virus) recebem este nome devido parte de seu ciclo de replicação ocorrer nos artrópodes. A transmissão do vírus pode ocorrer através da picada do vetor hematófago ao hospedeiro. As arboviroses, com auxílio das mudanças climáticas e do desmatamento, estão cada vez mais se propagando e tornando a ação da saúde pública um grande desafio. Ações antrópicas favorecem a amplificação, as transmissões virais, além da transposição da barreira entre espécies (Lopes et al., 2014).

Os vírus transmitidos por artrópodes que causam doenças em humanos e outros animais endotérmicos são membros de cinco famílias: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae. A família Flaviviridae é composta por três gêneros: *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus*. No gênero *Flavivirus* estão incluídas cerca de 39 espécies, sendo algumas causadoras da dengue, febra amarela e zika (Gaunt et al., 2001; Gould and Solomon, 2008). Já a família Togaviridae possui dois gêneros: *Alphavirus* e *Rubivirus*. O gênero *Alphavirus* possui cerca de 40 membros, dentre eles tem o causador da Chikungunya (Powers and Logue, 2007, Simon et al., 2008).

O vírus dengue (DENV) pertence à família Flaviviridae, ao gênero *Flavivirus* e são classificados como arbovírus (Gubler, 2002), são esféricos, envelopados e medem cerca de 40 a 50 nm de diâmetro (Araújo and Schatzmayr, 2015). A dengue é uma endemia viral caracterizada pela existência de quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 E DENV-4) circulantes no Brasil, que se tornou um grave problema de saúde pública no nosso país (Rezende, 2013).

Uma quinta variante (DENV-5) foi encontrada em 2007, sendo isolada em 2013. Este sorotipo segue o ciclo silvestre limitando-se, a princípio, apenas as copas das florestas do Sudeste Asiático. A causa provável da emergência do novo sorotipo poderia ser a recombinação genética ou seleção natural. A doença causada por DENV-5 é branda e sua taxa de transmissão é baixa (Mustafa et al., 2015).

A transmissão da dengue a humanos ocorre quando o mosquito não infectado e suscetível realiza uma refeição (repasto) de sangue numa pessoa que contém vírus no sangue. Após o repasto de sangue infectado o mosquito fica apto a transmitir o vírus depois do período de incubação (fase em que o sangue com vírus chega ao intestino, se replica e depois se dissemina chegando às glândulas salivares), sendo transmitido para outra pessoa na próxima refeição (Brasil, 2002; Carrington and Simmons, 2015).

A dengue manifestada nos humanos é uma doença infecciosa, que na maioria das vezes não apresenta sintomas, porém podem surgir casos clínicos graves como perda de plasma que gera a síndrome de choque, acúmulo de líquidos, comprometimento dos órgãos podendo levar até a morte (Gubler, 2002, Cunha and Martínez, 2015; WHO, 2009).

Muitas vezes o diagnóstico precoce da dengue é confundido com os de outras doenças e viroses. Quando o diagnóstico é de fato confirmado, o vírus já se espalhou atingindo grandes áreas geográficas, tornando o controle da epidemia uma tarefa difícil (Tauil, 2001). A dengue é um problema de saúde pública re-emergente, que pode expor dois quintos da população mundial ao risco de infecção (Mustafa et al., 2015).

No Brasil, no ano de 2014, foram registrados 589.107 casos prováveis de dengue, com 463 mortes. Em 2015 esses números aumentaram para 1.688.688, sendo confirmadas 986 mortes. Já no ano de 2016 foram registrados 1.500.535 casos prováveis de dengue, sendo confirmados 642 óbitos (Brasil, 2015; Brasil, 2017).

De acordo com Varejão, 2013, para se obter uma melhor compreensão da transmissão e da ocorrência de epidemias de dengue é necessário dar uma importância maior à relação entre as variáveis geoclimáticas (altitude, temperatura, relevo e suficiência de água) e o ciclo de vida do vetor.

Lourenço-de-Oliveira, 2015b, afirma que quando há uma exposição dos mosquitos a uma temperatura mais alta, com menor variação diária da temperatura ambiente, o DENV chega às glândulas salivares do inseto mais rapidamente estando apto para transmissão ao hospedeiro. O hospedeiro ao contrair um dos tipos do DENV fica imunizado para infecções posteriores, entretanto ainda pode se contaminar com um sorotipo diferente podendo desenvolver manifestações clínicas mais graves (Siqueira Jr et al., 2005).

A febre amarela é uma doença infecciosa não contagiosa causada também por um arbovírus (*Flavivirus*) da Família Flaviviridae. Esta doença possui vetores urbanos como do gênero *Aedes* e vetores silvestres como dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (Brasil, 1999).

A forma mais grave dessa doença é caracterizada clinicamente por manifestações de insuficiência hepática e renal, que podem levar a óbito. No início do século XX foi erradicada com auxílio do desenvolvimento de vacinas eficazes e campanhas de erradicação do mosquito em zonas urbanas do Caribe e América Latina (Brasil, 2004). O Brasil possui a maior área do mundo onde o vírus amarelíco circula entre os

hospedeiros naturais como macacos, marsupiais e outros (Tauil, 1999). A vigilância da febre amarela, até 1999, era identificada apenas com ocorrências de casos humanos suspeitos. Porém, observação de mortes de macacos seguida de surgimento de pessoas doentes, em vários municípios brasileiros colaborou para que tais eventos passassem a ser vistos como sinalizadores de eventual risco de casos humanos de transmissão silvestre (Cavalcante and Tauil, 2016).

O aumento dos fatores climáticos como temperatura e pluviosidade, nos meses mais quentes, pode influenciar no ciclo reprodutivo dos insetos vetores colaborando diretamente para o aumentando da densidade e do potencial de transmissão (Costa et al., 2011). Os dados coletados no Brasil entre 2000 e 2010 registraram 324 casos confirmados por febre amarela silvestre, com 155 óbitos. As áreas mais atingidas localizaram-se próximas a grandes centros urbanos, ocupados por uma população não vacinada e conseqüentemente sem proteção contra a doença (Romano et al., 2011).

Outro arbovírus importante é o vírus Zika (ZIKV) também pertencente à família Flaviviridae e ao gênero *Flavivirus*, que pode ser transmitido por mosquitos, da gestante ao feto (Calvet et al., 2016) e também por relação sexual. Em 2013, após um surto de ZIKV na Polinésia Francesa, foi encontrado o vírus no sêmen de um paciente que fazia tratamento hematospermia (Musso et al., 2015). Geralmente pessoas infectadas com o ZIKV quase nunca apresentam sintomas, mas quando presentes pode ser febre, dor de cabeça, erupção cutânea, dor articular e conjuntivite que podem durar vários dias. Pessoas infectadas com o vírus zika, provavelmente ficam protegidas contra futuras infecções (CDC, 2016).

O ZIKV foi descoberto em 1947, em Uganda, e seu nome é oriundo da floresta de Zika onde foi encontrado pela primeira vez. Os primeiros casos em humanos foram detectados em 1952 e logo após alguns surtos foram descritos na África tropical, no Sudeste Asiático e nas Ilhas do Pacífico (CDC, 2016).

A transmissão autóctone pelo ZIKV, no Brasil, foi confirmada a partir de abril de 2015, tendo 3 óbitos confirmados laboratorialmente em São Luís/MA, Benevides/PA e Serrinha/RN. Em 2016 foram registrados 215.319 casos prováveis da febre pelo ZIKV no país, distribuídos em 2.306 municípios, tendo sido confirmados 130.701. Neste mesmo ano exames laboratoriais confirmaram 8 óbitos nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Maranhão e Paraíba, ocorridos entre janeiro e agosto (Brasil, 2017). Ainda no Brasil, em 2015, as autoridades reconheceram a associação entre ZIKV e casos de complicações graves como a Síndrome de Guillain-Barre e microcefalia em

recém-nascidos. Neste ano foi identificado um grande aumento no número de crianças com malformações cerebrais fetais ou lesões cerebrais (Cipriano and Monteiro, 2016, Lahon et al., 2016). Desde o surgimento do vírus Zika (ZIKV), os relatórios de microcefalia têm aumentado no Brasil e uma pesquisa realizada sugeriu que o ZIKV anula a neurogênese durante desenvolvimento do cérebro humano (Garcez et al., 2016).

Lahon et al., 2016, isolaram uma estirpe ZIKV (ZIKV-FLR) de um indivíduo picado por mosquitos, que esteve numa região da Colômbia que possuía dengue, chikungunya e transmissão de ZIKV. O estudo realizado mostrou que esta estirpe de vírus pode ter se originado no Caribe e não no Brasil, e que a cepa do vírus pode ser resistente à inativação por irradiação ultravioleta, quando comparado ao vírus da dengue (Lahon et al., 2016).

A febre chikungunya é causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV), membro da família *Togaviridae* e pertencente ao gênero *Alphavirus*, que pode ser transmitido por muitas espécies de mosquitos. A palavra chikungunya, usada tanto para a doença quanto para o vírus, é originária do leste da África e significa "andar debruçado" e refere-se ao efeito das dores articulares que caracterizam esta infecção. Os sintomas mais comuns são febre e dor nas articulações, podendo incluir também cefaléia, dor muscular, inchaço articular ou erupção cutânea (CDC, 2015; Pialoux et al., 2007).

O vírus Chikungunya foi isolado pela primeira vez na Tanzânia, África, em 1953, após um surto da doença na década de 1950 nesta mesma região (Pialoux et al., 2007). Desde então a doença tem sido identificada em vários países podendo estar associada com a importação do vírus para novas áreas por viajantes infectados (CDC, 2015). Em 2006 e 2007 foram registrados casos no norte da Itália. Casos importados foram registrados na França, Taiwan, Estados Unidos e no Brasil. Em 2013 chegou às Américas, tendo os primeiros casos de transmissão autóctone da doença sido confirmados no início de 2014 (CDC, 2015; Saúde, 2014). O vetor pertencente ao gênero *Aedes* pode ser encontrado nas Américas, desde o sul da Flórida até o Brasil. O Caribe é uma região altamente propícia à dispersão e a transmissão do CHIKV, devido ao alto número de turistas que visitam o país (Cauchemez et al., 2015).

Em 2016 foram registrados no Brasil 271.824 casos prováveis da doença, tendo 151.318 casos confirmados (por critério laboratorial ou por critério clínico-epidemiológico), distribuídos em 2.829 municípios. Foram confirmados 196 óbitos, distribuídos entre os estados de Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Ceará, Rio

de Janeiro, Alagoas, Bahia, Maranhão, Piauí, Sergipe, Amapá e Distrito Federal. A região Nordeste foi a que apresentou a maior taxa de incidência (Brasil, 2017).

Ao contrário da febre amarela, ainda não foram desenvolvidas vacinas para prevenir ou medicamentos para tratar a infecção pelo vírus chikungunya, dengue e zika (CDC, 2015). O melhor caminho para a prevenção de tais doenças ainda é o controle do vetor. A responsabilidade sobre o funcionamento dos serviços de coleta de lixo ou fornecimento de água encanada é do Estado, porém cabe a cada cidadão empoderado pela educação o dever de cuidar de sua própria residência e eliminar todos os possíveis criadouros do vetor (Aguiar and Valle, 2015; Jardim and Schall, 2015).

1.3 O vetor

O vetor de doenças é um organismo que transmite o agente etiológico, o causador de uma determinada doença. A definição de uma dada espécie como vetora, depende de processos dinâmicos e interativos que interferem e influenciam na sobrevivência, densidade, migração e dispersão dos mosquitos, como por exemplo, fatores ambientais, fontes de alimentação sanguínea e disponibilidade e densidade de recipientes para a oviposição (Lourenço-de-Oliveira, 2015b).

A capacidade vetorial de uma população de mosquitos depende da suscetibilidade, dos fatores fisiológicos e da capacidade do agente etiológico se estabelecer e ser transmitido pelo vetor em condições naturais. Depende também da densidade populacional do vetor, frequência com que pica os hospedeiros infectados e das picadas infectantes em humanos. Ao avaliar numericamente a suscetibilidade de uma população vetora ao agente etiológico, tem-se a sua competência vetorial (Lourenço-de-Oliveira, 2015b).

A competência vetorial definida como um mecanismo intrínseco do vetor para infecção, replicação e transmissão do vírus está associado com a quantidade de barreiras anatômicas que determinam a eficiência da infecção no vetor (Black et al., 2002).

O *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, é um dos principais vetores das arboviroses tropicais como febre amarela, zika, chikungunya e é responsável pela transmissão da dengue no Brasil desde a década de 50 (Passos et al., 2003). Este mosquito é originário da África, sendo originalmente descrito no Egito. Atualmente, é objeto de diversos estudos pela grande importância na saúde pública e por apresentar ampla variação na

competência vetorial dentro e entre populações por todo o mundo (Black et al., 2002). Desenvolveu em sua trajetória evolutiva um comportamento estritamente sinantrópico (adaptados a viver perto do homem) e antropofílico (preferência pelos humanos como hospedeiro) (Consoli and Oliveira, 1994), tendo hábito de picar durante o dia (Tauil, 2001).

No Brasil, o *Ae. aegypti*, foi introduzido durante o período colonial na época do tráfico de escravos (Consoli and Oliveira, 1994). Devido as campanhas contra a febre amarela no país, este vetor foi erradicado por duas vezes; a primeira no ano de 1955 e depois em 1973. Sua reintrodução ocorreu em 1976, através do porto de Salvador, na Bahia, de onde se espalhou para outras regiões do país. Atualmente atinge cerca de 3.000 municípios brasileiros (Brasil, 1999).

Já o *Aedes albopictus* Skuse, 1894, foi considerado o mosquito responsável pela transmissão da dengue no sudeste da Ásia, na Europa e no Pacífico. É conhecido como “mosquito-tigre-asiático”, em referência a sua origem geográfica, possui sua distribuição predominante em áreas suburbanas e periurbanas, nos quintais com vegetação e bordas de matas (Lourenço-de-Oliveira, 2015a). Recentemente, após um surto de dengue no México, o *Ae. albopictus* foi encontrado pela primeira vez na América infectado com o vírus dengue (Ibáñez-Bernal et al., 1997). Sua ocorrência na América do Sul ocorreu pela primeira vez em 1986 (Forattini, 1986). No Brasil, foi identificado em 1986; atualmente pode ser encontrado em vários estados e cerca de 1.400 municípios. Este mosquito é considerado um vetor potencial da febre amarela (Brasil, 1999) e não apresenta uma antropofilia tão acentuada quanto o *Ae. aegypti* (Tauil, 2001).

Estas duas espécies quando adultos possuem tamanho inferior a 1cm apresentando coloração escura, com pernas marcadas com faixas pretas e brancas. O *Ae. aegypti* tem sobre seu escudo torácico escamas em formato de lira. Já o *Ae. albopictus* possui sobre seu tórax escamas branco-prateadas que formam uma faixa longitudinal e central (Figura 4) (Lourenço-de-Oliveira, 2015a).



Figura 4. Mosquitos vetores de doenças pertencentes à família Culicidae e ao gênero *Aedes*. A) *Ae. aegypti* possui no escudo torácico escamas prateadas em formato de lira. B) *Ae. albopictus* possui em seu tórax escamas branco-prateadas que formam uma faixa longitudinal e central.

Os ciclos de vida de ambas as espécies são parecidos, dividindo-se nas fases de ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto (Figura 5). Para a grande maioria dos mosquitos tropicais, uma temperatura ótima estaria em torno de 24 e 28°C para que o desenvolvimento da fase imatura seja concluído normalmente entre 7 a 10 dias (Consoli and Oliveira, 1994).

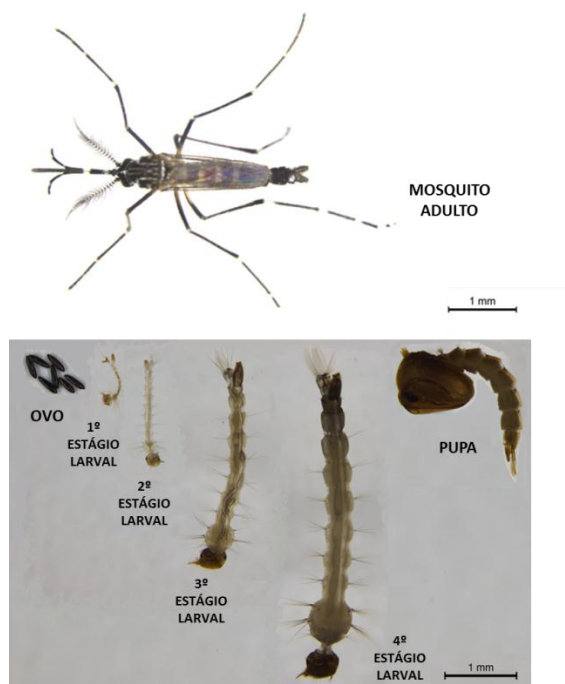


Figura 5. As fases do ciclo de vida dos mosquitos do gênero *Aedes*. As fêmeas depositam seus ovos próximos à água com aspecto limpo e contendo pouca matéria orgânica; estes quando

em contato com a água levam alguns minutos para eclodir. As larvas possuem quatro estágios (L1, L2, L3 e L4) e permanecem nesta forma por aproximadamente quatro dias, dependem dos fatores abióticos e disponibilidade de alimento para seguirem para o próximo estágio. As pupas não se alimentam e antecedem a emergência da forma adulta do mosquito. Nesta foto tem-se um mosquito macho exemplificando o tamanho do adulto. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

As fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* costumam depositar seus ovos próximos a água que esteja com aspecto limpo, não turvo e com pouca matéria orgânica em decomposição. Podem colocar seus ovos no mesmo recipiente, o que resulta numa competição entre espécies (Lourenço-de-Oliveira, 2015a). Uma diferença entre a postura dos ovos destas espécies é referente à localização dos criadouros. Os criadouros preferencias das fêmeas de *Ae. aegypti* estão dentro das residências ou próximos a estas podendo ser ralos, reservatórios de água, jarros e pratos de plantas, lixos, pneus, dentre outros. Raramente são encontradas larvas desta espécie em recipientes naturais, e quando ocorre não apresenta importância epidemiológica, especialmente quando localizadas em áreas afastadas das casas (Lourenço-de-Oliveira, 2015a). A adaptação aos criadouros artificiais teria sido um grande passo em direção ao comportamento sinantrópico (Focks et al., 1981).

Por sua vez, as fêmeas de *Ae. albopictus* possuem maior plasticidade podendo depositar seus ovos tanto em recipientes artificiais próximo a área urbana, quanto em recipientes naturais como bromélias, ocos e cascas de árvores, internódios de bambus (Braga and Valle, 2007b; Lourenço-de-Oliveira, 2015a).

Os ovos dos mosquitos são ovais e negros (Figura 6). Porém, no momento da oviposição possuem coloração clara tornando-se escuros após alguns minutos, diferentemente dos inférteis que se mantêm claros. Após a postura, os ovos sofrem esclerotização, processo que torna a casca resistente. A diapausa na fase de ovo caracterizada por uma suspensão temporária da eclosão após o término do desenvolvimento embrionário, em *Ae. aegypti*, pode durar cerca de um ano em ambiente seco. Os ovos quando em contato com a água costumam eclodir entre 5 e 60 minutos. (Consoli and Oliveira, 1994).



Figura 6. Ovos de culicídeos do gênero *Aedes*. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205 em aumento de 46.7x.

As larvas têm o corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen (Figura 7). O corpo da larva apresenta cerdas que possuem função sensorial e auxiliam na flutuação. A respiração é realizada por duas aberturas espiraculares situadas no sifão. O lóbulo anal é o local onde termina o tubo digestivo da larva e por onde é eliminada toda matéria orgânica consumida. Neste estágio são aquáticas e se alimentam de matéria orgânica em suspensão aderida as paredes ou sedimentadas nos depósitos, com auxílio do aparelho bucal do tipo mastigador-raspador que é composto pelas escovas orais ricas em cerdas (conjunto de algumas centenas de filamentos) (Figura 8). Tais escovas, quando se movimentam produzem correntes hídricas que trazem para a boca da larva partículas que serão mastigadas (Consoli and Oliveira, 1994).

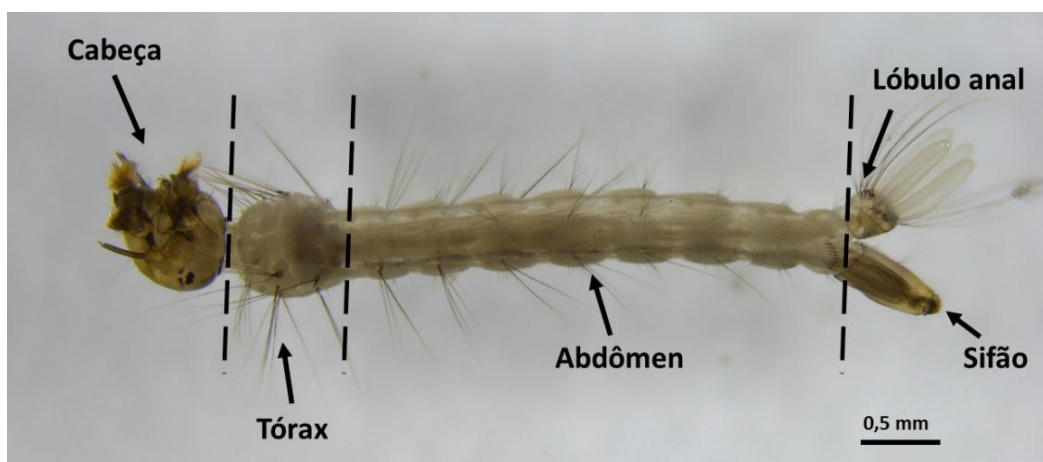


Figura 7. Divisão corpórea da larva de *Ae. aegypti*. Região anterior: cabeça e tórax; Região posterior: abdômen, lóbulo anal e sifão. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

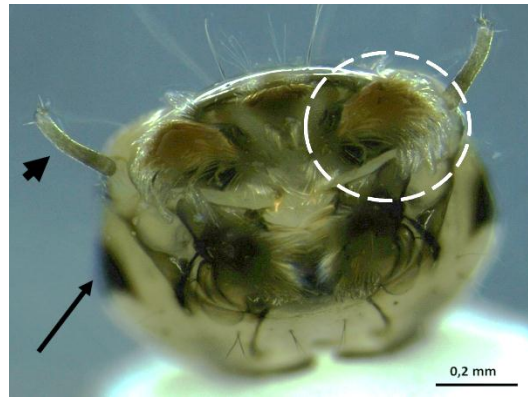


Figura 8. Cabeça de larva de um indivíduo do gênero *Aedes*. Vista ventral. Região do aparelho bucal destacando as escovas orais ricas em cerdas e compostas por centenas de filamentos (círculo tracejado branco); olhos compostos por ocelos (seta) e antena (cabeça de seta). Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

As pupas possuem um aspecto de vírgula (Figura 9) e assim que formadas têm a mesma cor da larva e seu escurecimento ocorre próximo ao momento da emergência do adulto. Seu corpo é dividido em cefalotórax e abdômen (dividido em 8 segmentos), ambos contêm cerdas que têm grande importância sistemática. No cefalotórax há duas estruturas tubulares responsáveis pela respiração chamadas trombetas ou trompas respiratórias, onde se abrem os únicos espiráculos da pupa. Nesta região do corpo também se localizam os olhos compostos. No final do abdômen, há um par de paletas responsáveis pela locomoção e ventral a estas se encontra o lobo genital (Consoli and Oliveira, 1994).

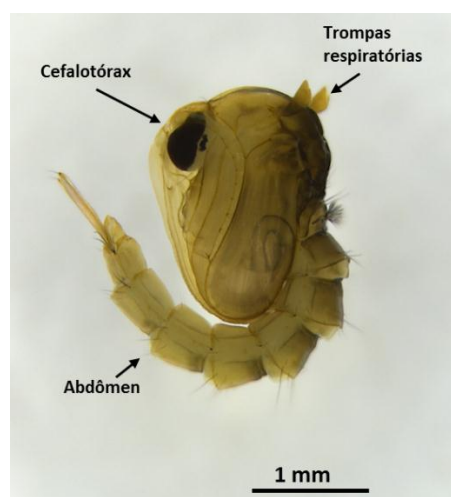


Figura 9. Pupa de um indivíduo do gênero *Aedes* com aspecto de vírgula destacando o cefalotórax, trompas respiratórias e abdômen. Foto realizada por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205 em aumento de 19.8x.

A emergência do adulto ocorre lentamente através de uma abertura no cefalotórax da pupa; este permanece em repouso por alguns minutos sobre a água que em seguida voa a procura de abrigo. Estes abrigos geralmente são locais úmidos e protegidos da luz próximos aos criadouros e a fonte de alimento. Para o mosquito adulto, a alimentação de diferentes açúcares, principalmente de origem vegetal, corresponde à manutenção de reservas na forma de glicogênio e lipídeos. Os machos são obrigatoriamente fitófagos, enquanto as fêmeas necessitam também da alimentação sanguínea para vitelogênese que dá início ao ciclo gonadotrófico, ciclo de desenvolvimento ovariano. Geralmente os hematófagos têm em cada ciclo um repasto sanguíneo. Entretanto, o mosquito *Ae. aegypti* pode ingerir o sangue de múltiplos indivíduos antes de cada oviposição, hábito conhecido como discordância gonotrófica. Este fenômeno possui grande importância epidemiológica, visto que uma fêmea pode realizar várias ingestões de sangue em diferentes pessoas potencializando assim a transmissão dos agentes etiológicos (Lourenço-de-Oliveira, 2015a).

O controle do vetor ainda é a melhor forma para prevenir doenças como a dengue. Muitos programas desenvolvidos pela Saúde Pública estão voltados para a prevenção e combate ao vetor (Braga and Valle, 2007b). Novas estratégias também têm sido pesquisadas para o controle do vetor como alternativas ao uso de inseticidas químicos, que sejam mais seguras e causem menos danos ao meio ambiente (Borges et al., 2012).

1.4 Controle do vetor

No Brasil, o uso de inseticidas químicos ainda é o principal componente para o controle de vetores, não só no setor público como também pelo privado. Alternativas para diminuir aplicação de químicos para controle da fase alada de *Ae. aegypti* estão sendo testados como: os mosquitos geneticamente modificados que tem como objetivo diminuir a densidade do vetor (Braga and San-Martin, 2015; Valle et al., 2015) e *Ae. aegypti* infectados com *Wolbachia*, uma bactéria intracelular, que tem potencial de suprimir a transmissão do vírus dengue (Hoffmann et al., 2014). Além destas alternativas, têm sido empregados para controle de larvas, os inseticidas biológicos e os reguladores de crescimento (Braga and Valle, 2007b).

O Ministério da Saúde do Brasil trabalha apenas com inseticidas aprovados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que o faz por meio do World Health

Organization Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). Este programa foi estabelecido na década de 60 e serve de referência para muitos países quanto ao uso e manejo de produtos que controlam o desenvolvimento de insetos com importância para a saúde pública, como os vetores de arboviroses (Valle et al., 2015).

O WHOPES recomenda para o controle do *Ae. aegypti* cinco adulticidas neurotóxicos, quatro piretróides e um organofosforado, e nove produtos larvicidas, cinco neurotóxicos dos quais quatro são organofosforados e um espinosina. Também estão sendo utilizados larvicidas com formulações contendo a bactéria *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) e também alguns reguladores do desenvolvimento de insetos (IGRs, “insect growth regulators”) (Valle et al., 2015).

A alternativa ao uso dos larvicidas neurotóxicos para controle do *Ae. aegypti* são os biolarvicidas a base de Bti, uma bactéria entomopatogênica cujos esporos apresentam cristais que produzem quatro diferentes protoxinas. Os cristais ao serem ingeridos pelas larvas são dissolvidos em seu intestino alcalino e então as protoxinas são clivadas pelas proteases, enzimas digestivas, ativando o componente inseticida. As toxinas de Bti agem sobre o epitélio intestinal da larva causando a degradação do intestino, interrupção da alimentação e a morte (Federic, 1995).

Os IGRs possuem várias formulações que afetam o sistema endócrino ou outros aspectos do metabolismo larvar dos insetos. De acordo com seu modo de ação podem ser divididos em: análogos ao hormônio juvenil e inibidores da síntese de quitina (Graf, 1993).

Segundo Valle, 1993, existem dois hormônios que exercem importante papel para o desenvolvimento dos insetos, o hormônio juvenil (HJ), que é responsável pela regulação das estruturas juvenis; e a ecdisona ou hormônio da muda, que atua provocando a muda para o próximo estágio.

Dentre as diversas classes de IGRs, o pyriproxyfen [4-phenoxyphenyl (*RS*)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether, Sumilarv] pertence ao grupo químico Éter Piridiloxipropílico (Yoshino et al., 1996) é um análogo de hormônio juvenil e atua durante o desenvolvimento garantindo o caráter imaturo dos insetos (Graf, 1993).

Uma característica comum destes compostos se refere ao fato de não provocarem a morte imediata nas larvas, sendo a morte geralmente no estágio de pupa ou durante o processo de emergência do mosquito adulto (Mulla, 1995).

O diflubenzuron pertence ao grupo químico das benzoiluréias e possui a nomenclatura química N-[[4- clorofenil]amino]carbonil]-2,6-difluorobenzamida ou 1-

(4-clorofenil)-3-(2,6-difluorobenzoil) uréia (Silva, 2013). Este é um inseticida fisiológico que atua interferindo na deposição de quitina, um polissacarídeo composto por monômeros de açúcar N-acetil-glicosamina (Merzendorfer, 2012), que é um dos principais componentes da cutícula (exoesqueleto) dos insetos. Após a ingestão do produto, as larvas têm dificuldades na ecdise. A má formação da cutícula não permite que o próximo estágio se desenvolva não suportando a pressão interna durante a ecdise e ou não conseguindo dar suficiente suporte aos músculos envolvidos no processo de muda (Ali et al., 1995). Isso resulta numa incapacidade em liberar a exúvia e finalmente conduz a morte das larvas.

Borges et al., 2012, mostrou que o larvicida diflubenzuron interfere no processo da ecdise impedindo a liberação da cutícula velha que se acumula nos espaços intersegmentares. O diflubenzuron age estrangulando as porções segmentares num processo sucessivo e acumulativo, bloqueando a muda e provocando consequentemente a morte da larva.

Os IGRs podem ser menos específicos, podendo afetar outros insetos que possuam processos endócrinos e fisiológicos semelhantes ao dos mosquitos, que são os alvos principais. Estes reguladores de desenvolvimento possuem uma característica importante que os diferem dos inseticidas neurotóxicos, seu efeito primário não induz a morte dos estágios imaturos e sim um desenvolvimento incompleto (Valle et al., 2015).

A ação do efeito dos larvicidas IGRs levanta uma questão importante quanto à instrução que é passada aos agentes de endemias a respeito do uso adequado do produto no campo (Valle et al., 2015). Caso estes profissionais não tenham conhecimento da ação dos IGRs nos indivíduos imaturos de mosquitos, seu uso continuado poderá selecionar indivíduos resistentes (Braga and Valle, 2007b).

1.5 Resistência

Os programas de Saúde Pública têm feito bastante uso de inseticidas para o controle de vetores de doenças. A intensa utilização destes químicos tem provocado a seleção de populações resistentes, que consequentemente vem ocasionando dificuldades para combater o vetor. Em todas as classes de inseticidas, a resistência, tem sido detectada proporcionando desta forma a facilitação para a re-emergência das doenças transmitidas por vetores como o *Ae. aegypti* (Brogdon and McAllister, 1998).

A OMS define resistência como a habilidade de uma população de insetos tolerar doses de inseticidas normalmente letais. A resistência fisiológica é uma característica genética que populações de insetos podem naturalmente apresentar, em um pequeno número de indivíduos, alelos que lhes permitem sobreviver a um determinado produto químico (Braga and Valle, 2007b).

Deste modo, os inseticidas não tornam uma população resistente, pois a resistência tem uma base genética e antecede a utilização destes produtos. O que ocorre então é uma seleção, onde indivíduos suscetíveis aos inseticidas morrem e aqueles naturalmente resistentes, encontrados em baixa frequência nas populações, tendem a aumentar (Figura 10), tendo também uma diminuição na variabilidade genética das populações (Crow, 1957). Sendo assim, cepas resistentes podem surgir como resultado do uso persistente de pesticidas que matam indivíduos com alelos suscetíveis e não matam aqueles que possuam alelos resistentes (Braga and Valle, 2007b).

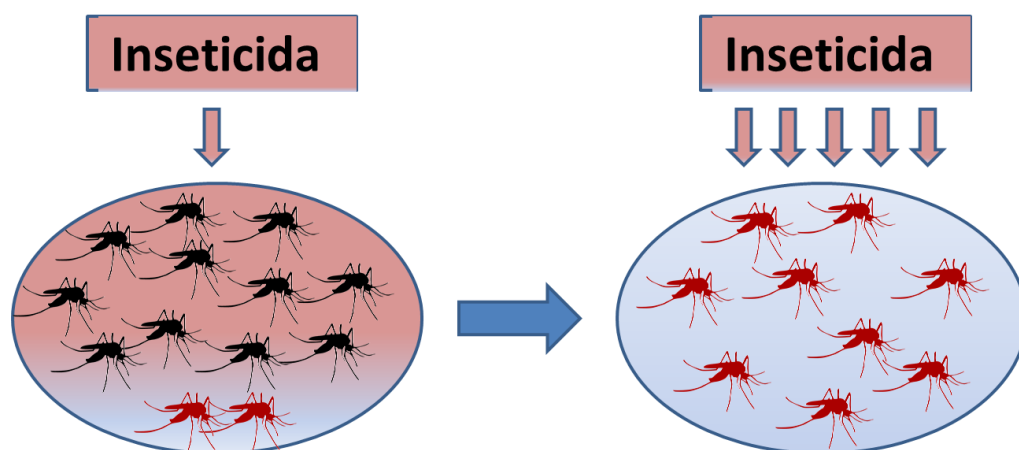


Figura 10. Resistência a inseticidas ocorre por um processo natural e não devido ao efeito de produtos químicos. À direita, dose indicada do fabricante de inseticidas controla população suscetível; à esquerda, por mais que aumente a dosagem do inseticida, os indivíduos naturalmente resistentes não morrem e acabam prevalecendo numa população susceptível.

O surgimento de características genéticas diferentes pode ser atribuído a uma intensa pressão seletiva na qual acelera o processo evolutivo populacional (Braga and Valle, 2007b), além da biologia dos vetores, que geralmente possuem ciclo de vida curto e prole abundante (Hemingway and Ranson, 2000).

A redução da sensibilidade aos inseticidas pelos insetos pode ser causada por quatro mecanismos de resistência: 1- alterações comportamentais; 2- mudanças no exoesqueleto que dificultam à penetração de inseticida no organismo; 3- mutações nas

moléculas alvo do inseticida, no sistema nervoso central, que dificultam sua interação; e 4- aumento da capacidade do indivíduo de detoxificar o inseticida, por meio de enzimas naturalmente desintoxicantes (resistência metabólica) (Hemingway and Ranson, 2000, Valle et al., 2015).

O sítio-alvo dos inseticidas neurotóxicos é composto por moléculas específicas do sistema nervoso muito estudadas. A insensibilidade do organismo dos insetos gera modificações no sítio-alvo que impedem ou tornam menos eficientes as ligações com o inseticida. Os inseticidas organofosforados e os piretróides, cujos alvos são respectivamente a acetilcolinesterase e canal de sódio regulado por voltagem, são as classes de neurotóxicos mais utilizados no Brasil (Martins et al., 2009).

Estudos realizados sobre a disseminação de resistência ao temephos, um organofosforado, em diferentes localidades do Brasil, mostrou que devido à grande pressão de controle do vetor *Ae. aegypti* nas últimas décadas, populações de campo já apresentam resistência a este composto. Caso não aja o restabelecimento da suscetibilidade da população destes vetores sobre o inseticida, muito em breve este poderá perder a sua eficácia (Braga et al., 2004, Lima et al., 2006; Montella et al., 2007).

Segundo Martins et al., 2012, os mecanismos de resistência a organofosforados e piretróides podem causar acumulação de alelos com efeitos negativos sobre diferentes processos biológicos, corroborando a hipótese de que a resistência a inseticidas está associada a um custo de aptidão elevado.

Outro mecanismo muito estudado, a chamada resistência metabólica, é o aumento da capacidade de metabolização de inseticidas que leva à formação de produtos menos tóxicos. Esta pode ocorrer devido alterações na enzima existente tornando-a mais eficaz na degradação dos inseticidas, ou pelos mecanismos reguladores, que aumentam a produção de enzimas já disponíveis em insetos suscetíveis (Brogdon and McAllister, 1998).

As principais enzimas envolvidas na resistência metabólica (metabolismo de xenobióticos) são as de Fase 1, monooxigenases dependentes de citocromo P450 e esterases; e as de Fase 2, glutathione S-transferases. As enzimas de Fase 1 atuam na fase inicial da detoxificação reconhecendo e atuando diretamente sobre o inseticida. Estas adicionam um grupo polar reativo na molécula, seja por oxidação (monooxigenases) ou adição de água (esterases) o que dá origem a substrato para as enzimas de Fase 2 (glutathione S-transferases), que são responsáveis pela transferência de moléculas para o

substrato contribuindo para sua solubilização (Braga and Valle, 2007b; Buss et al., 2002; Figueira-Mansur et al., 2013).

As enzimas Monooxigenases dependentes de citocromo P450, são associadas com o metabolismo oxidativo aumentado, considerado como o principal mecanismo de resistência para quase todas as classes de inseticidas (Scott, 1999), inclusive para os IGRs. As esterases ou hidrolases são enzimas que catalisam a reação de hidrólise (Brogdon and McAllister, 1998). Já as glutathione S-transferases (GST), são enzimas multifuncionais que detoxificam um grande número de xenobióticos (Hemingway and Ranson, 2000).

Nos IGRs, mesmo atuando de maneira diferente dos tradicionais inseticidas, também foram detectados indícios de resistência em insetos sobre esses compostos (Brogdon and McAllister, 1998). Foi identificado que as monooxigenases podem fornecer resistências aos IGRs inibidor da síntese de quitina, diflubenzuron, em larvas de moscas de ovelhas (Kotze et al., 1997), assim como ao análogo do hormônio de crescimento, pyriproxyfen, em moscas domésticas (Cerf and Georghiou, 1974; Zhang et al., 1998).

A variedade de opções de mecanismos pode ocasionar resistência a mais de um inseticida, sendo da mesma classe ou não, esse fenômeno é chamado de resistência cruzada. O registro de populações de insetos com diversos mecanismos de resistência a vários produtos simultaneamente, devido o uso de diversos inseticidas, é conhecido como resistência múltipla (Valle et al., 2015).

A resistência a produtos convencionais e o potencial desenvolvimento de resistência a IGRs indicam a necessidade da ampliação do conhecimento e manipulação dos fatores que podem retardar a evolução da resistência, pelos programas de controle de vetores (Resende and Gama, 2006; Braga and Valle, 2007b).

As alternativas para retardar a evolução da resistência e permitir a reposição de indivíduos suscetíveis são simples, basta priorizar o controle mecânico, evitar o uso contínuo de inseticidas ou realizar rodízio destes que possuam mecanismos de ação diferentes (Valle et al., 2015).

Estes compostos utilizados no controle de vetores de doenças, como os larvicidas, eventualmente são usados nos espaços urbanos. No entanto, também podem chegar ao meio aquático pelo escoamento superficial e infiltração no solo, embora tendo diluição de seu conteúdo (Valle et al., 2015). Essa contaminação pode ocorrer, por exemplo, por

enchentes causadas pelas chuvas colocando em risco os organismos aquáticos que ali habitam e que não são alvos destes produtos (Glover et al., 2007).

1.6 Organismos não-alvos

A preocupação com a segurança humana e ambiental com a contaminação química nos efluentes têm gerado grandes discussões, e uma metodologia indicada para uso global para avaliar tais impactos é o Teste de Toxicidade em Embriões de Peixes – FET (Fish Embryo Toxicity Test) (Embry et al., 2010). Este teste tem como objetivo a observação dos efeitos causados por compostos químicos disponíveis nos efluentes, sobre organismos aquáticos não-alvos (Nagel, 2002).

Os embriões de peixe-zebra (*Danio rerio*) (Figura 11) têm sido muito utilizados por diversos países para a realização de teste de toxicidade que procuram avaliar impactos que possam ser gerados por componentes químicos do petróleo, agrotóxicos, herbicidas e inseticidas (Alves et al., 2017; Nakagome et al., 2007, Rodrigues, 2007; Thellmann et al., 2017).

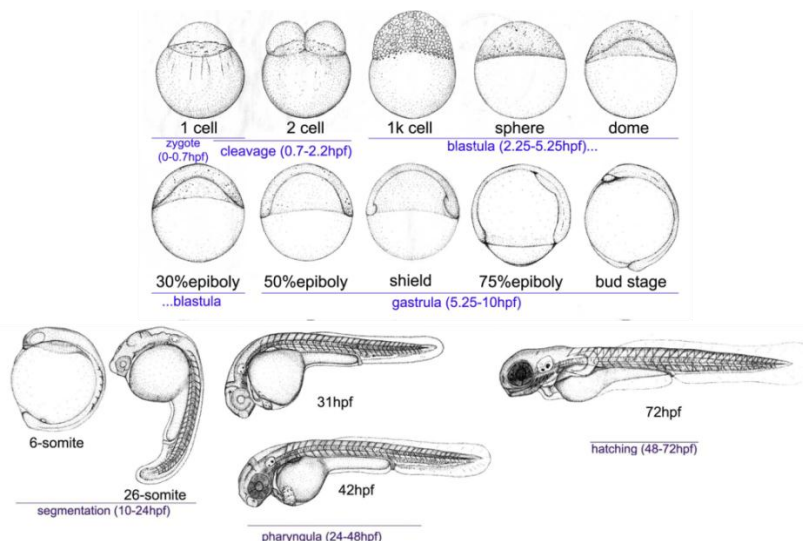


Figura 11. Desenvolvimento embrionário de *D. rerio* desde a primeira célula até o período de 72 horas pós-fertilização. O desenvolvimento completo leva aproximadamente 96 horas. Adaptado de: Kimmel, Ballard et al. 1995.

O peixe-zebra (Figura 12) é um teleosteo pertencente à família Cyprinidae, possui tamanho entre 3-5 cm, crescimento rápido e sua maturidade sexual ocorre por volta de três meses. Esta espécie dentre os vertebrados-modelo é a que apresenta menor custo de

manutenção e menor esforço para mantê-las saudáveis no laboratório. Uma fêmea consegue depositar entre 50-200 ovos por dia, em condições ideais, tendo fecundação externa (Hill et al., 2005).

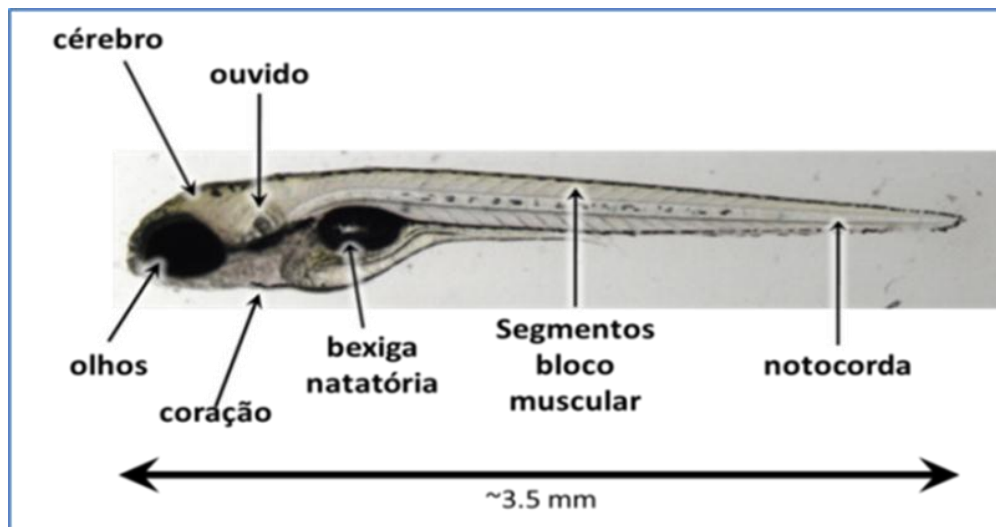


Figura 12. Estágio larval do peixe zebra com 96 horas de desenvolvimento pós-oviposição com descrição de suas principais características morfológicas. Adaptado de: Silva 2015.

O *D. rerio* teve seu genoma sequenciado permitindo que diversos estudos genéticos fossem desenvolvidos (Stern and Zon, 2003). Seu genoma possui alto grau de similaridade com os genomas de humanos e de camundongos. Pesquisas relacionadas com genes humanos são cada vez mais desenvolvidas utilizando este modelo (Barbazuk et al., 2000). Segundo Sant'Anna, 2009, esta espécie de peixe, quando exposto a produtos químicos pode ser capaz de absorver de forma rápida os compostos presentes na água e desta forma acumulá-los em diversos tecidos como fígado e o cérebro.

Estudo utilizando peixe-zebra como modelo mostrou efeitos de agrotóxicos sobre o crescimento e alterações histopatológicas nas brânquias destes organismos. As alterações histológicas estavam relacionadas à proliferação celular, dilatação de capilares, deslocamento de epitélio branquial, além de aneurismas e fusão de lamelas (Rodrigues, 2007).

De acordo com Nakagome et al., 2007, agrotóxicos, herbicidas e inseticidas, em concentrações próximas das usadas em campo apresentam ação tóxica sobre organismo não-alvo, como foi visto no estudo realizado com o peixe *D. rerio*.

O modo de ação dos inseticidas é responsável pela sua toxicidade no meio aquático em organismos não-alvo, tais como peixes e anfíbios. Estes organismos são mais sensíveis aos inseticidas neurotóxicos, que contém substâncias artificiais. Embora a maioria dos IGRs sejam poucos ou não tóxicos para os peixes, já foi visto que o inibidor da síntese de quitina, diflubenzuron, sobre peixe zebra e truta têm CL50 <1 mg / L (Sanchez-Bayo, 2012).

Considerando-se que ações antrópicas têm contribuído para a degradação ambiental e resultado em eventos como o aumento de arboviroses transmitidos por vetores, informações adquiridas ao longo deste estudo irão contribuir para o melhor entendimento da prevalência do *Ae. aegypti* na cidade de Macaé, efeito do IGR em organismos não-alvo e ainda auxiliar políticas públicas quanto a tomadas de decisões sobre controle e manejo do vetor.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Estudar os fatores que contribuem para frequência de mosquitos culicídeos nos bairros Lagomar e Praia do Pecado em Macaé.

2.2. Objetivos específicos

(A) Coletar e identificar ovos e larvas de mosquitos no Lagomar, Praia do Pecado e na Lagoa Imboassica;

(B) Analisar a influência de fatores abióticos (pluviosidade, temperatura, umidade) com medições realizadas pelo INMET sobre a dinâmica populacional;

(C) Mapear a distribuição dos culicídeos ao longo dos bairros estudados;

(D) Realizar bioensaios com larvicidas utilizados atualmente pelo município em organismos alvos e não-alvos.

3. PERGUNTA 1

Tendo em vista diferenças entre as condições socioambientais entre os bairros, Lagomar e Praia do Pecado, existe diferença entre a prevalência das espécies de mosquitos?

4. METODOLOGIA

4.1 Área Experimental

O estudo foi realizado no município de Macaé (Figura 13) localizado ao Norte do Estado do Rio de Janeiro. Foram selecionados dois bairros para a realização deste estudo: Lagomar, escolhido devido a avaliação de seus altos índices entomológicos encontrados no LIRAA (Levantamento de Índice Rápido para *Ae. aegypti*) realizado pelo Centro de Controle de Zoonoses de Macaé; e Praia do Pecado que contém baixos índices entomológicos, porém sempre há alagamentos devido ao transbordamento da Lagoa Imboassica em épocas de chuva.

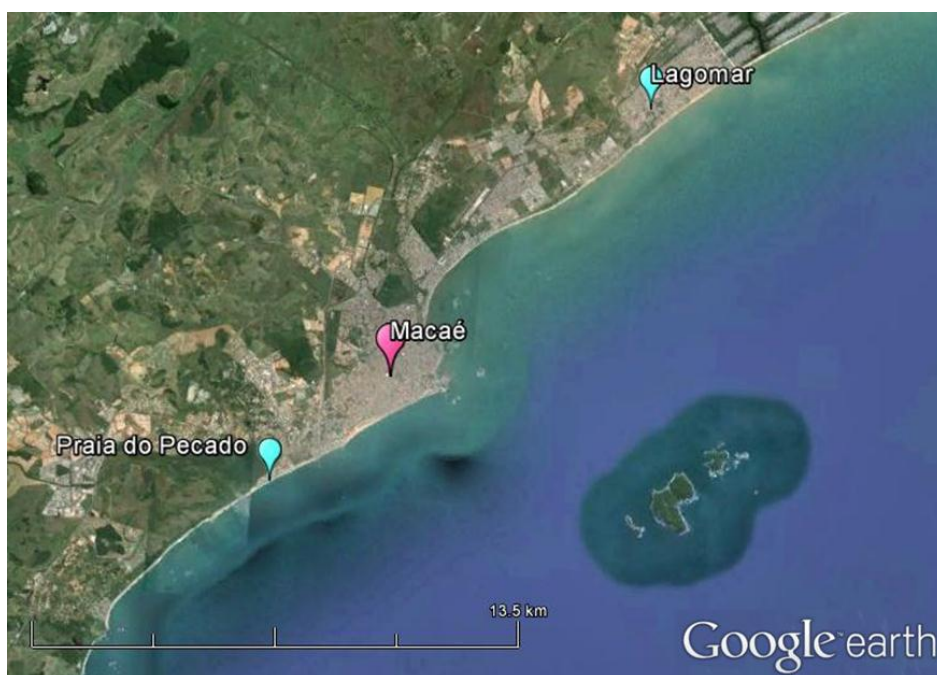


Figura 13. Mapa indicando a localização dos bairros estudados, Lagomar e Praia do Pecado em azul, no município de Macaé em rosa. Imagem modificada a partir do Google earth.

4.2 Coletas nos bairros (ovitrampas)

As coletas nos bairros, Lagomar e Praia do Pecado foram realizadas nos meses: Julho/2015 (período considerado de seca), março/2016 (período de chuva), julho/2016 (período de seca) e outubro/2016 (período de chuva). Utilizaram-se 10 armadilhas para captura de ovos (ovitrampas) que foram instaladas em imóveis próximos a corpos hídricos no bairro Lagomar (Figura 14) e no bairro Praia do Pecado (Figura 15). A localização dos pontos das coletas foi feita através do registro de coordenadas geográficas no local dos imóveis onde foram instaladas as armadilhas, utilizando-se o GPS da marca Garmin e modelo etrex 20x. Ovitrapas são armadilhas capazes de fornecer dados úteis sobre a distribuição espacial e temporal (sazonal) dos mosquitos numa determinada região (Braga and Valle, 2007cb).



Figura 14. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas no bairro Lagomar associados aos corpos hídricos. Os balões vermelhos, numerados de um a dez, indicam os pontos de coletas; e os apontadores em amarelo indicam os corpos hídricos do bairro: Canal Macaé – Campos; brejos; Lagoa dos Patos (local assim denominado pelos moradores) e um braço da Lagoa Cabiúnas. Imagem modificada a partir do Google earth.



Figura 15. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas no bairro Praia do Pecado associados aos corpos hídricos. Os balões vermelhos numerados de um a dez indicam os pontos de coletas e os apontadores em amarelo indicam os corpos hídricos do bairro: Lagoa Imboassica e braço da lagoa. Imagem modificada a partir do Google earth.

As ovitrampas constituíram-se de potes de plástico preto (11cm de diâmetro por 11cm de altura) contendo água limpa, uma palheta de madeira parcialmente mergulhada na água e presa na borda por um elástico (Figura 16). As armadilhas ficaram expostas nos imóveis por sete dias, após este período foram retiradas e verificadas presenças de larvas e pupas em seu interior.



Figura 16. Armadilha para captura de ovos de mosquitos (ovitrampa). Estes tipos de armadilhas são capazes de fornecerem dados úteis sobre a distribuição espacial e sazonal dos mosquitos numa determinada região.

As larvas encontradas foram coletadas e fixadas em álcool 70% e juntamente com as palhetas foram levadas ao LICM (Laboratório de Ciências Morfofuncionais) do NUPEM/UFRJ. No laboratório as larvas foram identificadas, as paletas feitas à verificação de presença ou ausência de ovos e ainda a quantificação destes. A quantidade dos ovos coletados juntamente com a marcação da localização das coordenadas geográficas dos locais das coletas integrou o banco de dados usados para a montagem dos mapas de densidade de ovos.

O mapa de Kernel é muito utilizado na área da saúde, principalmente na epidemiologia, pois tem como objetivo identificar áreas com maior densidade de eventos ou concentração de casos suspeitos de doenças, como por exemplo, a dengue (Pimenta-JR, 2015). Para a montagem do mapa foi necessário calcular a estimativa de Kernel (Brasil, 2007) com um raio de influência de 500m para o bairro Lagomar e de 100m para Praia do Pecado. O programa ArcGis 10.1 foi utilizado para montar os mapas elaborados pela Dra. Izabel Cristina dos Reis do Nosmove/Fiocruz-LATHAMA/IOC-Fiocruz.

4.3 Fatores Abióticos

Os dados de fatores abióticos investigados (temperatura, pluviosidade e umidade relativa do ar) foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) de acordo com as datas das coletas dos bairros Lagomar e Praia do Pecado. Foi confeccionada uma tabela contendo os dados abióticos e a quantidade dos ovos coletados nas ovitrampas com objetivo de analisar uma possível correlação entre esses dados.

4.4 Dados do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ)

Foram realizadas análises quanto ao banco de dados contendo as informações do Levantamento Rápido de Índice para *Ae. aegypti* (LIRAA) desde Janeiro de 2011 até Outubro de 2016.

Os LIRAA's foram realizados a cada dois meses pelos Agentes de Combate as Endemias do CCZ, nas áreas (bairros) do município de Macaé. Neste levantamento

apenas larvas de *Ae. aegypti* foram identificadas, pois contabiliza-se o número de focos e de residências para se chegar ao índice entomológico.

O índice de Breteau mede a razão do número de recipientes positivos para cem casas pesquisadas. É usado na estimativa da densidade da espécie alvo. Outra forma de medir é o Índice de Infestação Predial (IIP), neste mede-se a positividade do *Ae. aegypti* em áreas urbanas a partir da coleta de larvas, uma vez que calcula o percentual de casas infestadas pela larva do mosquito (Gomes, 1998). Os valores destes índices são definidos como < 1% considerado satisfatório, de 1 a 3,9% alerta e > 3,9% considerado risco de epidemia. A quantidade de larvas coletadas no imóvel não é necessariamente contabilizada, o importante é detectar se o foco coletado é positivo (*Ae. aegypti*) ou não.

4.5 Coletas na Lagoa Imboassica

As coletas foram realizadas nos meses de Agosto e Dezembro do ano de 2015, e Abril e Julho de 2016. Os pontos das coletas dentro da Lagoa Imboassica estão associados às moitas de Tifas e Gigogas, onde há pontos de recebimento de efluentes domésticos e ou industriais.

Foram utilizados seis pontos (Figura 17), um utilizado como controle por estar afastado do recebimento de esgoto vindo da área urbana e cinco próximos a área urbana, tendo grande fluxo de esgoto.

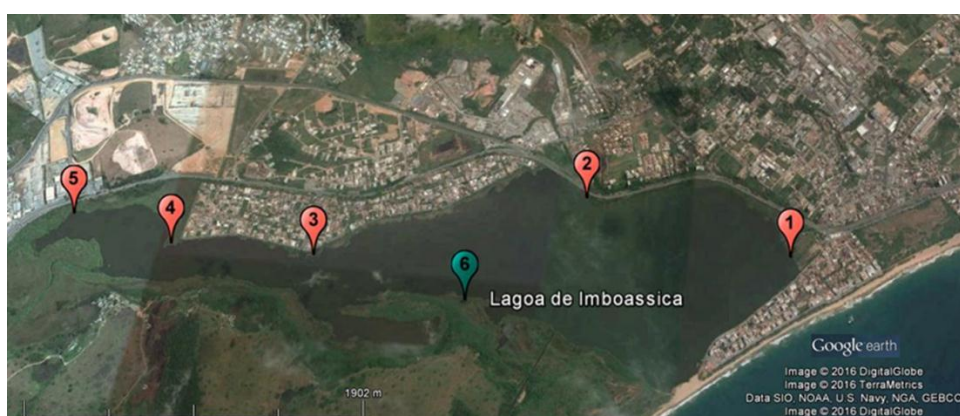


Figura 17. Mapa indicando a localização dos pontos de coletas na Lagoa Imboassica. Os pontos das coletas estão associados às moitas de Tifas e Gigogas, plantas aquáticas, onde há pontos de recebimento de efluentes domésticos e ou industriais, balões vermelhos; e o ponto controle, balão azul, por estar mais afastado da área urbana e de emissões diretas de efluentes. Imagem modificada a partir do Google earth.

As larvas e pupas coletadas com auxílio de uma concha entomológica e de pipeta pasteur foram fixadas em álcool 70 %. Todo material coletado foi levado para identificação no LICM.

4.6 Identificação do material coletado em campo

As paletas retiradas das ovitrampas, obtidas das coletas nos imóveis, foram analisadas individualmente na lupa Olympus SZ2-LGCL para a quantificação dos ovos, caso estivessem presentes. Aquelas contendo ovos foram colocadas em estufa BOD a 28°C em bandejas plásticas contendo 1,5 litros de água destilada e 1,0g de comida para camundongo macerada (Bio Base Alimentação Animal Ltda), por aproximadamente 3 dias para que ocorresse a eclosão e desenvolvimento larval, até o instar de L3. Neste instar, as larvas foram montadas em lâminas sob o microscópio óptico Nikon modelo 80i e identificadas. As larvas e pupas coletadas dentro da Lagoa Imboassica também foram identificadas conforme descrito anteriormente. Para identificação dos espécimes foram utilizadas chaves dicotômicas contidas em Consoli and Oliveira, 1994, Forattini, 1965, Forattini, 1996 e Pinho, 2008.

Após serem identificadas, as larvas da espécie *Ae. aegypti* coletadas em campo foram utilizadas para a realização de bioensaios com larvicidas e alguns espécimes fotografados com auxílio da lupa Leica M205.

5. RESULTADOS

5.1 Coletas nos bairros (ovitampas)

O objetivo das coletas utilizando ovitampas foi verificar a presença de espécies de culicídeos, quantidade de ovos e dispersão nos bairros. A partir dos dados obtidos buscou-se observar, por meio de mapas, as áreas nos bairros com maior densidade de ovos do vetor.

As coletas realizadas neste estudo levaram a um total amostral de 2.149 ovos, sendo coletados no bairro Lagomar 1.537 ovos, enquanto Praia do Pecado 612 ovos (Figura 18). As coletas ocorreram nos seguintes meses: julho/2015, março/2016, julho/2016 e outubro/2016.

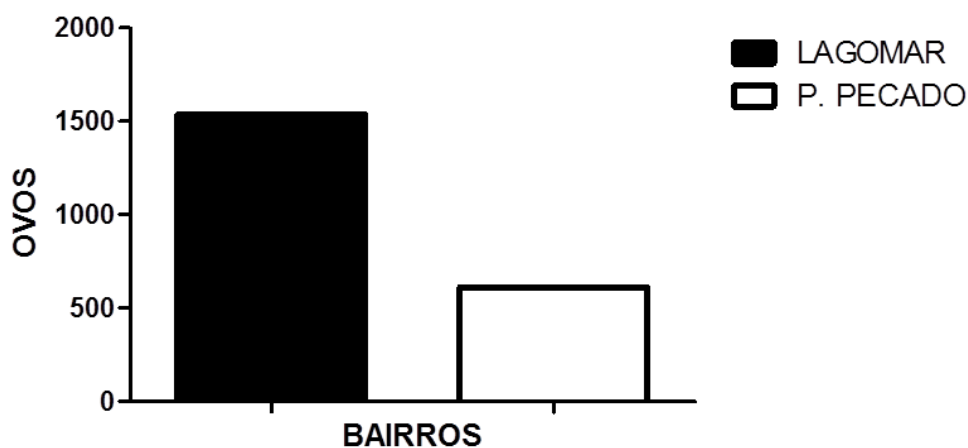


Figura 18. Quantidade de ovos coletados em cada bairro estudado. O Lagomar (barra preta) apresentou 1.537 ovos, enquanto Praia do Pecado (barra branca) 612 ovos.

A seguir, os dados da tabela 1 são da ocorrência de ovos das ovitampas do bairro Lagomar. Foi verificada a ocorrência em todas as quatro coletas, porém o período de seca, referente aos meses de Julho/2015 e Julho/2016, foi o que mais apresentou, totalizando 822 ovos. Já o período de chuva, meses de março e outubro de 2016, apresentou uma quantidade de 715 ovos (Figura 19).

Tabela 1. Quantidade de ovos coletados no bairro Lagomar nos períodos de seca e de chuva.

Pontos	Seca_julho2015	Chuva_março2016	Seca_julho 2016	Chuva_outubro2016
1	60	73	19	86
2	0	61	0	0
3	350	57	32	17
4	28	39	0	78
5	130	0	0	0
6	0	70	132	76
7	0	12	0	Perdi*
8	0	5	0	0
9	0	75	60	0
10	11	66	0	0
TOTAL	579	458	243	257

*Ovitampa não verificada por motivo de extravio.

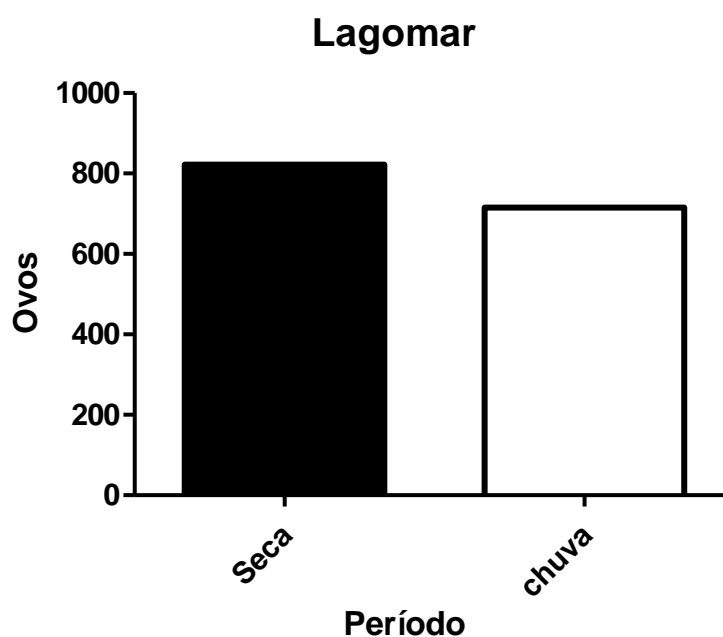


Figura 19. Distribuição de ovos coletados nos períodos de seca (barra preta) e chuva (barra branca) no bairro Lagomar. O período de seca foi o que mais apresentou ovos, tendo 822 ovos; já o período de chuva teve 715 ovos.

As análises realizadas usando o estimador de Kernel para o Lagomar, considerando um raio de 500m, forneceram dados para a montagem do mapa Kernel, onde foi possível se identificarem áreas de baixa, média e alta densidade de ovos de culicídeos por sazonalidade. O Período de seca referente ao mês de julho/2015, foi observado maior ocorrência de ovos em três pontos bem distantes, sendo o ponto 3 (próximo ao Canal Campos-Macaé) verificado alta densidade e o ponto 5 (local do terreno da UFRJ onde possui uma área de brejo) tendo uma média densidade de ovos (Figura 20 A). No período de chuva, março/2016, verificou-se grande dispersão de ovos ao longo do bairro, não tendo nenhum ponto considerado alto (Figura 20 B). Na segunda coleta de seca, mês de julho/2016, foi visto que o ponto 6 (localizado próximo a praia) apresentou uma estimativa média de ovos (Figura 20 C). Na segunda coleta do período de chuva, outubro/2016, foi vista baixa densidade de ovos (Figura 20 D).

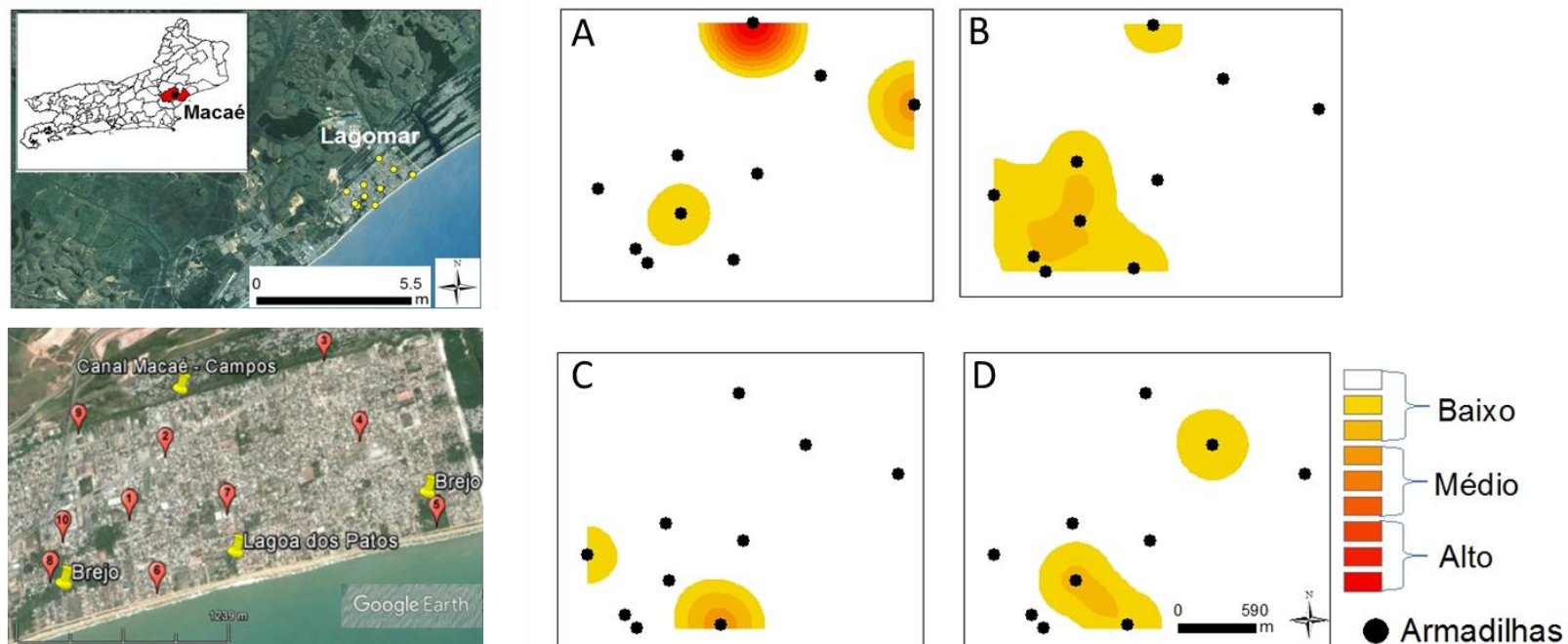


Figura 20. Mapas indicando à localização do Lagomar, pontos das coletas, a dispersão e áreas com maior densidade de ovos no bairro (Mapas de Kernel). Os períodos de secas apresentaram valores entre baixo, médio e alto de aglomerações de ovos; já os períodos de chuvas apresentaram valores entre baixo e médio. A) Período de seca referente ao mês de julho/2015, com maior ocorrência de ovos em três pontos distantes, sendo no ponto 3 (próximo ao Canal Campos-Macaé) verificado uma alta densidade e o ponto 5 (local do terreno da UFRJ onde possui uma área de brejo) tendo uma média densidade de ovos. B) Período de chuva referente ao mês de março/2016, com grande dispersão de ovos ao longo do bairro, porém sem altas densidades. C) Período de seca, julho/2016, o ponto 6 (localizado próximo a praia) apresenta uma estimativa média de ovos. D) Período de chuva, outubro/2016, com baixa densidade de ovos.

No bairro Praia do Pecado, a ocorrência de ovos nas armadilhas está disponível na tabela 2. Foi verificado que a maior ocorrência de ovos se deu no período de chuva, meses de março/2016 e outubro/2016, tendo um total de 429 ovos. Já no período de seca foram coletados apenas 183 ovos, ressaltando a ausência de ovos no mês de julho/2016 (Figura 21).

Tabela 2. Quantidade de ovos coletados no bairro Praia do Pecado nos períodos de seca e chuva.

Pontos	Seca_julho2015	Chuva_março2016	Seca_julho 2016	Chuva_outubro2016
1	0	106	0	25
2	0	26	0	4
3	167	13	0	0
4	16	88	0	0
5	0	47	0	0
6	0	0	0	Perdi*
7	0	0	0	67
8	0	0	0	26
9	0	0	0	0
10	0	27	0	Perdi*
TOTAL	183	307	0	122

*Ovitampa não verificada por motivo de extravio.



Figura 21. Distribuição de ovos coletados nos períodos de secas (barra preta) e chuvas (barra branca) no bairro Praia do Pecado. Neste bairro observa-se que a quantidade de ovos nos períodos de secas é inferior a 200, enquanto que nos períodos de chuvas é superior a 400 ovos.

Para o bairro Praia do Pecado também foram feitas análises usando o estimador de Kernel, considerando um raio de 100m, para identificar áreas de baixa, média e alta densidade de ovos de culicídeos. O Período de seca, julho/2015, foi observado alta densidade de ovos no ponto 3 (ponto localizado dentro de uma obra de prédio) (Figura 22 A). No período de chuva, março/2016, foi identificado alta densidade nos pontos 1 e 3, tendo grande dispersão de ovos no bairro (Figura 22 B). Período de chuva referente ao mês de outubro/2016 mostrou pontos com densidade de ovos entre baixa e média (Figura 22 C). Relembrando a ausência de ovos nas ovitrampas no período de seca em julho/2016.

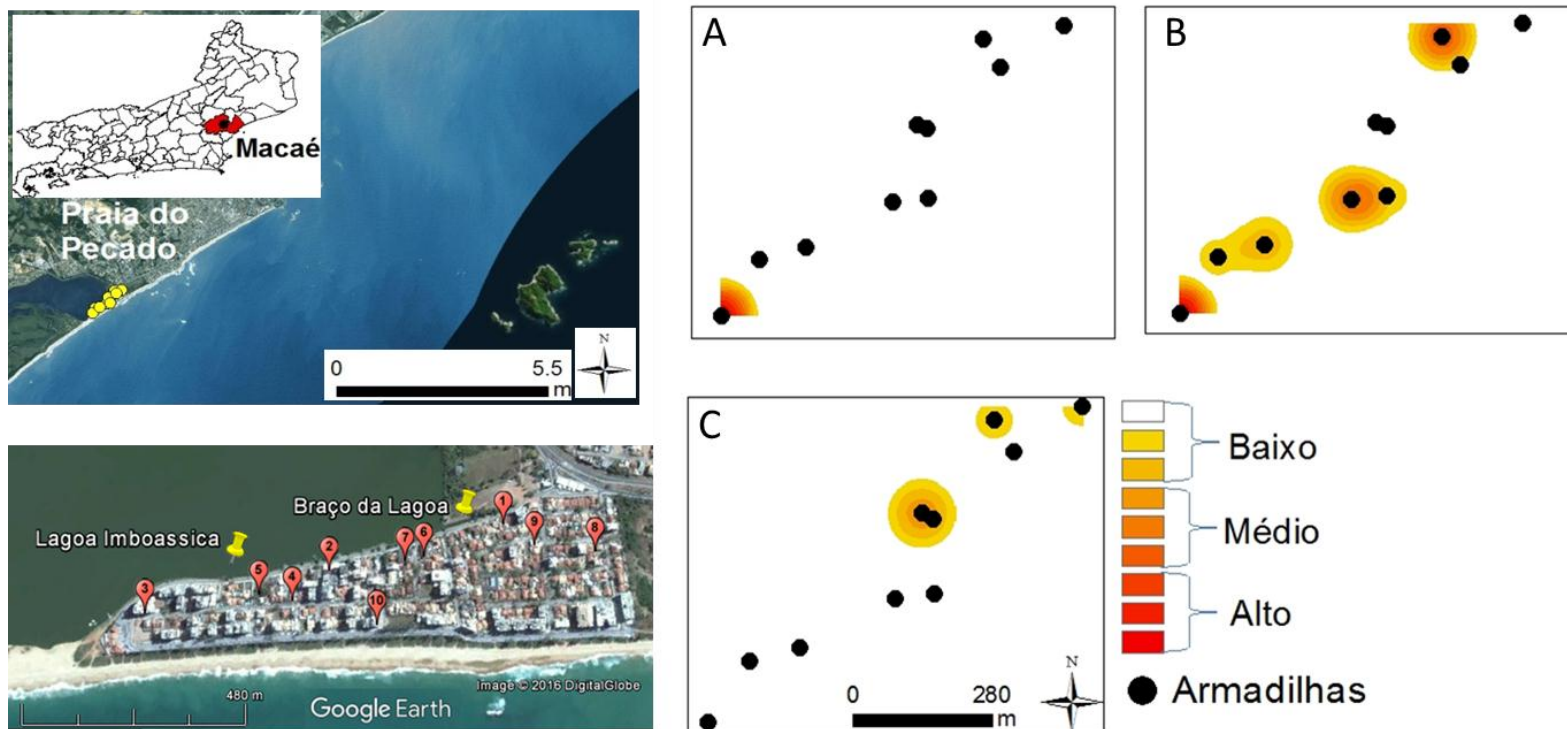


Figura 22. Mapas indicando à localização do bairro Praia do Pecado, pontos das coletas, a dispersão e áreas com maior densidade de ovos (Mapas de Kernel). A) Período de seca, mês de julho/2015, com alta densidade de ovos no ponto 3 (ponto localizado dentro de uma obra de prédio). B) Período de chuva referente ao mês de março/2016, tendo alta densidade nos pontos 1 e 3, com grande dispersão de ovos no bairro. C) Período de chuva, outubro/2016, pontos com densidade de ovos entre baixa e média. Em julho/2016, período de seca, não foi registrado a presença de ovos nas ovitrampas.

As larvas eclodidas dos ovos coletados nas ovitrampas foram identificadas como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. A primeira coleta ocorrida no período de seca, julho/2015, ambos os bairros apresentaram apenas a espécie *Ae. aegypti* (Figura 23 A e B). No período de chuva, março/2016, os bairros apresentaram as duas espécies. Embora o Lagomar tenha apresentado mais pontos contendo *Ae. albopictus* (Figura 23 C) do que Praia do Pecado (Figura 23 D), a quantidade de pontos contendo *Ae. aegypti* foi igual pra ambos. Dos 243 ovos coletados em julho/2016, período de seca, no Lagomar, apenas uma larva de *Ae. aegypti* eclodiu (Figura 23 E), ressaltando que estes foram colocados para eclodir seis meses após a coleta. E referente a este mesmo período, Praia do Pecado, não teve ocorrência de ovos (Figura 23 F). Na última coleta realizada, período de chuva, em outubro/2016 ambos os bairros apresentaram as espécies do gênero *Aedes* (Figura 23 G e H). Destaca-se que nos períodos chuvosos, ambos os bairros apresentaram as espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e em alguns pontos ocorreu uma sobreposição entre essas espécies.

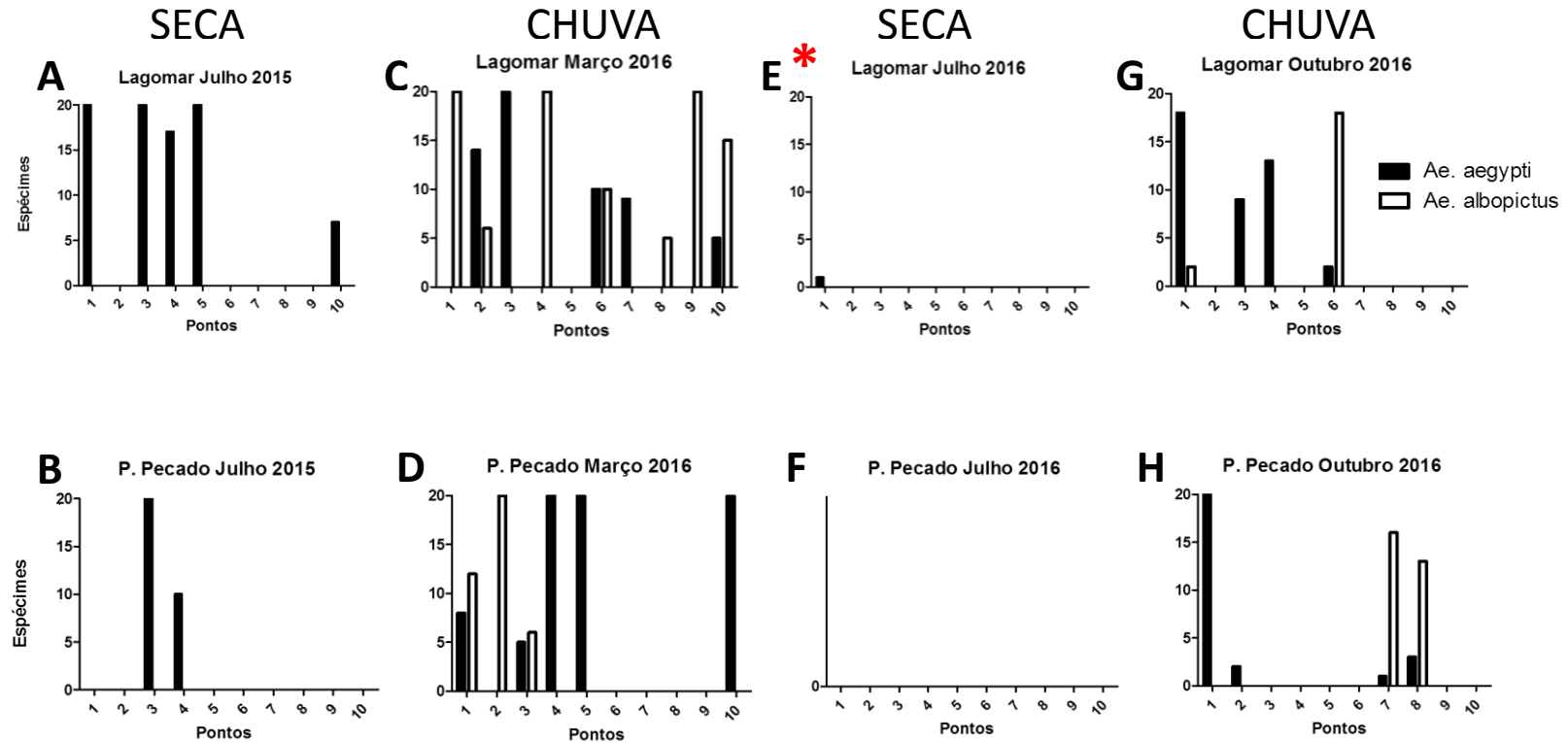


Figura 23. Registro da presença dos vetores de doenças, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, em grande parte das coletas realizadas nos bairros Lagomar e Praia do Pecado. Foram identificadas vinte larvas dos ovos eclodidos de cada palheta. A) Lagomar no período de seca, julho/2015, cinco pontos apresentaram indivíduos da espécie *Ae. aegypti*. B) Praia do Pecado no período de seca, julho/2015, contendo *Ae. aegypti* em apenas dois pontos. C) Predomínio da espécie *Ae. albopictus* em sete dos dez pontos coletados, no período de chuva, março/2016, no Lagomar. D) Predomínio de *Ae. aegypti* no período de chuva, março/2016, Praia do Pecado. (E) Em destaque, o Lagomar, no período de seca, julho/2016 teve a eclosão de apenas uma larva de *Ae. aegypti* dos 243 ovos coletados. (F) Ausência de ovos no período de seca, julho/2016, na Praia do pecado. (G) e (H) Presença de *Ae. aegypti* em todos os pontos que foram coletados ovos, em ambos os bairros no período de chuva, outubro/2016.

5.2 Fatores Abióticos

As médias dos dados abióticos da cidade de Macaé nos meses em que as coletas foram realizadas estão disponíveis na tabela 3.

Tabela 3. Dados abióticos da cidade de Macaé referente aos meses de coletas nos bairros.

Localidade	Período	Mês/Ano	Temperatura do ar (C°)	Umidade Relativa (%)	Pluviosidade (mm)
MACAÉ	Seca	Julho de 2015	21.9	79	0.0
	Chuva	Março de 2016	26.0	80	0.1
	Seca	Julho de 2026	21.1	75	0.0
	Chuva	Outubro de 2016	22.5	79	0.1

Dados abióticos fornecidos pelo INMET. Tabela organizada por Alvarenga, A. S., 2016.

A seguir, os dados de temperatura, umidade e pluviosidade, na qual as medições foram realizadas uma semana antes, no dia e uma semana após a instalação das armadilhas estão disponíveis na tabela 4.

Tabela 4. Dados abióticos referentes ao dia da instalação das ovitrampas nos bairros e a quantidade de ovos obtidos.

Bairro	Período	Data Coleta	Temperatura do ar (C°)	Umidade Relativa (%)	Pluviosidade (mm)	Ovos Coletados
Lagomar	Seca	23/07/2015	19.7	85	0.0	579
		Uma semana antes	22.1	77	0.0	
		Uma semana depois	21.2	87	0.1	
	Chuva	04/03/2016	26.8	73	0.0	458
		Uma semana antes	27.1	76	0.1	
		Uma semana depois	26.9	75	0.0	
	Seca	20/07/2016	18.3	79	0.0	243
		Uma semana antes	21.3	69	0.0	
		Uma semana depois	20.5	77	0.0	
	Chuva	19/10/2016	25.4	77	0.0	257
		Uma semana antes	25.5	73	0.0	
		Uma semana depois	23.7	81	0.0	
Praia do Pecado	Seca	31/07/2015	22.1	82	0.0	183
		Uma semana antes	21.5	87	0.1	
		Uma semana depois	21.9	76	0.0	
	Chuva	02/03/2016	24.8	83	0.0	307
		Uma semana antes	27.5	77	0.1	
		Uma semana depois	26.3	78	0.0	
	Seca	27/07/2016	23.9	66	0.0	0
		Uma semana antes	20.5	77	0.0	
		Uma semana depois	20.8	75	0.1	
	Chuva	19/10/2016	25.4	77	0.0	122
		Uma semana antes	25.5	73	0.0	
		Uma semana depois	23.7	81	0.0	

Dados abióticos fornecidos pelo INMET. Tabela organizada por Alvarenga, A. S., 2016.

5.3 Dados do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) – LIRAA

Os índices de infestação predial (percentual de casas infestadas por larva do mosquito) calculados no LIRAA, entre janeiro de 2011 e outubro de 2016, do Município de Macaé estão disponíveis na tabela 5. Em vermelho destaca-se o mês de janeiro/2014 onde o município teve índice de 4,0 considerado de risco de epidemia de dengue.

Tabela 5. Índices do LIRAA dos meses entre janeiro de 2011 a outubro de 2016 do Município de Macaé.

MÊS/ANO	2011	2012	2013	2014	2015	2016
JANEIRO	1,8	-	1,6	4,0	2,3	-
MARÇO	1,8	0,7	3,8	2,1	3,1	-
MAIO	1,3	2,0	2,8	-	2,5	1,4
JUNHO	-	-	-	2,3	-	-
JULHO	-	-	-	-	-	0,8
AGOSTO	0,2	-	1,4	1,4	-	-
OUTUBRO	0,7	1,2	1,8	1,7	2,6	1,0

Fonte: Centro de Controle de Zoonoses de Macaé – Tabela organizada por Alvarenga, A. S., 2016.

A tabela 6 demonstra os índices de infestação predial do bairro Praia do Pecado, no mesmo período que do município de Macaé. Vale ressaltar que este bairro desde janeiro de 2011 até a última campanha realizada em outubro de 2016, nunca entrou em estado de risco epidêmico.

Tabela 6. Índices do LIRAA dos meses de janeiro de 2011 a outubro de 2016 do bairro da Praia do Pecado.

MÊS/ANO	2011	2012	2013	2014	2015	2016
JANEIRO	0,9	-	2,1	0,0	1,4	-
MARÇO	2,1	1,4	1,7	0,4	0,0	-
MAIO	0,2	0,5	3,7	-	0,0	0,0
JUNHO	-	-	-	0,4	-	-
JULHO	-	-	-	-	-	0,0
AGOSTO	0,0	-	0,4	0,4	-	-
OUTUBRO	1,2	0,0	0,4	-	0,0	0,4

Fonte: Centro de Controle de Zoonoses de Macaé – Tabela organizada por Alvarenga, A. S., 2016.

Os índices do LIRAA para o Lagomar (Tabela 7) entre os anos de 2011 e 2016 mostram que por três vezes, destacado em vermelho, este bairro ficou em risco epidêmico com índices igual ou acima de 3,9%.

Tabela 7. Índices do LIRAA dos meses de janeiro de 2011 a outubro de 2016 do bairro Lagomar.

MÊS/ANO	2011	2012	2013	2014	2015	2016
JANEIRO	3,0	-	0,5	6,7	2,1	-
MARÇO	0,9	0,5	3,2	2,8	3,1	-
MAIO	2,3	2,6	3,9	-	3,2	2,7
JUNHO	-	-	-	4,2	-	-
JULHO	-	-	-	-	-	1,0
AGOSTO	0,7	-	3,2	0,7	-	-
OUTUBRO	0,9	2,3	2,5	-	2,6	1,6

Fonte: Centro de Controle de Zoonoses de Macaé – Tabela organizada por Alvarenga, A. S., 2016.

5.4 Coletas na Lagoa Imboassica

Os pontos dentro da lagoa que mais apresentaram espécimes de mosquitos coletados foi o 1, próximo ao bairro Praia do Pecado e os pontos 3, 4 e 5, próximos ao Mirante da Lagoa. Estes pontos estavam localizados próximos a lançamentos de esgoto na lagoa. Os indivíduos coletados pertencem à família Culicidae, porém não são integrantes do gênero *Aedes*.

5.5 Identificação das espécies coletadas

As larvas oriundas dos ovos coletados nas ovitrampas apresentaram características morfológicas localizadas na região do tórax e no oitavo segmento abdominal que foram determinantes para as suas identificações. As larvas pertencem à família Culicidae, ao gênero *Aedes* e as espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

Conforme as chaves dicotômicas e bibliografias consultadas, as larvas eclodidas dos ovos coletados nas ovitrampas identificados como *Ae. aegypti* apresentaram na região anterior quatro espículas latero-torácicas quitinizadas (Figura 24 A e B); na região posterior, cela incompleta no lóbulo anal e uma fileira linear de escamas contendo três espinhos bem definidos, no oitavo segmento abdominal (Figura 24 C e D) (Alencar, 2008; Consoli and Oliveira, 1994).

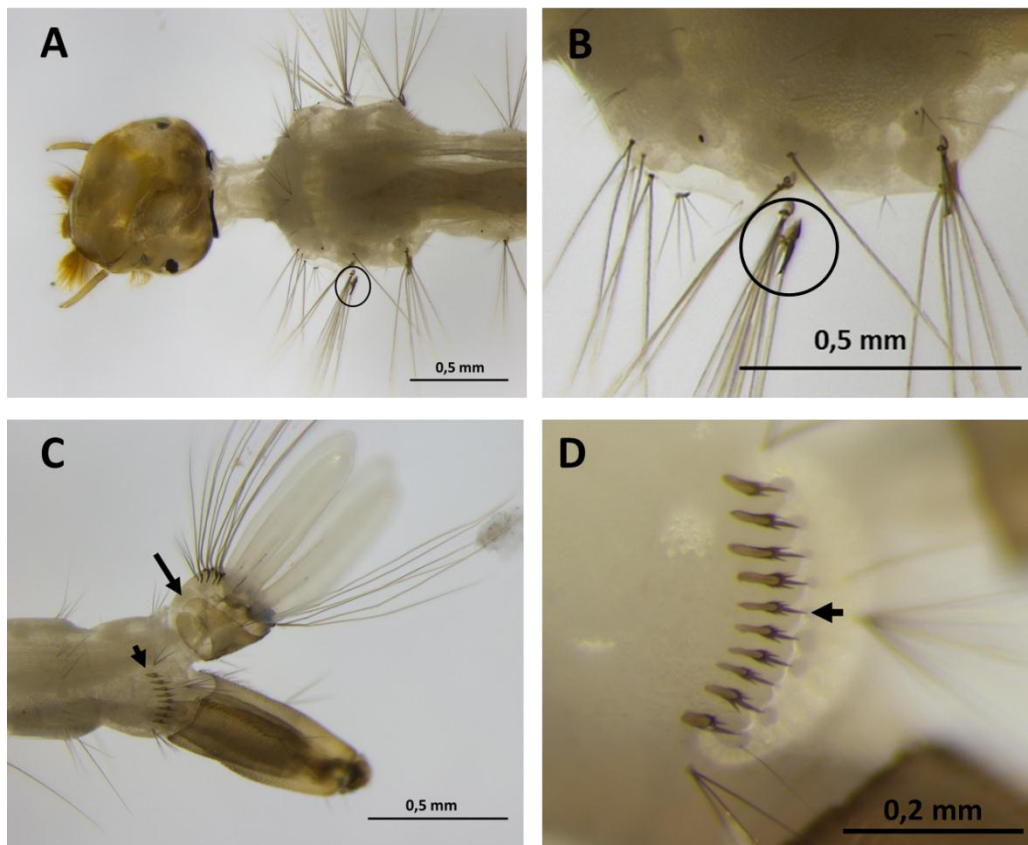


Figura 24. Características morfológicas determinantes para identificação da larva de *Ae. aegypti*. A) Região anterior, composta por cabeça e tórax, em destaque tem-se uma espícula latero-torácica quitinizadas. B) Em maior destaque a espícula latero-torácica quitinizadas. C) Região posterior, apontado com a seta tem-se a cela incompleta no lóbulo anal; e a fileira linear de escamas no oitavo segmento abdominal indicada pela cabeça de seta. D) Em maior destaque as escamas em fileira linear, contendo três espinhos bem definidos, um longo com dentes bilaterais. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

A seguir, os espécimes identificados como *Ae. albopictus*, as larvas apresentaram características semelhantes ao *Ae. aegypti*, porém contendo pequenas diferenças significativamente importantes para a identificação da espécie. Diferenças estas como as reduzidas espículas latero-torácicas quitinizadas presentes na região do tórax; na região posterior, o oitavo segmento abdominal apresentando uma fileira linear de escamas, com um único espinho longo, sem dentes laterais, apenas com pequena serrilha ou franja nas bases laterais; e ainda cela incompleta no lóbulo anal (Figura 25) (Consoli and Oliveira, 1994).

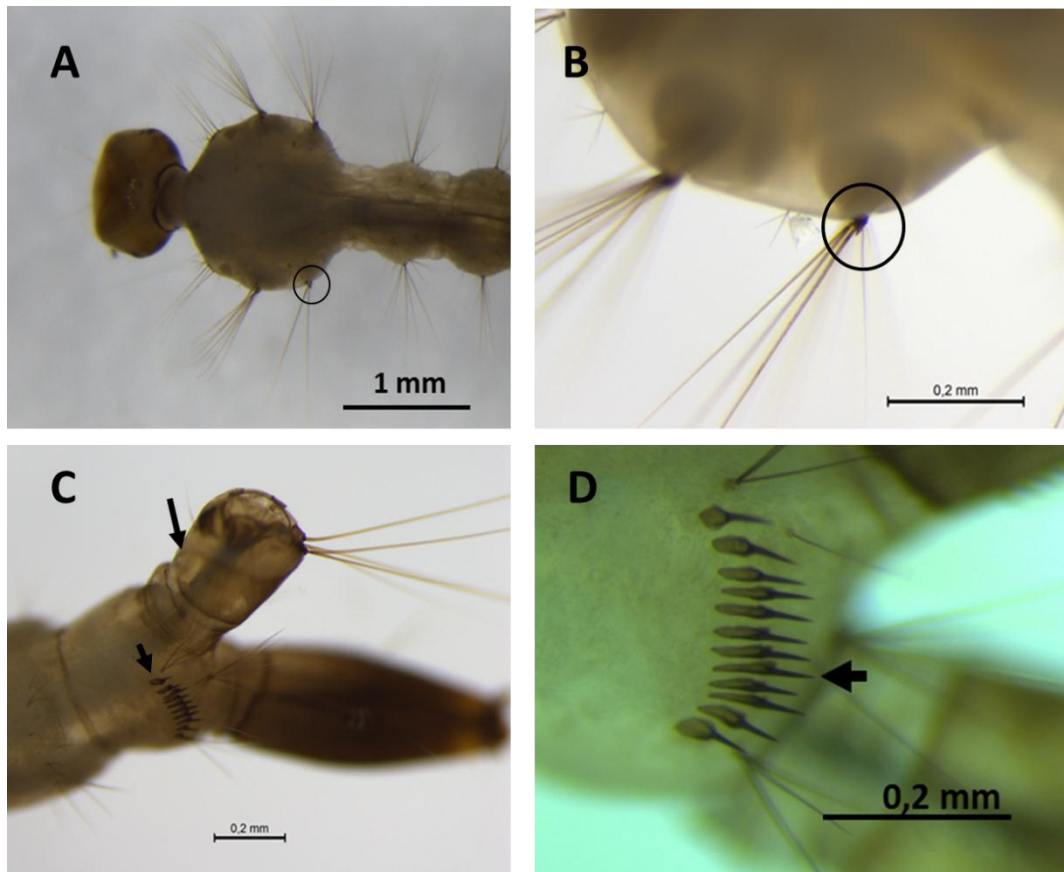


Figura 25. Características morfológicas determinantes para identificação da larva de *Ae. albopictus*. A) Região anterior, composta por cabeça e tórax, em destaque tem-se uma pequena espícula latero-torácica quitinizadas. B) Em maior destaque a pequena espícula latero-torácica quitinizada. C) Região posterior, apontado com a seta à cela incompleta no lóbulo anal; e a fileira linear de escamas no oitavo segmento abdominal indicada pela cabeça de seta. D) Fileira linear de escamas contendo espinhos centrais contendo borda serrilhada. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

Os espécimes coletados na Lagoa Imboassica foram identificados segundo as chaves dicotômicas pertencentes ao gênero *Culex* (Figura 26). As larvas identificadas possuíam sifão longo (4 ou 5 vezes o valor da largura basal), cerda 1-S constituída de 4 cerdas desenvolvidas (de comprimento igual ou maior que a largura do sifão) (Consoli and Oliveira, 1994).

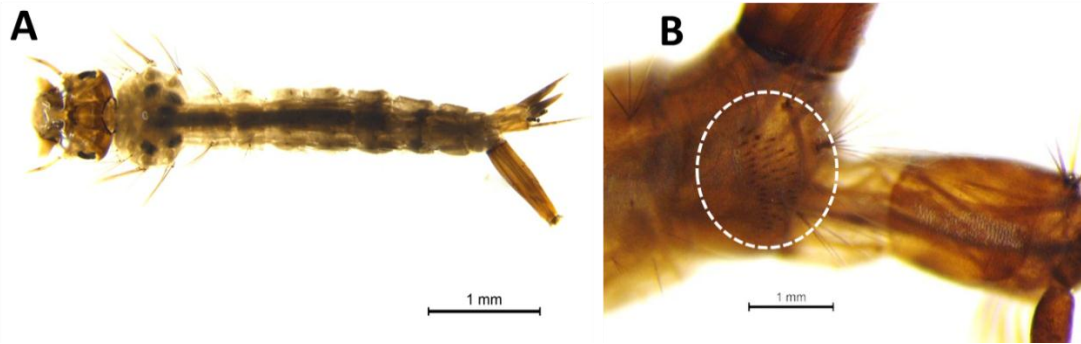


Figura 26. Larva pertencente à família Culicidae e ao gênero *Culex*, coletada na Lagoa Imboassica em pontos com recebimento de esgoto. A) Vista ventral. B) Em maior aumento, 83.7x, conjunto de escamas no oitavo segmento abdominal. Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

Algumas larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* eclodidas dos ovos coletados nas ovitrampas foram deixadas atingir o estágio de pupas, para que fossem realizadas fotos de suas principais características morfológicas, juntamente com pupas de *Culex* coletadas dentro da Lagoa Imboassica (Figura 27). Na extremidade distal do abdômen das pupas, observa-se a presença de um par de expansões denominadas paletas natatórias. Tais estruturas guiam a pupa nos seus movimentos. A margem externa destas paletas natatórias possuem cílios que auxiliam para a identificação taxonômica, assim como as cerdas localizadas no oitavo segmento abdominal (Alencar, 2008; Consoli and Oliveira, 1994; Forattini, 1965).

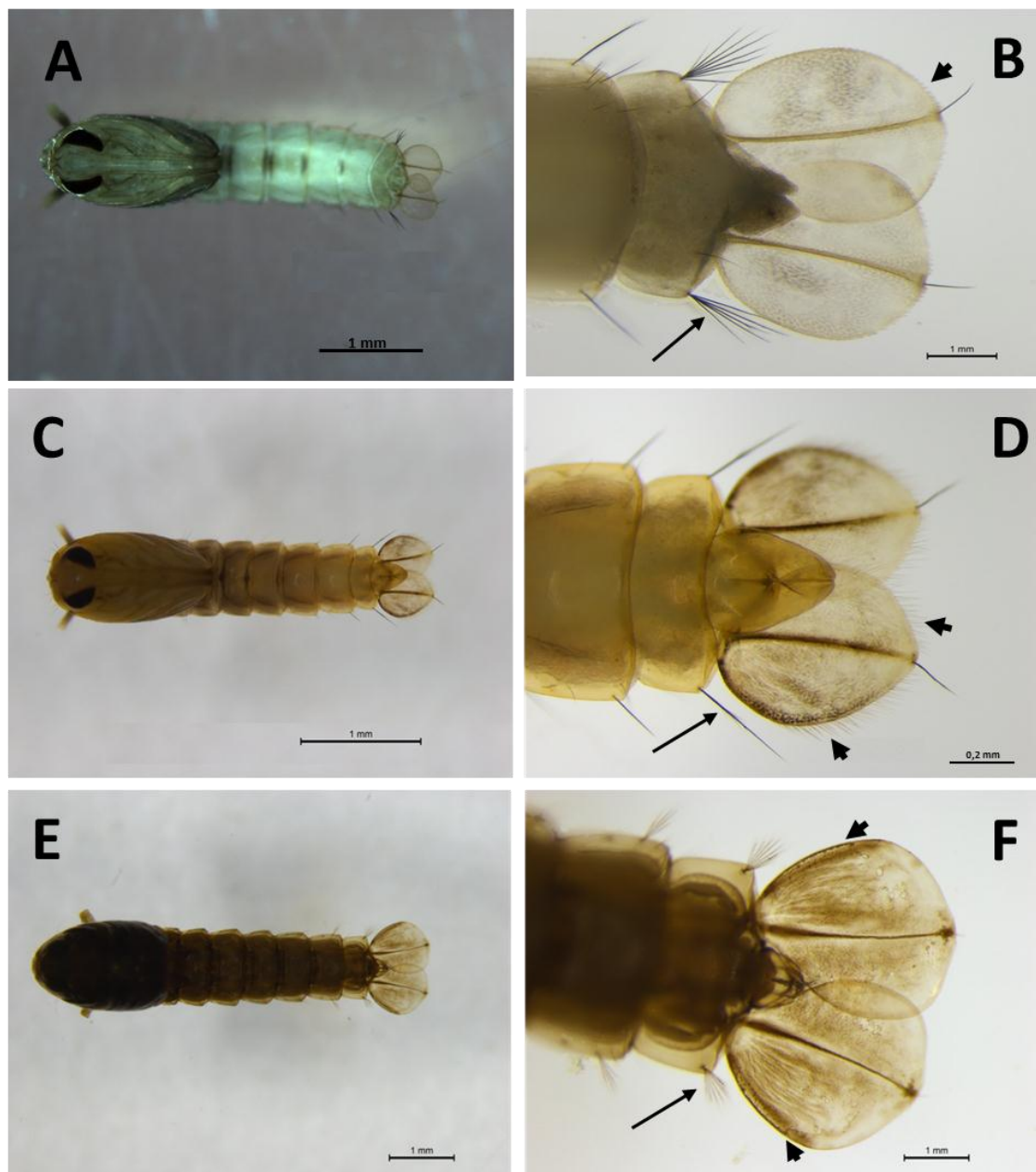


Figura 27. Características morfológicas para identificação de pupas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Culex*. A) *Ae. aegypti*, vista ventral, em aumento de 19.6x. B) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 90.8x, mostrando as cerdas múltiplas no oitavo segmento abdominal (seta) e as paletas natatórias possuindo diminutos cílios (cabeça de seta). C) *Ae. albopictus*, vista ventral, em aumento de 24x. D) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 81.6x, destacando as paletas natatórias que possuem cerdas longas (cabeça de seta) e cerda única ramificada no oitavo segmento abdominal (seta). E) *Culex sp.*, vista ventral, em aumento de 19.3x. F) Em maior destaque a região posterior abdominal, em aumento de 65.5x, destacando as paletas natatórias que não possuem cílios (cabeça de seta) e cerdas múltiplas no oitavo segmento abdominal (seta) (Alencar, 2008; Consoli and Oliveira, 1994). Fotos realizadas por Alvarenga, A. S. na Lupa Leica M205.

6. PERGUNTA 2

Os métodos de controle utilizados pelo Centro de Controle de Zoonoses em Macaé são eficientes para o controle do *Ae. aegypti*?

7. METODOLOGIA

7.1 Bioensaios com os larvicidas diflubenzuron e pyriproxyfen sobre *Ae. aegypti*

Foram realizados bioensaios com dois diferentes larvicidas, Diflubenzuron PM 25% e Sumilarv® 0,5 G (Pyriproxyfen) da Sumitomo Chemical Company Ltd., doados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Macaé. Os testes foram feitos com espécimes de *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller obtidos da colônia do laboratório de Bioquímica Hatisaburo Masuda do NUPEM/UFRJ e com espécimes coletados nos bairros.

Para a manutenção da colônia de *Ae. aegypti* – Linhagem Rockefeller, foi realizada diariamente a limpeza das gaiolas que se constituíram de potes de plástico (15cm de diâmetro com 12cm de altura), limpeza da estufa (BOD) e verificada sua temperatura (ajustada a 28°C). Para a alimentação dos mosquitos foi oferecida sacarose 10% contida em frascos de plástico, renovada a cada 3 dias. Uma vez por semana, camundongos (mantidos no Biotério de Experimentação com Roedores – BER do NUPEM/UFRJ) cujo número do protocolo de aprovação do CEUA para alimentação de mosquitos é MAC002, foram acondicionados em telas (10cm x 10cm) e postos por aproximadamente 30 minutos sobre as gaiolas dos mosquitos, para realização do repasto sanguíneo pelas fêmeas. Após 72 horas à alimentação, palhetas de papel em potes de plástico contendo água foram colocadas dentro das gaiolas para que as fêmeas fizessem a oviposição.

Para estimular a eclosão dos ovos de *Ae. aegypti* obtidos da colônia e das ovitampas coletados nos bairros, bandejas foram postas na BOD a 28°C contendo 1,5 litros de água destilada e cerca de 1,0g de ração para roedores macerada (Bio Base Alimentação Animal Ltda) por aproximadamente 3 dias. Após a eclosão, 450 larvas entre 2º e 3º estágio foram coletadas e reservadas para o uso nos ensaios com os larvicidas. A verificação da susceptibilidade de *Ae. aegypti* aos IGRs foi realizada de acordo com as especificações dos fabricantes dos larvicidas testados.

Os ensaios com o larvicida diflubenzuron necessitou de uma solução mãe que foi preparada conforme indicado pela bula do produto. Foi necessário dissolver 0,3g do produto em 100ml de água destilada. Em seguida realizadas as diluições seriadas da solução mãe para se obterem as concentrações de 0,075 µg/ml (0,1x a concentração utilizada em campo); 0,75 µg/ml (1x concentração igual à concentração de campo) e 7,5

$\mu\text{g/ml}$ (10x a concentração utilizada no campo), considerando a recomendação do fabricante de utilizar 1ml da solução mãe para cada litro de água limpa.

Para os ensaios com o Sumilarv® 0,5 G (Pyriproxyfen) formulação granulada, o fabricante recomenda utilizar 1,0g do produto para 500L de água ou 0,1g em 50L. Em seguida realizadas as diluições seriadas da solução mãe para se obterem as concentrações de 0,01 $\mu\text{g/ml}$ (1x a concentração do campo); 0,1 $\mu\text{g/ml}$ (10x mais concentrado que a concentração utilizada em campo) e 1 $\mu\text{g/ml}$ (100x mais concentrado que a concentração utilizada em campo).

Foram distribuídas 30 larvas, entre 2º e 3º estágios, em copos descartáveis de 200ml, contendo 50 ml de água destilada em triplicata, as concentrações dos larvicidas testados e ainda ração de camundongo triturada. As triplicatas do controle possuíam apenas larvas, água destilada e ração.

Os espécimes mortos, assim que observados, foram transferidos com auxílio de uma pipeta pasteur de plástico para microtubos contendo álcool 70%. Todos os espécimes imaturos, vivos e mortos, bem como a emergência de adultos foram registrados diariamente. Após os testes, larvas e pupas mortas fixadas em álcool 70% foram fotografadas na lupa Leica M205.

Para a realização destes testes foi utilizada a metodologia de bioensaios para larvas, padronizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Resende and Gama, 2006). E para a análise estatística, as variáveis foram comparadas por meio de análise de variância (ANOVA), seguido do pós-teste de Bonferroni, para comparação da mortalidade dos espécimes entre as concentrações com nível de significância $p < 0,05$.

7.2 Bioensaios com larvicida diflubenzuron sobre peixe-zebra (*D. rerio*)

Para a realização deste ensaio foi utilizado o protocolo internacional do Teste de Toxicidade em Embriões de Peixes (FET) (Figura 28). No dia anterior ao início do experimento, ao final da tarde, tanques de desova (tamanho: 12 cm de altura; 17 cm de comprimento; 1,13 cm de largura) foram postos dentro dos aquários das matrizes. Dentro dos tanques de desova foram utilizadas pedras (tipo: areia de quartzo; tamanho: 5-8 mm) como aparato estimulante; as pedras usadas são comumente comercializadas como ornamentação para aquários. O acasalamento e a desova aconteceram no dia seguinte pela manhã. Em seguida, os tanques foram retirados e a água contida dentro deles foi filtrada aglomerando os ovos, que foram colocados em uma placa petri contendo um pouco de água do aquário (Lammer et al., 2009). Em seguida, foram levados para o LICM para serem observados e triados em fertilizados e não fertilizados, com auxílio da lupa Olympus SZ2-LGCL. Para o ensaio foram utilizados 100 ovos fertilizados de peixe-zebra, sendo 20 por concentração.

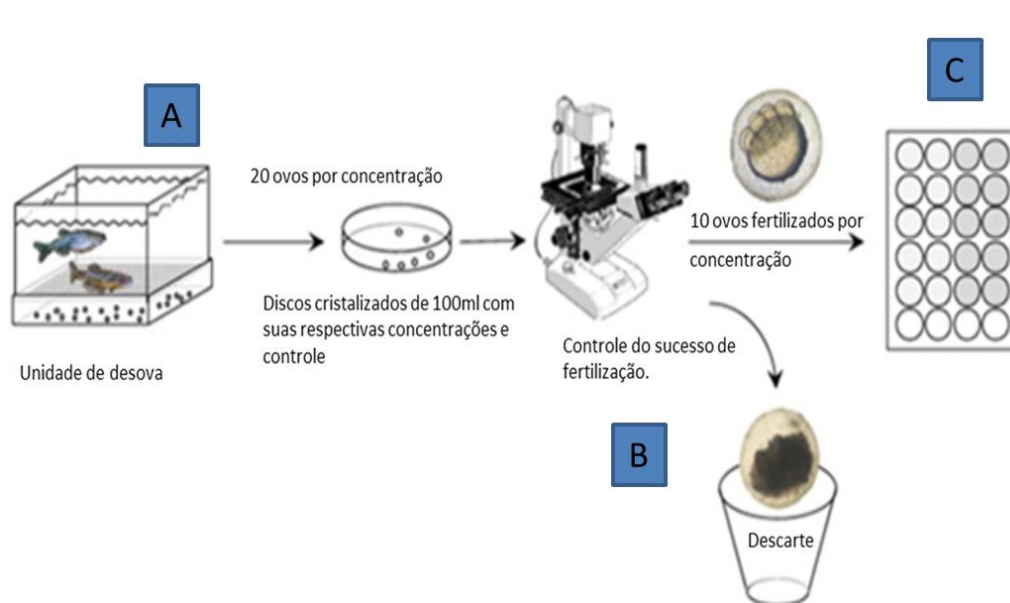


Figura 28. Esquema dos processos de realização do ensaio de toxicidade utilizando embriões de *D. rerio*. A) Coleta dos ovos; B) Separação entre fertilizados e não-fertilizados; C) Distribuição de ovos fertilizados nas placas de 24 poços contendo as soluções testes e o controle. Os ovos não fertilizados são descartados. Adaptado de Lammer et al., 2009, p. 198 (Silva, 2015).

Para os ensaios realizados com o larvicida diflubenzuron, inibidor da síntese de quitina em insetos, foi preparado uma solução mãe, sendo dissolvido 0,3g do produto em 100ml de meio salino E3. Em seguida, foram realizadas 5 diluições seriadas da concentração mãe para se obterem as concentrações de 0,075 µg/ml (0,1x concentração de campo); 0,75 µg/ml (1x concentração igual à concentração de campo); 7,5 µg/ml (10x mais concentrado que a concentração de campo); 75 µg/ml (100x mais concentrado que a concentração de campo) e tomando por base a recomendação do fabricante de utilizar 1ml da solução mãe para cada litro de água limpa ou do solvente utilizado.

Foram utilizadas placas contendo 24 poços onde os ovos fertilizados foram distribuídos, sendo 20 por concentração e para o controle. Em seguida, colocado 2ml da solução nos poços contendo os ovos fertilizados e levados a estufa BOD a 28°C. A cada 24 horas foram realizadas as manutenções dos poços, realizando-se a troca do meio e retirada dos embriões mortos.

8. RESULTADOS

8.1 Bioensaios com os larvicidas diflubenzuron e pyriproxyfen sobre *Ae. aegypti*

Os testes realizados com os larvicidas Diflubenzuron e Sumilarv® 0,5 G (Pyriproxyfen) utilizados atualmente pelo município de Macaé demonstram a eficiência destes produtos no controle do mosquito *Ae. aegypti* conforme relatado pelo fabricante.

Nos bioensaios utilizando larvas de campo tratadas com o larvicida diflubenzuron sob temperatura controlada de 28°C (Figura 29 A), a quase totalidade das larvas morreu logo nos primeiros 5 dias em todas as concentrações utilizadas; e o último indivíduo morreu 15 dias após o início do tratamento, não realizando a metamorfose para o estágio de pupa. Já o ensaio realizado com *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller (Figura 29 B), as larvas morreram um pouco mais lentamente, tendo apenas metade nos primeiros 5 dias e o restante com 10 dias.

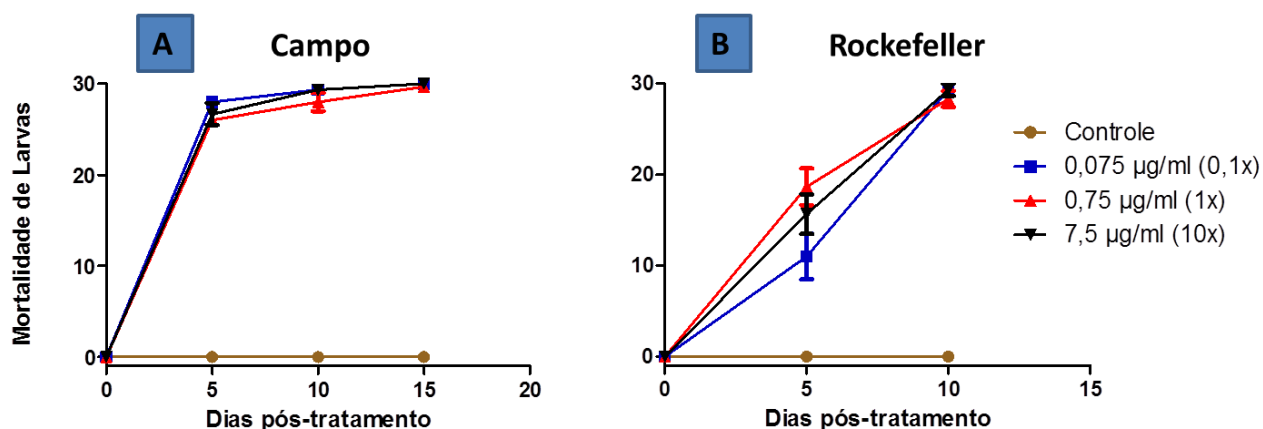


Figura 29. Populações de campo e de laboratório de *Ae. aegypti* são susceptíveis aos efeitos do diflubenzuron. Resultados de bioensaios com larvas de *Ae. aegypti* obtidas a partir de larvas eclodidas de populações de campo e da linhagem Rockefeller, padrão de laboratório. Foram utilizadas as concentrações de 0,075 µg/ml (0,1x a concentração recomendada para utilização em campo); 0,75 µg/ml (concentração recomendada para utilização de campo) e 7,5 µg/ml (concentração dez vezes maior que a recomendada para utilização no campo). Não houve mortalidade larvar no controle (linha azul). O larvicida foi efetivo em todas as concentrações utilizadas tanto na população de campo, quanto na de laboratório. A) Larvas de *Ae. aegypti* coletados no campo. B) Larvas *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller.

As larvas tratadas com o larvicida diflubenzuron apresentaram aspectos em sua morfologia diferente das larvas controle (Figura 30). As alterações identificadas foram: escurecimento da região da cabeça e do tórax; aumento do número das cerdas que se apresentaram mais delgadas e mais longas, como previamente descrito por Borges et al., 2012).



Figura 30. O larvicida diflubenzuron provoca alterações morfológicas sobre larvas de *Ae. aegypti*. A) Larva controle apresentando desenvolvimento normal de suas estruturas. Seta apontando o tórax e a cabeça de seta apontando a região do abdômen. B) Larva tratada com diflubenzuron apresentando características diferentes da larva controle como pigmentação escura na região da cabeça, tórax e abdômen apontada pela seta.

O ensaio realizado com Sumilarv® 0,5 G (Pyriproxyfen), análogo do hormônio juvenil, foi realizado apenas com *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller, pois não foram coletados ovos de campo suficiente para realizar este ensaio. Os testes, em temperatura controlada de 28°C, promoveram quase que a totalidade das pupas mortas em 15 dias após o tratamento (Figura 31). As concentrações utilizadas apresentaram resultados similares.

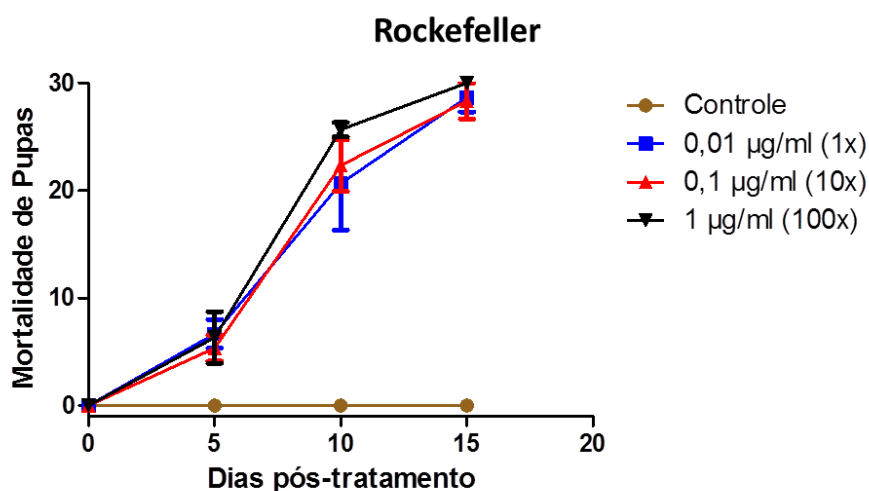


Figura 31. Pupas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller, padrão de laboratório, são susceptíveis aos efeitos do larvicida Sumilarv® 0,5 G (pyriproxyfen). Este larvicida que é um análogo ao HJ dos insetos, demonstrou ser eficaz para o controle de pupas, retardando o desenvolvimento e causando conseqüentemente a sua morte. A concentração de 1µg/ml (100x o uso em campo) levou às pupas a letalidade mais rapidamente, quando comparado às demais concentrações.

As larvas tratadas com pyriproxyfen realizaram metamorfose e atingiram o estágio de pupa, que apresentaram alterações morfológicas. A pupa controle, do mesmo estágio de desenvolvimento da pupa tratada, apresentou características normais como coloração clara e aspecto de vírgula, como descrito por Consoli and Oliveira, 1994. Já as pupas tratadas, não apresentaram o aspecto de vírgula e desenvolveram pigmentação escura na região do cefalotórax. Algumas pupas chegaram a romper o cefalotórax para emergir para mosquitos (fase adulta), porém não tiveram sucesso na metamorfose (Figura 32).

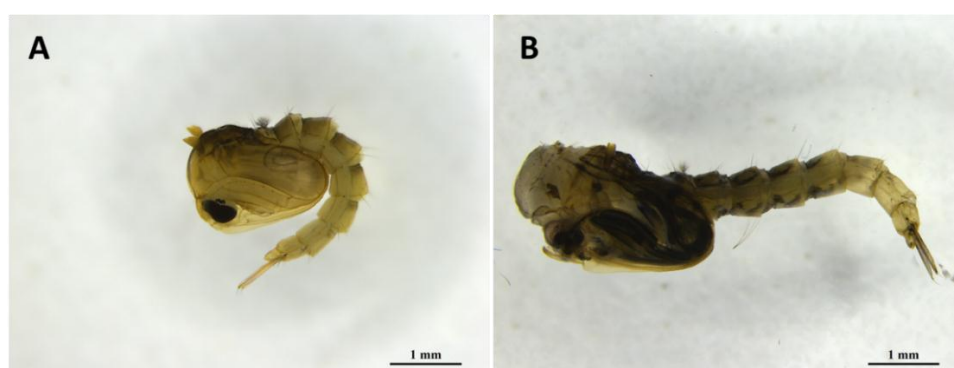


Figura 32. Efeito do larvicida Sumilarv® 0,5 G (pyriproxyfen) sobre pupas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller, em vista lateral com aumento de 19.8x. A) Pupa controle, apresentando desenvolvimento e pigmentação normal tendo aspecto de vírgula. B) Pupa tratada

com o larvicida não desenvolveu aspecto de vírgula, apresentando problemas na metamorfose para emergência do adulto.

Analisando a mortalidade média das formas imaturas de *Ae. aegypti*, coletadas no campo e da linhagem Rockefeller, e as concentrações testadas dos larvicidas, diflubenzuron e pyriproxyfen, foi visto que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na mortalidade dos espécimes tratados.

8.2 Bioensaios utilizando diflubenzuron sobre o peixe-zebra (*D. rerio*)

Foi observado que o larvicida diflubenzuron nas concentrações de 0,075 $\mu\text{g/ml}$ (0,1x), 0,75 $\mu\text{g/ml}$ (1x) e 7,5 $\mu\text{g/ml}$ (10x) levou menos da metade dos embriões do peixe-zebra à letalidade (Figura 33 A), porém aqueles que sobreviveram apresentaram danos no seu desenvolvimento. Já na concentração de 75 $\mu\text{g/ml}$ (100x) todos os embriões morreram com 48 horas de desenvolvimento pós-fertilização (Figura 33 B).

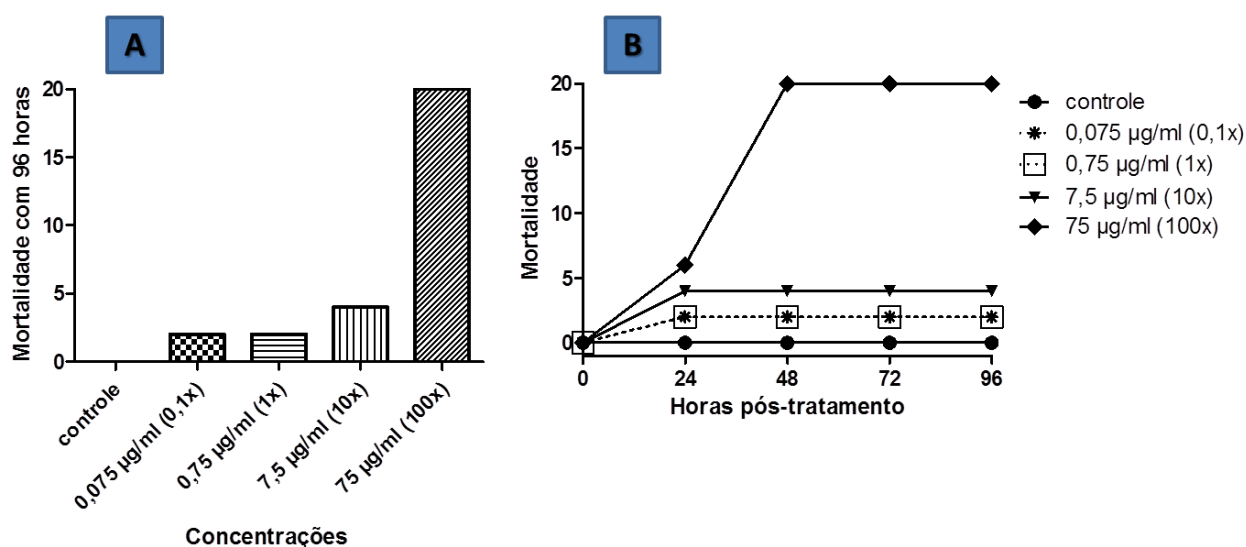


Figura 33. Altas concentrações de diflubenzuron levam a mortalidade de embriões de *D. rerio*. A) Gráfico de colunas mostrando a mortalidade em embriões por concentração ao final do teste. Na concentração de 75 $\mu\text{g/ml}$ (100x mais o indicado para uso no campo) há letalidade dos 20 embriões utilizados no teste. B) Gráfico de linhas mostrando a mortalidade dos embriões em horas de desenvolvimento pós-tratamento. A concentração de 75 $\mu\text{g/ml}$ (100x) matou a totalidade dos embriões nas primeiras 48h de desenvolvimento pós-tratamento.

O controle negativo (Figura 34 A) apresentou embriões normais com 96 horas de desenvolvimento pós-fertilização, tendo a bexiga natatória inflada e consumo normal do vitelo, de acordo com o proposto por Kimmel et al., 1995. Já os embriões tratados com o larvicida diflubenzuron, na concentração de 0,75 $\mu\text{g/ml}$ (1x), dos 20 utilizados, 2 morreram e 10 apresentaram problemas para inflar a bexiga natatória (Figura 34 B). E os embriões de peixe-zebra tratados com o larvicida na concentração de 7,5 $\mu\text{g/ml}$ (10x), dos 16 sobreviventes, 9 apresentaram problemas no desenvolvimento como: edema no pericárdio, má-formação do crânio e da face, consumo irregular do vitelo e bexiga natatória não inflada (Figura 34 C).

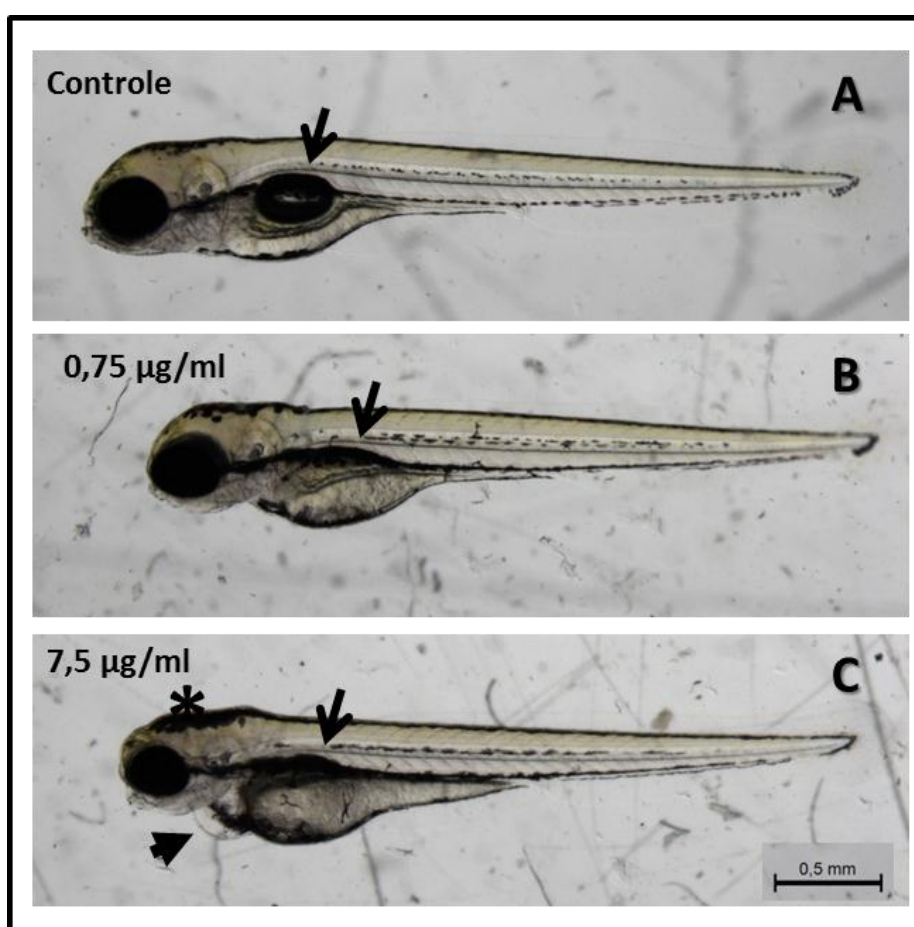


Figura 34. Embriões de *D. rerio* expostos ao larvicida diflubenzuron apresentaram danos em sua morfologia. As imagens de A-C representam o desenvolvimento em 96 horas pós fertilização (hpf). A) Controle negativo: normal de acordo com o proposto por Kimmel et al., 1995), apresentando bexiga natatória inflada (seta). B) Concentração de 0,75 $\mu\text{g/ml}$ (1x uso em campo): desenvolvimento irregular, apresentando bexiga natatória não inflada. C) Concentração de 7,5 $\mu\text{g/ml}$ (10x): desenvolvimento de edema no pericárdio (cabeça de seta), má-formação do crânio e da face (asterisco), consumo irregular do vitelo e bexiga natatória não inflada (seta). A escala representada por um traço negro corresponde a 0,5 milímetros e se aplica a todos os embriões.

9. DISCUSSÃO

O presente estudo foi realizado visando obter informações acerca da frequência de culicídeos nos bairros Lagomar e Praia do Pecado na cidade de Macaé; avaliar a eficácia dos larvicidas diflubenzuron e pyriproxyfen em larvas e pupas de *Ae. aegypti* coletados em dois bairros da cidade de Macaé e da linhagem Rockefeller; e ainda verificar o efeito do larvicida diflubenzuron sobre o peixe zebra, um organismo não-alvo.

9.1 Frequência de culicídeos nos bairros

As coletas realizadas no presente estudo, nos bairros Praia do Pecado e Lagomar, na cidade de Macaé demonstraram um total amostral de 2.149 ovos, sendo observada uma ocorrência maior no período de chuva, assim como visto por Honório and Lourenço-de-Oliveira, 2001. Estes dados também são corroborados pelo estudo realizado por Forattini et al., 2001, onde foi verificada uma associação entre as condições climáticas e os índices de emergência, evidenciando menor número de mosquitos nos períodos de menor pluviosidade.

Os dados abióticos analisados para a cidade de Macaé revelaram que a menor média de temperatura foi de 21.1°C, no período de seca, e a maior de 26°C no período de chuva, temperaturas estas consideradas ótimas para o desenvolvimento dos mosquitos (Farnesi et al., 2009). Quanto à umidade, a menor média foi de 75%, período de seca, e a maior de 80% no período de chuva. Rezende, 2013, observou que os meses de maior temperatura e umidade são acompanhados por aumento da ocorrência de infestação por mosquitos. A umidade pode afetar o metabolismo do mosquito influenciando na sua longevidade (Donalísio and Glasser, 2002; Fernandes et al., 2006).

Neste contexto Praia do Pecado apresentou maior ocorrência de ovos nos períodos de chuvas, março/2016 e outubro/2016, nos quais se tiveram as mais altas medições de temperatura e umidade. Este bairro ainda teve a menor quantidade de ovos nos períodos de secas, conforme os resultados obtidos no estudo realizado por Leandro, 2012. Deve ser ressaltado ainda a não ocorrência de ovos no mês de julho/2016, um dos períodos de secas, onde a temperatura média foi de 21.1 °C e o volume de chuva igual à zero.

O mosquito tem sua densidade populacional associada diretamente à presença de chuvas, período em que a população alcança níveis elevados e realiza o estabelecimento da espécie (Glasser and de Castro Gomes, 2002). No entanto, estes dípteros são capazes de manter uma população considerável durante as estações menos chuvosas, a custa dos criadouros semipermanentes e independentes da pluviosidade (Consoli and Oliveira, 1994).

O Lagomar apresentou maior ocorrência de ovos no período de seca, referente aos meses de Julho/2015 e Julho/2016. Esta ocorrência pode estar associada ao fato do bairro não ter água encanada, levando a população a armazenar água em depósitos (Tauil, 2001), o que acaba propiciando a manutenção de populações de mosquitos em períodos de baixas precipitações (Forattini and de Brito, 2003).

Neste estudo foi observado que Praia do Pecado, bairro que contém água encanada, apresentou um total de 612 ovos, enquanto o Lagomar 1.537 ovos quase que três vezes mais. De acordo com Claro et al., 2004, a falta de água encanada e o custo de manter os depósitos de armazenamento de água tampados facilita a proliferação de mosquitos vetores de doenças.

Segundo Donalísio and Glasser, 2002, o comportamento humano exerce pressão seletiva sobre a população do vetor. Destaca ainda a necessidade de investigação quanto ao comportamento das populações de mosquitos no domicílio para esclarecer se a distribuição dos focos larvários é consequência apenas da pequena oferta de recipientes com água no intradomicílio (dentro da residência) ou também da preferência do vetor para realizar a oviposição no peridomicílio (fora da residência).

De acordo com a análise realizada sobre os índices de infestação predial (IIP) do LIRAA no qual focos foram coletados intra e peridomicílio, para o município de Macaé, o mês de janeiro de 2014 apresentou um índice de 4,0% considerado de risco epidêmico. Nos últimos 6 anos, tendo o total de 25 LIRAA realizados, Macaé só não esteve em estado de alerta (1 à 3,9%) em 5 LIRAA, ou seja, em 80% das campanhas realizadas de 2011 a 2016 o município ficou em estado de alerta para epidemias de doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti*.

Glasser and de Castro Gomes, 2002, observaram que a proliferação de mosquitos do gênero *Aedes*, geralmente está associada às regiões com maior densidade demográfica e grandes níveis de urbanização, sendo as áreas mais populosas vulneráveis à infestação de mosquitos que transmitem doenças.

Ainda neste contexto, sobre o LIRAa dos bairros estudados foi visto que o Lagomar, bairro contendo aproximadamente 18 mil habitantes, apresentou por três vezes nos últimos seis anos, risco epidêmico. Observam-se altos índices entomológicos em períodos de chuvas como de 3,9% em maio de 2013 e 6,7% em janeiro de 2014. No entanto, foi visto que em períodos de secas esses índices também são altos como de 4,2% em junho de 2014. E os índices entomológicos para Praia do Pecado, bairro contendo aproximadamente 1.200 habitantes, em sua grande maioria são satisfatórios (igual ou menor a 1%), estando poucas vezes em estado de alerta (índice de 1 a 3,9%).

Um monitoramento do *Ae. aegypti* realizado no campus da UFMT indicou que a estratégia de combate ao mosquito deve ser contínuo ao longo do ano, no maior número de locais possíveis, pois os fatores abióticos analisados não revelaram bons indicadores da presença de ovos do vetor da dengue (Miyazaki et al., 2009).

Os índices entomológicos utilizados tradicionalmente para monitoramento da dispersão das populações vetoras determinam apenas o número de ovos sem diferenciar as espécies e a quantidade de adultos que eclodem das armadilhas (Fantinatti et al., 2007).

Para identificação das espécies, dispersão e densidade de mosquitos foram usadas ovitrampas (das quais ovos eclodidos tiveram as larvas identificadas) e realizada análise espacial utilizando o estimador de densidade Kernel, que possibilitou a identificação de “Hot Spots”, sendo estas áreas que merecem mais atenção nos bairros estudados. A ocorrência de um hot spot é entendida como uma concentração de eventos que indica de alguma forma a aglomeração em uma distribuição espacial (Barcellos et al., 2007).

No bairro Praia do Pecado no primeiro período de seca, foi visto no ponto 3 (local onde havia um prédio em construção) alta densidade de ovos de mosquitos. Nos períodos de chuvas foram verificadas altas densidades de ovos ao longo do bairro. Para o Lagomar os mapas mostraram hot spots nos períodos de secas, sendo estimada uma alta densidade de ovos. Já no período de chuvas, apesar de não se ter visto uma alta densidade, a ocorrência esteve presente ao longo do bairro. Estas observações sugerem que em período de seca, a densidade do vetor fica concentrada em pontos específicos como aqueles que possuem água disponível. E para o período de chuva, tendo maior

disponibilidade de criadouros para o vetor, a densidade ocorre de forma dispersa pelos bairros.

Conforme visto por Rezende, 2013, os índices positivos e altas densidades encontradas em épocas do ano com menor pluviosidade são mantidos por criadouros que não dependem diretamente das chuvas e que surgem neste cenário como fonte de água limpa e estagnada, sendo ideal para as fêmeas dos mosquitos realizarem a oviposição. Ainda neste contexto foi visto que as larvas eclodidas dos ovos coletados das áreas cujas densidades foram investigadas pertencem à família Culicidae, gênero *Aedes*, sendo das espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. A espécie *Ae. aegypti* esteve presente em todos os períodos em que foram realizadas as coletas nos bairros, conforme corrobora o estudo realizado por Serpa et al., 2006. O sucesso da ocorrência desta espécie está associado à presença humana, a sazonalidade e ao clima (Ibarra et al., 2013). Já *Ae. albopictus* foi visto apenas nos períodos de chuvas para os dois bairros.

O *Ae. aegypti* mantém um estreito relacionamento com o homem e sabe-se que quanto mais intensa for a proliferação do mosquito e maior a densidade populacional humana, maiores são as chances de contato. Sabendo-se que tal mosquito tem competência e capacidade vetora para transmitir várias arboviroses deve-se ficar sempre em alerta quanto aos riscos de epidemias (Natal, 2002).

Para o Lagomar, na coleta de seca realizada em julho/2016, foi identificada apenas uma larva de *Ae. aegypti* eclodida dos 243 ovos coletados, colocados para eclodir seis meses após a coleta. Caso este interessante, devido vários autores afirmarem que os ovos desta espécie podem ficar em diapausa por um ano em ambientes secos (Consoli and Oliveira, 1994; Forattini, 1965).

Deve ser ressaltado, que nos períodos chuvosos, ambos os bairros apresentaram as espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* ocorrendo uma sobreposição entre essas espécies em alguns pontos. As duas espécies podem coexistir na mesma região e utilizarem criadouros com características semelhantes. Colonizam rapidamente locais onde as condições são favoráveis para sua proliferação podendo ocorrer uma rápida dispersão, dependendo da disponibilidade de locais para oviposição (Fantinatti et al., 2007).

Para os autores Akiner et al., 2016, é extremamente preocupante a capacidade de dispersão destes vetores, inclusive em países da Europa, pois eles são capazes de transmitirem arbovírus causadores de doenças prejudiciais ao homem como a febre amarela, dengue, zika e chikungunya.

Ae. aegypti e *Ae. albopictus* embora apresentem nichos ecológicos diferentes podem situar-se nos mesmos habitats. Segundo Honório and Lourenço-de-Oliveira, 2001, interações entre espécies requerem cautela, pois essas espécies se desenvolvem nos mesmos criadouros artificiais e são comuns em áreas de grande concentração humana, como visto neste estudo.

Marquetti et al., 2000, destacam a presença de *Ae. albopictus*, em zonas suburbanas de Cuba, e a ação competitiva desta espécie com as espécies nativas do lugar. Neste contexto foi visto que na Praia do Pecado, nas armadilhas contendo as duas espécies de mosquitos, havia uma alta prevalência de *Ae. albopictus* em relação a *Ae. aegypti* e esta observação pode sugerir uma existência de competição entre essas espécies neste bairro (Martins et al., 2010).

Acredita-se que o resultado dessa competição seja favorável ao *Ae. albopictus*, pois a densidade deste costuma aumentar enquanto a do *Ae. aegypti* diminui, gradativamente, após certo tempo de coexistência (Consoli and Oliveira, 1994).

Já alguns estudos mostraram resultados contrários, onde a coexistência de larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em criadouros artificiais de área urbana revelou predominância da primeira espécie em relação à segunda (Leandro, 2012; Passos et al., 2003).

Embora *Ae. albopictus* esteja sujeito às pressões de controle em áreas infestadas por *Ae. aegypti*, não é espécie-alvo nos programas de controle da dengue. A identificação do *Ae. albopictus*, no presente estudo, alerta sobre a importância do controle deste vetor, que poderá vir a ser um problema futuro quanto à emergência de arboviroses, principalmente pelos bairros analisados serem áreas de constantes alterações ambientais (Santos, 2003).

Estes bairros são constantes alvos de degradação ambiental, desde a década de 1970 com o ingresso da economia do petróleo em Macaé, por possuírem próximos às suas áreas corpos hídricos, locais onde a população humana costuma estabelecer suas moradias (Esteves, 2011b). A degradação destes ambientes aquáticos pela ação humana, como aterro e poluição, associado às condições precárias de saneamento auxiliam para

que ocorram grandes chances de alagamentos em épocas de chuvas, favorecendo a densidade de mosquitos e incidência de doenças.

Neste sentido, levando em conta os alagamentos ocorridos no bairro Praia do Pecado devido às cheias da Lagoa Imboassica por fortes chuvas, foi investigada a ocorrência de culicídeos do gênero *Aedes* dentro da lagoa. Os resultados demonstraram ocorrência apenas do culicídeo pertencente ao gênero *Culex*, não sendo encontrados dípteros do gênero *Aedes*. O *Culex* se prolifera, preferencialmente, em água estagnada e poluída, rica em matéria orgânica em decomposição e detritos, demonstrando assim que a Lagoa Imboassica fornece as condições adequadas para os criadouros deste vetor que é extremamente beneficiado pelas alterações antrópicas no ambiente (Albuquerque, 1993; Consoli and Oliveira, 1994).

Lund et al., 2014, mostraram que a presença de mosquitos do gênero *Culex*, em corpos hídricos com carga de esgoto elevada foram significativamente maiores do que em riachos sem esgoto. Afirmam ainda que a qualidade da água em corpos hídricos poluídos proporciona um habitat adequado para mosquitos imaturos deste gênero. Providências tomadas para melhorar a qualidade da água resultam em menor produtividade destes mosquitos gerando menos gastos com o controle químico destes vetores de doenças.

9.2 Eficácia dos larvicidas IGRs, diflubenzuron e pyriproxyfen, sobre *Ae. aegypti*

Os testes realizados com os larvicidas IGRs diflubenzuron (inibidor da síntese de quitina) e pyriproxyfen (análogo do hormônio juvenil), utilizados pelo município de Macaé, demonstraram eficiência destes produtos para o controle do mosquito *Ae. aegypti* de campo e da linhagem Rockefeller.

Neste estudo foi visto que as larvas de *Ae. aegypti*, tanto de campo quanto Rockefeller, são suscetíveis ao larvicida diflubenzuron e apresentaram aspectos em sua morfologia diferente das larvas controle. As alterações identificadas foram: escurecimento da região da cabeça e do tórax; aumento do número das cerdas que se apresentaram mais delgadas e mais longas como visto em estudos encontrados na literatura (Borges et al., 2012; Borges et al., 2004).

A larva submetida ao tratamento com diflubenzuron não consegue eliminar a cutícula velha, aparentemente devido à inibição da deposição de quitina, pois não há rigidez suficiente para isso. As larvas ainda sobrevivem por algum tempo, mas acabam morrendo (Mulla, 1995).

Os indivíduos de *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller tratados com o inibidor da síntese de quitina não tiveram óbito imediato, uma vez que a ação deste produto leva aproximadamente uma semana para matar a larva (Borges et al., 2012). A grande maioria das larvas de campo morreram nos primeiros 5 dias, sendo que a última morreu após 15 dias do início do tratamento, não realizando a metamorfose para o estágio de pupa. Este último dado pode levantar a hipótese de existência de indivíduos resistentes ao larvicida diflubenzuron, na população de *Ae. aegypti* de campo de Macaé.

De acordo com alguns autores, já é conhecido a resistência de alguns organismos aos inseticidas IGRs. Mesmo atuando de maneira diferente dos tradicionais inseticidas também foram detectados indícios de resistência em insetos como moscas domésticas e moscas de ovelhas (Brogdon and McAllister, 1998; Kotze et al., 1997; Cerf and Georghiou, 1974; Zhang et al., 1998).

Neste estudo foi visto também que larvas Rockefeller tratadas com pyriproxyfen atingem o estágio de pupa, porém não emergem para a fase adulta, demonstrando a suscetibilidade ao larvicida análogo do HJ. Este larvicida demonstrou ser eficaz para o controle do mosquito *Ae. aegypti*, retardando o desenvolvimento e causando conseqüentemente a sua morte (Resende and Gama, 2006).

As pupas tratadas com o análogo do HJ apresentaram características morfológicas diferentes do controle como pigmentação escura na região do cefalotórax e ausência do aspecto de vírgula (Consoli and Oliveira, 1994).

Nesse mesmo trabalho, não foi observada diferença significativa entre as concentrações dos larvicidas testados e a mortalidade dos estágios iniciais de *Ae. aegypti*.

Os IGRs, diflubenzuron e pyriproxyfen, por não provocarem a morte imediata dos insetos como os inseticidas neurotóxicos convencionais requerem uma maior atenção e treinamento dos agentes de saúde e conscientização da comunidade quanto a sua ação (Borges et al., 2012). A morte lenta das larvas e pupas podem induzir desconfianças à população com relação à eficácia do produto dificultando o trabalho de combate ao mosquito e ainda ministrar estes produtos em excesso (Martins and Silva, 2004).

Segundo Valle et al., 2015, os compostos utilizados no controle de vetores de doenças, como os larvicidas, eventualmente são usados nos espaços urbanos. No entanto, também podem chegar ao meio aquático pelo escoamento superficial e infiltração no solo, embora tendo diluição de seu conteúdo. Essa contaminação pode ocorrer, por exemplo, por enchentes causadas pelas chuvas colocando em risco os organismos aquáticos que ali habitam e que não são alvos destes produtos (Glover et al., 2007).

9.3 Efeito do diflubenzuron sobre o peixe-zebra (*D. rerio*)

A mortalidade e os danos causados pelo diflubenzuron, inibidor da quitina sintase nos insetos (Graf, 1993) aos embriões de peixe-zebra, visto neste estudo, mostra que este larvicida pode atuar de forma negativa em organismo não-alvo.

Estudos realizados utilizando diflubenzuron sobre organismos de grupos taxonômicos diferentes como peixes, algas, crustáceos e dípteros demonstraram que estes apresentam grande sensibilidade a este composto. Estes podem ainda desenvolver sérios danos que comprometem gravemente seu desenvolvimento (Jonsson et al., 2015; Miura and Takahashi, 1975).

Miura and Takahashi, 1974, relataram que crustáceos foram extremamente sensíveis a inibidores da síntese de quitina mostrando LC50 de cerca de 0,1-1,0 ppm, enquanto que para mosquito a LC50 é cerca de 0,7 ppm. Estes compostos nos ecossistemas aquáticos causam a redução de organismos importantes na manutenção da cadeia alimentar, podendo assim, alterar os hábitos alimentares de outras espécies.

As alterações vistas no desenvolvimento do peixe-zebra como edema no pericárdio, má-formação do crânio e da face, consumo irregular do vitelo e bexiga natatória não inflada provocados pelo larvicida diflubenzuron, podem estar relacionadas com a presença do gene da quitina sintase localizado no lúmen do intestino do *D. rerio* (Tang et al., 2015).

Tang et al., 2015, descobriram em suas pesquisas, inúmeras sequências genômicas desconhecidas de peixes e anfíbios que exibiram homologia com invertebrados. Neste estudo foi descoberto que peixes-zebra produzem quitina endogenamente. O genoma do peixe-zebra revelou a existência de quatro genes importantes onde um deles é expresso durante o desenvolvimento larval embrionário. A quitina foi identificada como expressa

em células da parede epitelial e mesenquimal tendo grandes quantidades de quitina distribuída por todo lúmen intestinal.

Foi visto neste estudo que apesar das concentrações de 0,075 µg/ml (0,1x), 0,75 µg/ml (1x) e 7,5 µg/ml (10x) terem levado menos da metade dos embriões do peixe-zebra à letalidade, aqueles que sobreviveram apresentaram danos graves que podem comprometer todo seu desenvolvimento e colocar em risco a sua existência. De acordo com Sanchez-Bayo, 2012, o diflubenzuron pode ser tóxico para peixes tendo LC50 inferior a 1mg/L, sendo este larvicida uma exceção entre os IGRs.

Apesar de o diflubenzuron ser prejudicial a organismos não-alvos, como visto neste estudo, este larvicida não consta na lista da legislação brasileira que estabelece limites máximos permissíveis em corpos hídricos para a proteção das comunidades aquáticas (Jonsson et al., 2015).

Desta forma a contaminação ambiental por estes larvicidas e vendo que estes agridem organismos não-alvos, projeta-se um grande desafio para as indústrias que produzem estes compostos, afim de desenvolverem produtos que não agridam o ambiente (Tunaz and Uygun, 2004); e para os órgãos públicos de saúde, que precisam se atentar quanto ao uso e manejo consciente destes inseticidas para o controle dos vetores de doenças.

10. CONCLUSÕES

- Os bairros estudados, Lagomar e Praia do Pecado, apresentaram quantidades de ovos bem diferentes, porém não é apropriado realizar uma comparação direta uma vez que foram utilizados diferentes raios de influência entre os bairros. O mapa de Kernel demonstrou que o Lagomar apresentou grande densidade de ovos em ambos os períodos, seca e chuva. O bairro Praia do Pecado apresentou maior densidade de ovos nos períodos de chuvas.
- Foi identificado que as espécies *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* estão presentes nos bairros estudados e ainda que estas coexistem num mesmo local.
- A grande maioria dos espécimes coletados dentro da Lagoa Imboassica são membros da família Culicidae pertencentes ao gênero *Culex*. Não foram coletados indivíduos do gênero *Aedes*.
- Os bioensaios utilizando os larvicidas IGRs pyriproxyfen e diflubenzuron mostraram que estes são eficazes para o controle dos indivíduos da linhagem Rockefeller. O diflubenzuron demonstrou eficiência também para o controle de *Ae. aegypti* das populações analisadas de Macaé. Ressaltamos a importância das autoridades locais quanto ao uso adequado dos larvicidas, pois segundo os experimentos utilizando *Ae. aegypti* de campo, vimos que alguns indivíduos demoraram mais tempo para morrer podendo ser um indicativo de resistência na população.
- O larvicida diflubenzuron atua de forma negativa sobre organismos não-alvos como o peixe-zebra (*D. rerio*) podendo causar danos como a não inflação da bexiga natatória, achatamento do crânio, consumo irregular do vitelo, edema cardíaco e ainda levar a óbito. Estes danos podem estar associados à presença do gene da quitina sintase no lúmen do intestino do *D. rerio*.
- Este estudo foi apenas o início de uma série de ações que devem ser implementadas para que se tenha um melhor entendimento de questões que relacione a proliferação de vetores na cidade de Macaé. Ainda, seriam necessárias mais coletas ao longo do ano, para correlacionar a influência dos fatores abióticos e sazonalidade com a densidade de ovos. Sugerimos que se padronizem os nomes dos bairros em todos os setores da prefeitura para que se possa realizar um mapeamento de densidade de mosquito por bairros usando a ferramenta de georreferenciamento.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, R. and D. Valle (2015). Prevenção da Dengue: Práticas de Comunicação e Saúde. Dengue: Teorias e Práticas. Fiocruz. Rio de Janeiro: 339-356.

Akiner, M. M., et al. (2016). "Spread of the Invasive Mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Black Sea Region Increases Risk of Chikungunya, Dengue, and Zika Outbreaks in Europe." PLOS Negl Trop Dis 10(4): e0004664.

Albuquerque, M. d. F. P. (1993). "Urbanização, favelas e endemias: a produção da filariose no Recife, Brasil." Cadernos de saúde pública 9(4): 487-497.

Alencar, C. H. M. d. (2008). "Infestação pelo *Aedes albopictus* (SKUSE), em criadouros naturais e artificiais encontrados em áreas verdes da cidade de Fortaleza-Ceará."

Ali, A., et al. (1995). "Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*." Journal of the American Mosquito Control Association 11(1): 72-76.

Alves, R. N., et al. (2017). "Toxicity of effluents from gasoline stations oil-water separators to early life stages of zebrafish *Danio rerio*." Chemosphere 178: 224-230.

Araújo, J. M. G. and H. G. Schatzmayr (2015). Aspectos Virais da Dengue. Dengue: Teorias e Práticas. Fiocruz. Rio de Janeiro: 171-185.

Barbazuk, W. B., et al. (2000). "The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes." Genome research 10(9): 1351-1358.

Barcellos, C., et al. (2007). Análise de Dados em Forma de Pontos. Introdução à Estatística Espacial para a Saúde Pública. M. d. Saúde. Brasília. 3: 124.

Black, W. C., et al. (2002). "Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*." Archives of medical research 33(4): 379-388.

Borges, R. A., et al. (2012). "Mecanismos da ação larvicida do diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* evidenciados pelas alterações ultraestruturais."

Borges, R. A., et al. (2004). "Mortalidade e Alterações Morfológicas Provocadas pela Ação Inibidora do Diflubenzuron na Ecdise de Larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae)." *Revista de Patologia Tropical* 33(1): 91-104.

Braga, I. A., et al. (2004). "*Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil." *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 99(2): 199-203.

Braga, I. A. and J. L. San-Martin (2015). *Histórico do Controle de Aedes aegypti. Dengue: Teorias e Práticas*. Fiocruz. Rio de Janeiro, Fiocruz: 61-73.

Braga, I. A. and D. Valle (2007b). "*Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência." *Epidemiologia e serviços de saúde* 16(4): 179-293.

Braga, I. A. and D. Valle (2007c). "*Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil." *Epidemiologia e serviços de saúde* 16(4): 295-302.

Brasil (1999). *Manual de vigilância epidemiológica da febre amarela*. Brasília, Ministério da Saúde: 60.

Brasil (2002). *Dengue: Aspectos Epidemiológicos, Diagnóstico e Tratamento Normas e Manuais Técnicos*. Brasília: 20.

Brasil (2004). *Manual de vigilância epidemiológica de febre amarela*. Brasília, Ministério da Saúde: 69.

Brasil (2007). *Introdução à Estatística Espacial para a Saúde Pública. Capacitação e Atualização em Geoprocessamento em Saúde*. Brasília. 3: 120.

Brasil (2015). *Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 47, 2015*. *Boletim Epidemiológico*. Brasília, Ministério da Saúde. 46: 9.

Brasil (2017). Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016. Boletim Epidemiológico. Brasília, Ministério da Saúde. 48: 11.

Brogdon, W. G. and J. C. McAllister (1998). "Insecticide resistance and vector control." *Emerging infectious diseases* 4(4): 605-613.

Buss, D., et al. (2002). "Evidence for p-glycoprotein modification of insecticide toxicity in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex." *Medical and veterinary entomology* 16(2): 218-222.

Calvet, G., et al. (2016). "Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study." *The Lancet Infectious diseases* 16(6): 653-660.

Caramaschi, E. P., et al. (2004). Peixes da Lagoas Costeiras do Norte Fluminense: Estudo de Caso. Pesquisa de Longa Duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, História Natural e Conservação. RiMa. São Carlos: 309-338.

Carrington, L. B. and C. P. Simmons (2015). "Human to mosquito transmission of dengue viruses." *Protective Immune Response to Dengue Virus Infection and Vaccines: perspectives from the field to the bench*: 24.

Cauchemez, S., et al. (2015). "Local and regional spread of chikungunya fever in the Americas." *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin* 19(28): 14.

Cavalcante, K. R. and P. L. Tauil (2016). "Epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil, 2000-2012." *Epidemiol Serv Saude* 25(1): 11-20.

CDC (2015). "Chikungunya Virus ". Retrieved 28 janeiro, 2017, from <<https://www.cdc.gov/chikungunya/>>.

CDC (2016). "Zika Virus." Retrieved 28 de janeiro, 2017, from <https://www.cdc.gov/zika/about/overview.html>.

Cerf, D. C. and G. P. Georghiou (1974). "Cross resistance to juvenile hormone analogues in insecticide-resistant strains of *Musca domestica* L." *Pest management science* 5(6): 759-767.

Cipriano, R. and C. C. Monteiro (2016). "Relato sobre o Zika vírus no Brasil." *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção* 6(1).

Claro, L., et al. (2004). "Prevenção e controle do dengue: uma revisão de estudos sobre conhecimentos, crenças e práticas da população [Dengue prevention and control: a review of studies on knowledge, beliefs, and practices]." *Cadernos de saúde pública* 20(6): 1447-1457.

Consoli, R. A. and R. L. d. Oliveira (1994). *Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil*, Editora Fiocruz.

Costa, Z. G. A., et al. (2011). "Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil." *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2(1): 11-26.

Crow, J. F. (1957). "Genetics of insect resistance to chemicals." *Annual review of entomology* 2(1): 227-246.

Cunha, R. V. and E. Martínez (2015). *Manejo Clínico do Paciente com Dengue. Dengue: Teorias e Práticas*. Fiocruz. Rio de Janeiro: 221-245.

Donalísio, M. R. and C. M. Glasser (2002). *Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue*. *Rev. Bras. Epidemiol.* 5: 259-272.

Embry, M. R., et al. (2010). "The fish embryo toxicity test as an animal alternative method in hazard and risk assessment and scientific research." *Aquatic Toxicology* 97(2): 79-87.

Esteves, F. d. A. (1998a). *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Esteves, F. d. A. (2011a). "Em nome do Petróleo toda a degradação ambiental pode ser tolerada": Um equívoco inaceitável no Século XXI. Do Índio Goitacá à Economia do

Petróleo: Uma Viagem pela História e a Ecologia da Maior Restinga Protegida do Brasil. Essentia. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro: 207-218.

Esteves, F. d. A. (2011b). Economia do Petróleo e suas Consequências sobre a Restinga de Jurubatiba. Do Índio Goytacá à Economia do Petróleo: Uma viagem pela História e Ecologia da Maior Restinga Protegida do Brasil. Essentia. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro: 59-62.

Esteves, F. d. A. (2011c). A Economia do Açúcar do Norte Fluminense: Fonte de Impactos sobre os Ecossistemas e de Riqueza Do Índio Goytacá à Economia do Petróleo: Uma viagem pela História e Ecologia da Maior Restinga Protegida do Brasil. Essentia. Campos dos Goytacazes: 37-52.

Esteves, F. d. A. (2011d). Ameaças à Integridade Ecológica do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Do Índio Goytacá à Economia do Petróleo: Uma Viagem pela História e Ecologia da Maior Restinga Protegida do Brasil. Essentia. Campos dos Goytacazes: 167-188.

Fantinatti, E., et al. (2007). "Abundance and aggregation egg of *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus* (Skuse)(Diptera: Culicidae) in the north and northwest of the State of Paraná, Brazil." Neotropical Entomology 36(6): 960-965.

Farnesi, L. C., et al. (2009). Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. Mem Inst Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 104: 124-126.

Federic, B. A. (1995). "The future of microbial insecticides as vector control agents." Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News 11(2): 260-268.

Fernandes, C., et al. (2006). "Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.)(diptera: Culicidae) provenientes de quatro regioes bioclimáticas da paraiba." Neotrop Entomol 35: 853-860.

Figueira-Mansur, J., et al. (2013). "Silencing of P-glycoprotein increases mortality in temephos-treated *Aedes aegypti* larvae." Insect molecular biology 22(6): 648-658.

Focks, D., et al. (1981). "Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, Louisiana, with an estimate of the population density of *Aedes aegypti* (L.)." *The American journal of tropical medicine and hygiene* 30(6): 1329-1335.

Forattini, O. P. (1965). *Entomologia médica*. Entomologia médica, Edusp.

Forattini, O. P. (1986). "Identificação de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) no Brasil." *Revista de Saúde Pública* 20(3): 244-245.

Forattini, O. P. (1996). *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia* Vol. 2, Edusp.

Forattini, O. P. (1998). "Mosquitos Culicidae como vetores emergentes de infecções." *Rev Saúde Pública* 32(6): 497-502.

Forattini, O. P. and M. de Brito (2003). "Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*." *Revista de Saúde Pública* 37(5): 676-677.

Forattini, O. P., et al. (2001). "Emergência de *Aedes albopictus* em recipientes artificiais." *Revista de Saúde Pública* 35(5): 456-460.

Garcez, P. P., et al. (2016). "Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids." *Science* 352(6287): 816-818.

Gaunt, M. W., et al. (2001). "Phylogenetic relationships of flaviviruses correlate with their epidemiology, disease association and biogeography." *Journal of General Virology* 82(8): 1867-1876.

Glasser, C. M. and A. de Castro Gomes (2002). "Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo." *Revista de Saúde Pública* 36(2): 166-172.

Glover, C. N., et al. (2007). "Assessing the sensitivity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) to dietary endosulfan exposure using tissue biochemistry and histology." *Aquatic Toxicology* 84(3): 346-355.

Gomes, A. d. C. (1998). "Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* e *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* em programa de vigilância entomológica." Informe epidemiológico do SUS 7(3): 49-57.

Gould, E. and T. Solomon (2008). "Pathogenic flaviviruses." *The Lancet* 371(9611): 500-509.

Graf, J.-F. (1993). "The role of insect growth regulators in arthropod control." *Parasitology Today* 9(12): 471-474.

Gubler, D. J. (2002). "Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century." *TRENDS in Microbiology* 10(2): 100-103.

Hemingway, J. and H. Ranson (2000). "Insecticide resistance in insect vectors of human disease." *Annual review of entomology* 45(1): 371-391.

Hill, A. J., et al. (2005). "Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity." *Toxicological sciences* 86(1): 6-19.

Hoffmann, A. A., et al. (2014). "Stability of the w Mel Wolbachia infection following invasion into *Aedes aegypti* populations." *PLOS Negl Trop Dis* 8(9): e3115.

Honório, N. A. and R. Lourenço-de-Oliveira (2001). "Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil." *Revista de Saúde Pública* 35(4): 385-391.

Ibáñez-Bernal, S., et al. (1997). "First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico." *Medical and veterinary entomology* 11(4): 305-309.

Ibarra, A. M. S., et al. (2013). "Dengue vector dynamics (*Aedes aegypti*) influenced by climate and social factors in Ecuador: implications for targeted control." *PLoS One* 8(11): e78263.

IBGE (2016). "População Estimada de Macaé em 2016." Retrieved 30 de janeiro, 2017, from <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=330240>.

Jardim, J. B. and V. T. Schall (2015). Participação Social no Controle da Dengue: A Importância de uma Mudança Conceitual. Dengue: Teorias e Práticas. Fiocruz. Rio de Janeiro: 318-338.

Jonsson, C. M., et al. (2015). "Prediction of a low-risk concentration of diflubenzuron to aquatic organisms and evaluation of clay and gravel in reducing the toxicity." Pan-American Journal of Aquatic Science 10(4): 259-272.

Kimmel, C. B., et al. (1995). "Stages of embryonic development of the zebrafish." Developmental dynamics 203(3): 253-310.

Kotze, A., et al. (1997). "Diflubenzuron tolerance associated with monooxygenase activity in field strain larvae of the Australian sheep blowfly (Diptera: Calliphoridae)." Journal of economic entomology 90(1): 15-20.

Lahon, A., et al. (2016). "Characterization of a Zika Virus Isolate from Colombia." PLOS Negl Trop Dis 10(9): e0005019.

Lammer, E., et al. (2009). "Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test?" Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 149(2): 196-209.

Leandro, R. d. S. (2012). "Competição e dispersão de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894)(Diptera: Culicidae) em áreas de ocorrência no município de João Pessoa-PB."

Leisnham, P. T., et al. (2014). "Spatial and temporal habitat segregation of mosquitoes in urban Florida." PLoS One 9(3): e91655.

Lima, E. P., et al. (2006). "Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará." Rev Soc Bras Med Trop 39(3): 259-263.

Lopes, N., et al. (2014). "Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil." Revista Pan-Amazônica de Saúde 5(3): 55-64.

Lourenço-de-Oliveira, R. (2015a). *Biologia e Comportamento do Vetor. Dengue: Teorias e Práticas*. Fiocruz. Rio de Janeiro, Fiocruz: 75-92.

Lourenço-de-Oliveira, R. (2015b). *Transmissão Vetorial. Dengue: teorias e práticas*. Fiocruz. Rio de Janeiro, Fiocruz: 127-146.

Lund, A., et al. (2014). "Long term impacts of combined sewer overflow remediation on water quality and population dynamics of *Culex quinquefasciatus*, the main urban West Nile virus vector in Atlanta, GA." *Environmental research* 129: 20-26.

Machado, P. V. L. (2012). *Estudo dos Aspectos Qualitativos da água e dos sedimentos na Bacia Hidrográfica da Lagoa Imboassica e Aplicações de Índices de Qualidade*. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Macaé-RJ, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Fluminense / IFF: 46.

Marquetti, M. d. C., et al. (2000). "Tipificación de hábitats de *Aedes albopictus* en Cuba y su asociación con otras especies de culícidos, 1995-1998." *Revista Cubana de Medicina Tropical* 52(3): 170-174.

Martins, A. J., et al. (2009). "Frequency of Val1016Ile mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* Brazilian populations." *Trop Med Int Health* 14(11): 1351-1355.

Martins, A. J., et al. (2012). "Effect of insecticide resistance on development, longevity and reproduction of field or laboratory selected *Aedes aegypti* populations." *PLoS One* 7(3): 9.

Martins, F. and I. d. Silva (2004). "Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae)." *Rev Soc Bras Med Trop* 37(2): 135-138.

Martins, V. E. P., et al. (2010). "Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará." *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(1): 5.

Merzendorfer, H. (2012). "Chitin synthesis inhibitors: old molecules and new developments." *Insect science* 20(2): 121-138.

Miura, T. and R. Takahashi (1975). "Effects of the IGR, TH6040, on nontarget organisms when utilized as a mosquito control agent." *Mosq. News* 35(2): 154-159.

Miura, T. and R. M. Takahashi (1974). " Insect development inhibitors; Effects of candidate mosquito control agents on non-target aquatic organism." *Environ. Entomol.* 3: 631-636.

Miyazaki, R. D., et al. (2009). "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* 42(4): 392-397.

Montella, I. R., et al. (2007). "Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004." *Am J Trop Med Hyg* 77(3): 467-477.

Mulla, M. (1995). "The future of insect growth regulators in vector control." *Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News* 11(2): 269-273.

Musso, D., et al. (2015). "Potential sexual transmission of Zika virus." *Emerg Infect Dis* 21(2): 359-361.

Mustafa, M. S., et al. (2015). "Discovery of Fifth Serotype of Dengue Virus (DENV-5): A New Public Health Dilemma in Dengue Control." *Medical Journal Armed Forces India* 71: 67-70.

Nagel, R. (2002). "DarT: The embryo test with the Zebrafish *Danio rerio*--a general model in ecotoxicology and toxicology." *Altex* 19: 38-48.

Nakagome, F. K., et al. (2007). "Toxicidade aguda de alguns herbicidas e inseticidas utilizados em lavouras de arroz irrigado sobre o peixe *Danio rerio*." *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente* 17.

Natal, D. (2002). *Bioecologia do Aedes aegypti*. *Biológico*. São Paulo. 64: 205-207.

Panosso, R. F., et al. (1998). *Morfometria das Lagoas Imboassica, Cabiúnas, Comprida e Carapebus: Implicações Para Seu Funcionamento e Manejo*. *Ecologia das Lagoas*

Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ). Rio de Janeiro: 91-108.

Passos, R. A., et al. (2003). "Dominância de *Aedes aegypti* sobre *Aedes albopictus* no litoral sudeste do Brasil." *Revista de Saúde Pública* 37(6): 729-734.

Pialoux, G., et al. (2007). "Chikungunya, an epidemic arbovirolosis." *Lancet Infect Dis* 7(5): 319-327.

Pimenta-JR, F. G. (2015). *Gestão e Planejamento na Prevenção e no Controle da Dengue. Dengue: Teorias e Práticas*. Fiocruz. Rio de Janeiro: 381-405.

Pinho, L. C. (2008). "Diptera." *Guia on-line: identificação de larvas de insetos aquáticos do estado de São Paulo*.

Powers, A. M. and C. H. Logue (2007). "Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus." *Journal of General Virology* 88(9): 2363-2377.

Resende, M. C. d. and R. A. Gama (2006). "Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti*." *Rev Soc Bras Med Trop* 39(1): 72-75.

Rezende, K. (2013). *Avaliação das medidas de educação e Vigilância Ambiental em Saúde com vistas ao controle da infestação predial de *Aedes aegypti*, e da dispersão de criadouros dos mosquitos vetores do vírus da dengue*, Universidade de São Paulo: 126.

Rodrigues, B. K. (2007). *Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae)*, Universidade de São Paulo.

Romano, A. P. M., et al. (2011). "Febre amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle." *Epidemiologia e serviços de saúde* 20(1): 101-106.

Sanchez-Bayo, F. (2012). "Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms." *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*.

Sant'Anna, M. C. B. (2009). "Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro."

Santos, L. M. F., et al. (2013). "The use of aquatic environments for Scientific Education purposes: the case of the Imboassica Lagoon, Macaé, RJ." *Acta Limnologica Brasiliensia* 25: 352-360.

Santos, R. (2003). "Atualização da distribuição de *Aedes albopictus* no Brasil (1997-2002)." *Rev Saúde Pública* 37(5): 671-673.

Saúde, S. d. E. (2014). Chikungunya. Informe Técnico. C. d. C. d. Doenças. São Paulo: 13.

Scott, J. G. (1999). "Cytochromes P450 and insecticide resistance." *Insect biochemistry and molecular biology* 29(9): 757-777.

Serpa, L. L. N., et al. (2006). "Variação sazonal de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de Potim, São Paulo." *Revista de Saúde Pública* 40(6): 1101-1105.

Silva, C. (2013). "Avaliação de exposição ao diflubenzuron em guardas de endemias da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro [dissertação]." Rio de Janeiro (RJ): Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz.

Silva, R. N. (2015). Avaliação da Morfologia e Expressão Gênica de Biomarcadores Durante o Desenvolvimento Embrionário de *Danio rerio* (TELEOSTEI, CYPRINIDAE) sob Efeito de Substâncias Tóxicas ou Bioativas de Águas Poluídas. Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Universidade Federal dp Rio de Janeiro: 61.

Simon, F., et al. (2008). "Chikungunya: A Paradigm of Emergence and Globalization of Vector-Borne Diseases." *Medical Clinics of North America* 92(6): 1323-1343.

Siqueira Jr, J. B., et al. (2005). "Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002." *Emerg Infect Dis* 11(1): 48-53.

Soffiati, A. (1998). Aspectos Históricos das Lagoas do Norte do Estado do Rio de Janeiro. Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ). Rio de Janeiro: 3-35.

Stern, H. M. and L. I. Zon (2003). "Cancer genetics and drug discovery in the zebrafish." *Nature Reviews Cancer* 3(7): 533-539.

Tang, W. J., et al. (2015). "Chitin is endogenously produced in vertebrates." *Current Biology* 25(7): 897-900.

Tauil, P. L. (1999). Manual de vigilância epidemiológica da febre amarela. Brasília, Ministério da Saúde: 60.

Tauil, P. L. (2001). "Urbanização e ecologia do dengue Urbanization and dengue ecology." *Cad Saúde Pública* 17: 99-102.

Theilmann, P., et al. (2017). "Water quality assessment in the "German River of the years 2014/2015": how a case study on the impact of a storm water sedimentation basin displayed impairment of fish health in the Argen River (Southern Germany)." *Environmental Sciences Europe* 29(1): 10.

Tunaz, H. and N. Uygun (2004). "Insect growth regulators for insect pest control." *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 28(6): 377-387.

Valle, D. (1993). "Vitellogenesis in insects and other groups: a review." *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 88(1): 1-26.

Valle, D., et al. (2015). Controle Químico de *Aedes aegypti*, Resistência a Inseticidas e Alternativas. Dengue: Teorias e Práticas. Fiocruz. Rio de Janeiro, Fiocruz: 93-126.

Varejão, T. d. M. (2013). "Análise espacial do padrão de introdução e disseminação da dengue nos municípios do Espírito Santo."

WHO (2009). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control Geneva.

Yoshino, H., et al. (1996). "Metabolism of pyriproxyfen. 3. In vitro metabolism in rats and mice." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(6): 1578-1581.

Zhang, L., et al. (1998). "Cross resistance to insect growth regulators in pyriproxyfen-resistant housefly." *Applied entomology and zoology* 33(1): 195-197.