



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

CARLOS MESSIAS DE MENDONÇA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA VIABILIDADE BIOLÓGICA E
COMPETÊNCIA VETORIAL DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Vitória de Santo Antão

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO AMBIENTE

CARLOS MESSIAS DE MENDONÇA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA VIABILIDADE BIOLÓGICA E
COMPETÊNCIA VETORIAL DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Orientadora: Edvane Borges da Silva

Coorientadora: Maria Alice Varjal de Melo Santos

Vitória de Santo Antão

2019

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Lígia F. dos Santos, CRB4/2005

M539e Mendonça, Carlos Messias de
Efeitos da radiação gama na viabilidade biológica e competência vetorial de *aedes aegypti* (diptera: culicidae)./ Carlos Messias de Mendonça. - Vitória de Santo Antão, 2019.
52 folhas; il., fig., tab., graf.

Orientadora: Edvane Borges da Silva.
Coorientadora: Maria Alice Varjal de Melo Santos.
Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2019.
Inclui referências.

1. Aedes. 2. Raios gama. 3. Controle Biológico de Vetores. I. Silva, Edvane Borges da (Orientadora). II. Santos, Maria Alice Varjal de Melo (Coorientadora). III. Título.

614.4323 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-022/2020

CARLOS MESSIAS DE MENDONÇA

**EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA VIABILIDADE BIOLÓGICA E
COMPETÊNCIA VETORIAL DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Data de aprovação: 14/11/2019.

BANCA EXAMINADORA:

Dr^a Edvane Borges da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a Alessandra de Lima Albuquerque (Examinador externo)
Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE

Dr^a Ana Maria Mendonça De Albuquerque Melo (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

À minha mãe, sem seu incentivo, eu não estaria aqui.

À minha família e amigos, que tanto me apoiaram,

Dedico

AGRADECIMENTOS

Gratidão, primeiramente, a Deus, pela existência, pela proteção e livramentos, pelo Amor Incondicional, que tem me dedicado. Gratidão a todos os grandes mestres que passaram por minha vida, agradeço com por todos os incentivos, por todos os conhecimentos passados, sou grato a todas as situações, sejam elas, boas ou ruins, sou grato pelos momentos que edificaram o meu ser.

Gratidão a todos os meus ancestrais, que da vida primeira, me conduziram até o presente momento, quantas batalhas vencidas, quanto amor, quantas alegrias, quantos estímulos e incentivos. Gratidão à minha família, em especial a minha mãe, a qual dedico todo o amor, aos meus avós (*in memoriam*), as minhas tias e tios, a minha irmã, a todos, honro-os.

Gratidão a Elisângela Dias, minha namorada e futura esposa, gratidão por esses cinco anos de muito amor e companheirismo, por todo apoio, por todo incentivo, sou o que sou porque somos nós... a toda sua família pelo acolhimento, carinho e proteção.

Gratidão aos amigos do insetário do departamento de entomologia do Instituto Aggeu Magalhães, a Ana, Marina, Ana Célia, a Rafael, a Leticia (Sabrine) e Leticia, a Jaziela, essa que sempre esteve comigo nas horas de experimentos, quando davam certos, mas principalmente quando davam errado, gratidão por todo apoio e companheirismo. Gratidão a André Luiz, do Laboratório de Proteção Radiológica/UFPE, por tanta consideração e engajamento com o projeto.

Gratidão a minha orientadora, Edvane Borges, pela a oportunidade que me concedeu, pela confiança, pelos ensinamentos, a minha coorientadora Maria Alice Varjal de Melo Santos por ter compartilhado comigo sua grandiosidade como pesquisadora, por uma convivência rica em ensinamentos e disciplina. Gratidão por tudo!

Gratidão ao programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente – PPGSHMA, pela excelente condução, orientação e auxílio ao pós-graduando, através da competência, humanidade e sensibilidade de Ana e Sérgio. Ao Instituto Aggeu Magalhães-FIOCRUZ/PE, pela infraestrutura que possibilitaram a realização desta pesquisa. A CAPES pelo apoio financeiro, o qual possibilitou a realização deste trabalho.

RESUMO

A prevenção de arboviroses como dengue, chikungunya e Zika está fortemente associada a efetividade das ações de controle do mosquito *Aedes aegypti*, considerado o principal vetor no Brasil. Recentemente, tecnologias envolvendo o uso da radiação ionizante para a esterilização de machos do mosquito e sua liberação em campo estão sendo consideradas promissoras para o controle da espécie. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos secundários desta radiação sobre a competência vetorial das fêmeas, frequentemente expostas e liberadas durante a produção em massa dos machos estéreis (ME) ou ainda sobre os descendentes dos machos que sofreram esterilidade parcial. Neste contexto, o presente estudo avaliou parâmetros biológicos dos mosquitos provenientes de duas gerações filiais consecutivas (F1 e F2) de machos de *Ae. aegypti* expostos a 20, 30 e 40 Gy de radiação gama. Os testes em laboratório não revelaram efeitos adversos sobre a fecundidade, fertilidade, proporção sexual e sobrevivência dos descendentes, sugerindo que os efeitos mutagênicos sofridos pelos machos expostos à radiação não comprometeram o desempenho biológico das gerações seguintes. Da mesma forma, as fêmeas irradiadas com 40 Gy, apesar de completamente inférteis, se mostraram tão competentes ao Zika vírus, quanto as não expostas à radiação gama. Estes resultados são de grande importância epidemiológica e reforçam a necessidade de reduzir ao máximo as falhas no processo de separação de machos e fêmeas do mosquito. Além disso, também revelam que os efeitos mutagênicos de baixas doses de radiação gama têm fim no próprio indivíduo exposto, reforçando a prerrogativa da autolimitação da técnica e da necessidade de solturas continuadas dos machos estéreis para promover efeitos sustentáveis de controle de *Ae. aegypti*.

Palavras chaves: *Aedes aegypti*. Radiação. Técnica do Inseto Estéril.

ABSTRACT

The prevention of arboviruses such as dengue, chikungunya and Zika is strongly associated with the effectiveness of *Aedes aegypti* mosquito control actions, considered the main vector in Brazil. Recently, technologies involving the use of ionizing radiation for sterilization of mosquito males and their release in the field are being considered promising for species control. However, little is known about the side effects of this radiation on the vector competence of females, often exposed and released during mass production of sterile males (ME) or on the offspring of partially sterile males. In this context, the present study evaluated biological parameters of mosquitoes from two consecutive branch generations (F1 and F2) of males *Ae Aegypti* exposed to 20, 30 and 40 Gy of gamma radiation. Laboratory tests revealed no adverse effects on offspring fertility, fertility, sex ratio and survival, suggesting that the mutagenic effects suffered by radiation-exposed males did not compromise the biological performance of subsequent generations. Similarly, females irradiated with 40 Gy, although completely infertile, were as competent for Zika virus as those not exposed to gamma radiation. These results are of great epidemiological importance and reinforce the need to minimize failures in the separation process of males and females from the mosquito. Moreover, they also reveal that the mutagenic effects of low doses of gamma radiation have an end on the exposed individual himself, reinforcing the prerogative of the technique's self-limitation and the need for continued sterile male loosening to promote sustainable *Ae Aegypti* control effects.

Keywords: *Aedes aegypti*. Radiation. Sterile Insect Technique.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1– Representação da metamorfose do mosquito <i>Aedes aegypti</i> .	15
Figura 2- Criadouros naturais e artificiais de <i>Ae. aegypti</i>	16
Figura 3- Distribuição mundial, em laranja, áreas com risco de dengue, em branco, áreas sem risco de dengue.	17
Figura 4- Representação esquemática das diferentes barreiras de infecção em mosquitos.	27
Tabela 1 - Percentual de Fecundidade e fertilidade de fêmeas não irradiadas de <i>Aedes aegypti</i> oriundas da Ilha de Fernando de Noronha acasaladas com machos expostos (geração parental) a diferentes doses de radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.	35
Tabela 2 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> da primeira geração filial (F1) dos machos submetidos à radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.	36
Tabela 3 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> da segunda geração filial (F2) dos machos submetidos à radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.	37
Gráfico 1 - Quantitativo de ovos, larvas, pupas e adultos de <i>Aedes aegypti</i> da geração parental (A) cujos machos foram expostos a radiação gama s suas gerações filiais F1 (B) e F2 (C), não expostas	38
Gráfico 2 - Proporção sexual de <i>Aedes aegypti</i> da geração parental (A) cujos machos foram expostos a radiação gama s suas gerações filiais F1 e F2 não expostas.	39
Gráfico 3 - Taxa de infecção e disseminação em fêmeas de <i>Ae.aegypti</i> irradiadas com radiação gama 50Gy.	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 <i>Aedes aegypti</i> (LINNAEUS, 1762)	14
3.2 Importância epidemiológica de <i>Aedes aegypti</i>.....	17
3.3 Controle populacional de <i>Aedes aegypti</i>	21
3.4 Técnica do Inseto Estéril (TIE)	24
3.5 Competência Vetorial.....	26
4 RESULTADOS	29
4.1 Artigo 1	29
5 CONCLUSÕES.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Aedes (Stegomyia) aegypti Linnaeus, 1762, é um díptero pertencente à família Culicidae que possui ampla distribuição geográfica, abrangendo principalmente as regiões tropicais e subtropicais do globo. É um mosquito predominantemente urbano, de hábitos diurnos, e que apresentam alto grau de antropofilia, sendo considerado a principal espécie responsável pela transmissão de diversos arbovírus ao homem, entre eles, os causadores de doenças, como a dengue, febre amarela urbana, chikungunya e Zika. Isso demonstra sua grande importância para a saúde pública e a necessidade de controle da infestação para evitar epidemias dessas doenças (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

A partir da reinfestação do Brasil pelo *Ae. aegypti*, em meados da década de 1970, a espécie se expandiu rapidamente, especialmente para áreas com processos de urbanização acelerado e desordenado. Essas áreas têm em comum serviços deficientes de esgotamento sanitário e recolhimento de resíduos sólidos, além de irregularidade no abastecimento de água (TEIXEIRA *et al.*, 1999). Estas situações promovem a presença de uma grande variedade de criadouros potenciais nas áreas peridomiciliares dos imóveis, garantindo a manutenção de densidades elevadas de *Ae. aegypti* no meio urbano e, conseqüente, potencializando dos riscos de transmissão de doenças (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 1965).

Em 2015 o Brasil sofreu o seu primeiro surto conjunto de dengue, chikungunya e Zika. No ano seguinte foram registrados cerca de 1,5 milhão de casos prováveis de dengue no país, 277.882 casos prováveis de chikungunya e 216.207 casos de Zika. Em 2018, as regiões Centro-Oeste e Sudeste acumularam 36,6% e 29,2% dos casos, respectivamente (BRASIL, 2018a).

Na ausência de vacinas eficazes para a prevenção da maioria dessas arboviroses, o controle vetorial do mosquito *Ae. aegypti* tem sido o caminho para reduzir a sua incidência entre as populações humanas (TEIXEIRA *et al.*, 1999; TAUILL, 2002; AMARAL; PETRETSKI, 2012).

No Brasil, as ações de controle do *Ae. aegypti* estão baseadas no uso de inseticidas químicos de ação larvicida, inicialmente o temephos (organofosforado) e mais recentemente o pyriproxyfen, um regulador do crescimento de insetos, indicado para o tratamento de reservatórios de água potável. Além destes, a aplicação espacial de adulticidas da classe dos

piretróides (deltametrina/cipermetrina), organofosforados (malathion) e outros em Ultrabaixo Volume (UBV) em pontos estratégicos e outros espaços urbanos com concentração de casos de arboviroses (BRASIL, 2002).

O controle do *Ae. aegypti* encontra inúmeras dificuldades e um dos pontos de destaque é que apenas os criadouros visíveis e passíveis de tratamento, como os reservatórios de água potável, ou de eliminação (resíduos sólidos) são alcançados pelas ações do programa. Mesmo assim, o método empregado para o tratamento é aplicação de inseticidas químicos. Estudos comprovam que as populações brasileiras de *Ae. aegypti* estão resistentes a maioria destes compostos químicos (ARAUJO *et al.*, 2013; 2019; CHEDIAK *et al.*, 2016; DINIZ *et al.*, 2015). Diante disso, métodos alternativos para o controle mecânico-comportamental, biológico e genético do mosquito, estão sendo avaliados.

A Técnica do Inseto Estéril (TIE), a qual se baseia, tradicionalmente, na esterilização de machos por radiação ionizante e sua liberação em campo em grande número (KNIPLING, 1955) de forma a superar a quantidade de machos selvagens na competição pelas fêmeas, compõe o elenco de novas tecnologias para suprimir gerações futuras do mosquito (ALPHEY, 2010). Os machos esterilizados ao acasalarem com fêmeas selvagens tornam suas proles inviáveis. Este efeito tende a ser bastante efetivo uma vez que os mosquitos estão disponíveis para a copula em apenas um momento ao longo da sua vida (ROBINSON, 2002). Por se tratar de uma técnica baseada na reprodução, é considerada espécie-específica, sendo segura para outros organismos não-alvo, uma vez que é ambientalmente limpa, pelo pressuposto de não gerar resíduos químicos que possam se acumular no ambiente (ALPHEY, 2002; DYCK *et al.*, 2005; OLIVEIRA, 2011).

O controle populacional com o uso da TIE preconiza a supressão de populações de insetos, contudo a eliminação total da espécie é mais complexa. Doses altas de radiação ionizante podem gerar um elevado custo biológico aos machos irradiados, interferindo em aspectos como a competitividade para o acasalamento com as fêmeas selvagens, além da longevidade e viabilidade no habitat natural (ALPHEY *et al.*, 2010).

Uma alternativa a este problema é a utilização de baixas doses de radiação, embora estudos demonstrem que estas não promovem esterilização completa dos indivíduos, permitindo, portanto, que machos irradiados possam gerar descendentes. Portanto, é de grande importância avaliar a qualidade e viabilidade biológica desses descendentes, bem como das fêmeas que são regularmente liberados em campo junto com os machos estéreis.

Nesse contexto, esse trabalho se propôs a avaliar se a radiação gama é capaz de produzir efeitos biológicos nos mosquitos descendentes de machos irradiados ou de alterar o padrão de susceptibilidade das fêmeas irradiadas aos arbovírus.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da exposição à radiação gama sobre a competência vetorial de *Aedes aegypti* ao Zika vírus e sobre o desempenho biológico dos descendentes dos machos expostos a baixas doses dessa radiação ionizante.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a fecundidade, fertilidade, sobrevivência até a fase adulta e proporção sexual dos indivíduos de duas gerações filiais consecutivas provenientes de machos irradiados com 20, 30 e 40 Gy de radiação gama;
- Avaliar a competência vetorial de fêmeas expostas a uma dose de 40 Gy de radiação gama.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762)

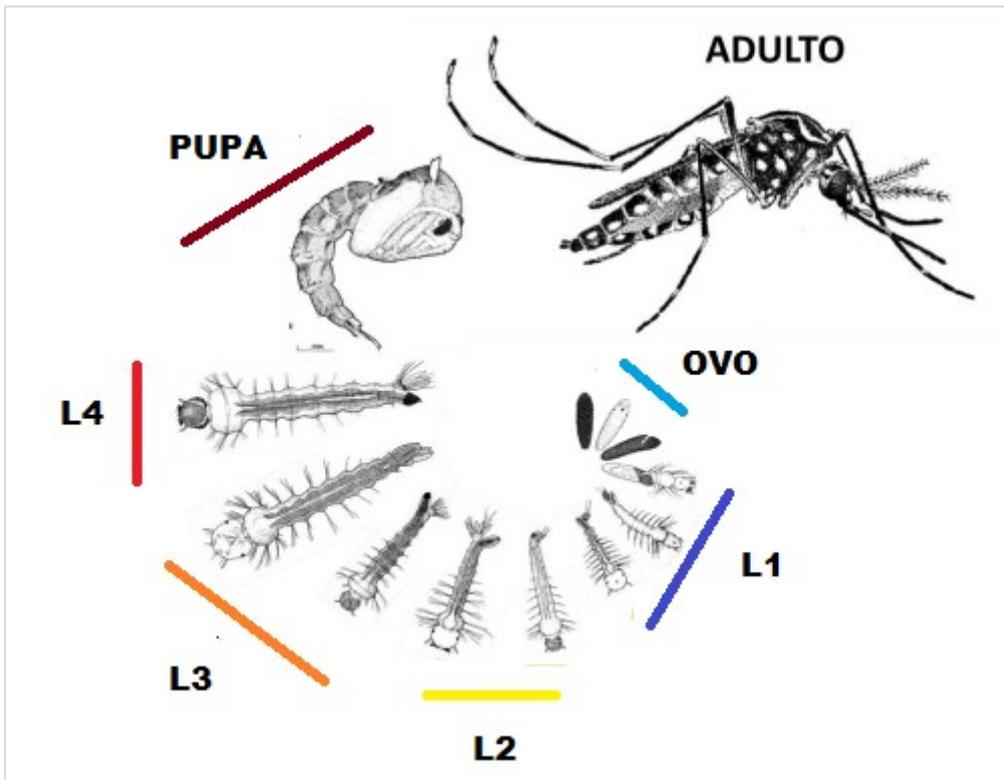
Aedes aegypti é um díptero pertencente à família Culicidae, subfamília Culicinae. Os mosquitos adultos são caracterizados por possuírem um corpo alongado, dividido em cabeça, tórax e abdômen, longas pernas, um par de asas e antenas (BECKER *et al.*, 2003). Apresenta coloração enegrecida, tórax ornamentado com duas faixas branco-prateadas formando um desenho característico da espécie em forma de lira (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

O Mosquito é originário da região subsaariana, na África, obteve rápida dispersão para outras áreas tropicais e subtropicais, entre elas o Brasil, foi também favorecida pela ação do homem sobre os ambientes urbanos (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). À medida as viagens tornaram-se mais frequentes, o deslocamento de pessoas foi facilitado e ocupação de novos espaços urbanos cresceu, veio a contribuir para a expansão territorial desta espécie e, conseqüentemente, dos agentes etiológicos por ela veiculados, revelando um fluxo contínuo de distribuição em muitos países.

Esta espécie apresenta metamorfose completa (holometabolía), apresentando um ciclo de vida curto, formado pelas fases de ovo, larva (compreendida por quatro estádios: L1, L2, L3 e L4). Após o quarto estágio larvário, ocorre a primeira metamorfose e surge a pupa, que, após cerca de 48 horas, sofre a segunda metamorfose e há a passagem para a forma adulta, havendo, nesta última, um dimorfismo sexual aparente (figura 1), (FORATTINI, 2002). Com exceção do inseto adulto (alado), que é terrestre, todos os demais estágios são aquáticos.

Ae. aegypti se desenvolve em locais que possam acumular água (criadouros) dos mais variados tipos desde os naturais como, ocos de árvores, bromélias, folhagem de plantas até os artificiais, deixados a céu aberto, como pneus e descartáveis em desuso, vasos e pratos de plantas, calhas, toneis, caixas d'água, cisternas e outros utilizados pelo homem para reservar água potável (PINHEIRO; CORBER, 1997; SILVA *et al.*, 2006). Nesses locais, os ovos são depositados acima da linha da água, nas paredes internas e úmidas dos recipientes onde, após o desenvolvimento embrionário, que se completa entre 48 a 72 h, as larvas eclodem ou os embriões entram em dormência (quiescência), quando as condições de umidade, temperatura e fotoperíodo são desfavoráveis ao crescimento da espécie, podendo permanecer nesta condição por alguns meses (SILVA; SILVA 1999; HALSTEAD, 2008; DINIZ *et al.*, 2015).

Figura 1– Representação da metamorfose do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Black IV *et al.* (2002).

Legenda: Em sentido horário: Ovo, Larvas (L1 – L4), Pupa e Adulto

A seleção do local de oviposição por parte das fêmeas é o principal fator responsável pela distribuição dos mosquitos nos criadouros e é de maior relevância para a dispersão passiva da espécie na natureza (HONÓRIO *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2006; DINIZ *et al.*, 2015). Esta espécie é considerada invasora e seu comportamento de oviposição em saltos leva a colonização de vários criadouros o que resulta em uma ampla disseminação de sua progênie, dificultando ainda mais o controle da espécie (REGIS *et al.*, 2013).

Na forma adulta, os mosquitos machos assim como fêmeas, buscam por fontes de carboidratos, essenciais ao seu metabolismo basal. As fêmeas por sua vez, necessitam de alimentação sanguínea para a produção e maturação dos ovos. A maturidade sexual dos machos, acontece aproximadamente 24 h após a passagem para a fase adulta. Por outro lado, a maturidade sexual das fêmeas acontece ao emergir, sendo-a apta para realizar o acasalamento (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002).

Figura 2- Criadouros naturais e artificiais de *Ae. aegypti*



Fonte: Adaptado de Lima-Camara *et al.* (2015); brasil.gov (2016)

Legenda: (A) criadouros naturais de *Ae. aegypti*, representados por: bromélia, ocos de árvores e (B) criadouros artificiais representados por: pneus em desuso, caixa d'água destampada e descartáveis em geral.

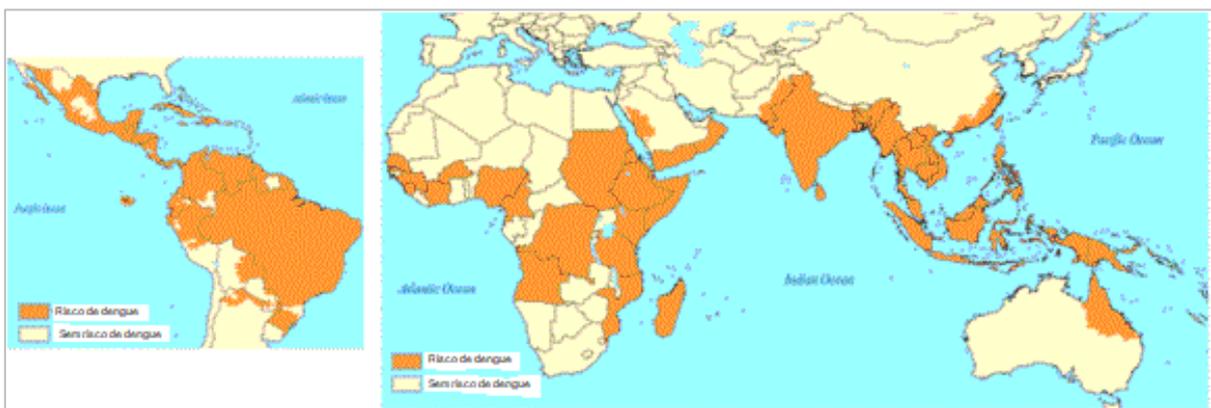
Essa espécie tem hábito antropofílico, sendo assim, sua preferência para realizar a hematofagia é o homem. As fêmeas de *Ae. aegypti* concentram seu hábito alimentar nos horários diurnos. Seus picos de maior atividade, geralmente, são no amanhecer e pouco antes do anoitecer (crepúsculos) (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Seguida da alimentação sanguínea, as fêmeas procuram abrigos seguros para realizar a digestão do sangue ingerido. Após o período da digestão, a fêmea busca um local para a deposição dos ovos, criadouros. O controle desses locais onde os mosquitos depositam seus ovos é a principal abordagem utilizada, objetivando uma diminuição populacional da espécie. As formas de controle vetorial para *Ae. aegypti* no Brasil englobam ações físicas/mecânicas, intervenções químicas ou biológicas até controle genético (BARRETO; TEIXEIRA, 2008; ALPHEY, 2010).

3.2 Importância epidemiológica de *Aedes aegypti*

Ae. aegypti apresenta grande relevância no cenário epidemiológico mundial por ser o vetor responsável pela transmissão de diversos patógenos causadores de doenças em humanos, dentre eles, os vírus causadores de arboviroses como a dengue, a febre amarela, chikungunya e zika. A disseminação de patógenos em *Ae. aegypti* se dá de duas maneiras distintas, a hematofagia (horizontal) e a transmissão transovariana (vertical). Na hematofagia, a transmissão ocorre via alimentação sanguínea realizada exclusivamente pelas fêmeas (CLEMENTS, 1999; CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). A fêmea ao realizar o repasto sanguíneo em hospedeiros infectados pode se infectar com o patógeno e é nesse mesmo processo que pode transmiti-los a outros hospedeiros. A outra forma de disseminação de patógenos é a partir da transmissão transovariana, que pode ocorrer quando o vírus invade o folículo embrionário infectando o embrião, nesse processo, a fêmea infectada transmite o patógeno para seus descendentes, onde já se encontram infectados nas suas formas jovens.

Dentre essas arboviroses, a dengue apresenta grande destaque no cenário epidemiológico do Brasil e está amplamente distribuída no mundo com atualmente, 40% da população mundial vivendo em áreas onde há risco (Figura 4) de transmissão do vírus dengue, com estimativa de que cerca de 100 milhões de pessoas estejam infectadas anualmente.

Figura 3- Distribuição mundial, em laranja, áreas com risco de dengue, em branco, áreas sem risco de dengue.



Fonte: Center for Disease Control and Prevention (CDC), com adaptações.

A doença tem como agente etiológico o vírus Dengue (DENV), o qual apresenta quatro sorotipos distintos (DENV-1 a DENV-4) que podem causar a doença (KNIFE; HOWLEY, 2007). Além de um 5º sorotipo (DENV-5) descrito apenas durante uma epidemia

na Malásia em 2007. (NORMILE, 2013; FARES, 2015). Podendo qualquer um desses ocasionar alterações fisiológicas de diferentes severidades, como febres leves, febre hemorrágica da dengue (FHD) ou síndrome do choque da dengue (SCD), (CASTANHA *et al.*, 2016)

A infecção pelo DENV pode atingir indivíduos de qualquer faixa etária, sendo os adultos maiores de 45 anos mais susceptíveis a infecção, e, pode ser classificada de duas formas: a dengue clássica e a hemorrágica; estas apresentam manifestações clínicas que variam desde febre leve (forma clássica) a morte por hemorragia e choque (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2009). No Brasil, no ano de 2017, foram registrados cerca de 240 mil casos prováveis de dengue, no ano seguinte, foram registrados 220.921 casos prováveis de dengue no país, com uma incidência de 106,4 casos/100 mil hab. Sendo 64,8% dos casos foram confirmados. Em outubro de 2018, já tinham sido notificados 80.170 casos para a região Centro-Oeste que apresentou o maior número de casos prováveis (36,3%) em relação ao total do país. Em seguida, aparecem as regiões Nordeste (62.936 casos; 28,5%), Sudeste (62.153 casos; 28,1%), Norte (13.262 casos; 6,0%) e Sul (2.400 casos; 1,1%), (BRASIL, 2018). Em relação a avaliação da taxa de incidência de casos prováveis de dengue (número de casos/100 mil hab.), em 2018, até o mês de outubro, as regiões Centro-Oeste e Nordeste apresentam as maiores taxas de incidência: 505,0 casos/100 mil hab. e 109,9 casos/100 mil hab., respectivamente.

A tática de prevenção contra novos casos, está baseada no controle vetorial, embora, o Ministério da Saúde já sinalizou a distribuição de vacinas pelo SUS, a vacina do Instituto Butantan está sendo produzida em parceria com o National Institutes of Health, dos EUA, a qual imuniza contra quatro tipos de dengue, (Tetravalente) utiliza vírus vivos geneticamente atenuados (enfraquecidos) e nos ensaios já realizados mostrou eficácia de até 90%.

Embora com a disponibilidade de novas vacinas para o combate a novos casos de dengue, ainda sim se faz necessário o controle vetorial mais eficaz, tendo em vista que *Ae. aegypti* apresenta um alto potencial na transmissão de outros arbovírus como, vírus da Febre Amarela, em seu ciclo urbano, Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV).

O Vírus da Febre Amarela também tem origem na África e possivelmente disseminado junto com o tráfico de escravos (BRYANT; HOMES; BARRETT, 2007; HUANG *et al.*, 2014). Em Barbado, no caribe, após infecção de escravos, os superintendentes também foram infectados durante as épocas de surto nos anos de 1647, 1650 e 1690, essa população de

homens brancos foram em direção à América do Norte, onde estabeleceram um novo foco e a febre amarela foi difundida também na América do Sul (MCNEILL, 2010). Durante alguns anos da construção do Canal do Panamá, aproximadamente 30.000 pessoas morreram, assim como também no período da guerra Hispano-Americana, aproximadamente 80% das forças americanas em Cuba contraíram a febre amarela (SPIELMAN; D'ANTONIO., 2001). Em condições silvestres africanas, a febre amarela é transmitida principalmente por *Aedes africanus*, *Ae. furcifer*, *Ae. Luteocephalus*, *Ae. Metálico*, *Ae. Vittattus* e *Ae. Opok* (HUANG *et al.*, 2014; GERMAIN *et al.*, 1982). Na América do Sul foi estabelecido um ciclo silvestre envolvendo vários mosquitos *Haemagogus*, *Aedes* e *Sabethes* (HUANG *et al.*, 2014).

Os reservatórios silvestres na América do Sul são macacos-prego (*Cebus* spp.), macaco-aranha (*Ateles* spp.) e bugio (*Alouatta* spp.) (BRYANT; HOMES; BARRETT, 2007., 2007). Ao ser infectado, o primata não humano (PNH) florestal tem um período de viremia de 1 a 6 dias, período em que pode transmitir o vírus para o mosquito e também desenvolver imunidade para toda a vida. Na América do Sul e Central, os macacos e saguis que são infectados morrem, ao invés de desenvolverem imunidade, há o extermínio dos primatas locais, isso faz com que aconteça o término das epizootias (MEEGAN *et al.*, 1994). A febre amarela é transmitida entre os seres humanos pelo *Aedes aegypti* em seu ciclo urbano (GUBLER *et al.*, 2004).

No Brasil, no período de monitoramento 2018/2019 (julho/2018 a junho/2019), entre as semanas epidemiológicas (SE) 27 e 03, foram notificados 682 casos humanos suspeitos de Febre Amarela (FA), dos quais 554 foram descartados, 116 permanecem em investigação e 12 foram confirmados (Tabela 2). Entre os casos confirmados, 5 evoluíram para o óbito. A maior parte dos casos eram trabalhadores rurais, sendo 2 do sexo feminino e 10 do sexo masculino, com idades entre 24 e 60 anos (BRASIL, 2019)

O vírus Zika é um vírus de cadeia simples de RNA da família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*. O ZIKV é transmitido principalmente pela picada de mosquito, embora outras vias de infecção tenham sido implicadas em alguns casos, como a transmissão perinatal e possivelmente sexual (BESNARD M, 2014; ATINKISON, 2016; GUEDES, 2017) Seu principal vetor é o *Ae. aegypti*, embora outros culicídeos podem estar implicados na sua transmissão, como o caso do *Culex quinquefasciatus*, (GUEDES, 2017).

Foi isolado, pela primeira vez, em 1947 a partir do soro de um macaco, na floresta Zika, em Uganda, de onde recebeu esse nome, (DICK, KITCHEN E HADDOW, 1952). O primeiro caso em humano foi registrado em 1954 na Nigéria (MACNAMARA, 1954). Em 2007, começou a se propagar causando uma epidemia na Micronésia, onde aproximadamente três quartos da população de pouco menos de 7,5 mil habitantes foram infectados pelo vírus Zika (DUFFY *et al.*, 2009).e, a partir daí começou a se disseminar para diferentes lugares do mundo, chegando nas Américas em 2013, e no Brasil, em 2014, nos estados da Bahia e Rio Grande do Norte (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA *et al.*, 2015).

Em 2015 foi observado um aumento inesperado do número de casos de nascidos vivos com microcefalia, inicialmente em Pernambuco e posteriormente em outros estados da região Nordeste. Os quais foram relacionados ao ZIKV. Após o aviso das autoridades sanitárias brasileiras sobre a circulação do vírus Zika, no mesmo ano, a organização mundial de saúde divulgou um alerta epidemiológico sobre a doença em que destaca a associação do arbovírus com síndromes neurológicas e malformações congênitas (PAHO/WHO, 2015).

Em relação a infecções atuais, em 2018 no Brasil, foram registrados 7.544 casos prováveis de doença pelo vírus Zika no país, com taxa de incidência de 3,6 casos/100 mil hab. sendo 43,8 % dos casos foram confirmados. A região Sudeste apresentou o maior número de casos prováveis (2.779 casos; 36,8%) em relação ao total do país. Em segundo lugar aparece a região Nordeste (2.184 casos; 29,0%), seguido das regiões Centro-Oeste (1.596 casos; 21,2%), Norte (944 casos; 12,5%) e Sul (41 casos; 0,5%). Quando analisada a taxa de incidência de casos prováveis de Zika (número de casos/100 mil hab.), as regiões Centro-Oeste e Norte apresentam as maiores taxas de incidência: 10,1 casos/100 mil hab. e 5,3 casos/100 mil hab., respectivamente. (BRASIL, 2018).

O vírus Chikungunya pertence à família *Togaviridae* e compõe o gênero *Alphavirus*, que foi identificado pela primeira vez numa epidemia na Tanzânia em 1952 (WEAVER; FORRESTER *et al.*, 2015), havendo outros surtos consequentes na África, e algumas epidemias na Índia e Sudeste asiático em 1953 (CAGLIOTI *et al.*, 2013, POWERS *et al.*, 2000). A palavra Chikungunya é derivada de uma palavra do idioma Makonde que significa “aqueles que se dobram”. Descrevendo as pessoas acometidas por artralguas severas, sintoma característico da chikungunya (WEAVER E LECUIT, 2015). Embora a taxa de mortalidade decorrente de infecções por CHIKV seja eventualmente baixa, a doença é altamente

incapacitante com sequelas que podem durar por anos mantendo o indivíduo afastado de suas funções e gerando um importante impacto econômico.

Em 2010, foram diagnosticados os primeiros casos de infecção por CHIKV no Brasil em três pacientes que haviam viajado para a Indonésia e para a Índia. Em setembro 2014 foi detectado o primeiro caso com transmissão autóctone no Brasil, no estado do Amapá. No mesmo mês, um surto de CHIKV foi detectado no estado da Bahia. O Ministério da Saúde do Brasil divulgou que em 2015, até a semana epidemiológica 15, foram notificados 3.135 casos suspeitos (transmissão autóctone) de febre de chikungunya nos estados do Amapá e Bahia, dos quais 1.688 foram confirmados.

Em 2018, até a o mês de outubro, foram notificados cerca de 328 mil casos de febre chikungunya, sendo a região Sudeste a que apresentou o maior número de casos prováveis (48.344 casos; 59,7%) em relação ao total do país. Em seguida, aparecem as regiões Centro-Oeste (13.714 casos; 16,9%), Nordeste (10.797 casos; 13,3%), Norte (7.838 casos; 9,7%) e Sul (247 casos; 0,3%). A análise da taxa de incidência de casos prováveis de febre de chikungunya (número de casos/100 mil hab.), em 2018, as regiões Centro-Oeste e Sudeste apresentam as maiores taxas de incidência: 86,4 casos/100 mil hab. e 55,6 casos/100 mil hab., respectivamente. (BRASIL, 2018).

A transmissão dos vírus ocorre de forma horizontal, entre mosquitos, e os seres humanos, bem como entre aves e outros vertebrados, contudo, há também a transmissão vertical. Em algumas espécies esses vírus passam dos vetores adultos para os seus descendentes, como acontece com os mosquitos (ROSEN,1988). A transmissão vertical, pode ser do tipo transovariana (vírus dentro do ovo) ou transovo (vírus na superfície do ovo) (HIGGS; BEATY, 2004; LAMBRECHTS; SCOTT, 2009). A transmissão vertical natural foi identificada no Nordeste brasileiro, no Estado do Ceará, na cidade de Fortaleza, em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, (MARTINS *et al.*, 2012). Na Índia ocorreu a transmissão vertical do vírus Chikungunya em *Aedes aegypti* (SINGH, 2016), na Tailândia foi transmitida em condições experimentais para *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (CHOMPOOSRI, 2016). O conhecimento que os vírus e os vetores se adaptam se torna de grande importância, pois com isso conseguem sobreviver em diversas situações.

3.3 Controle populacional de *Aedes aegypti*

A principal abordagem utilizada para o controle populacional de *Ae. aegypti* consiste primordialmente em bloquear o ciclo biológico do mosquito, visando a diminuição

populacional da espécie, minimizando o contato do mosquito com o ser humano. As abordagens de controle populacional de *Ae. aegypti* no Brasil consistem em ações mecânicas ou ambientais e intervenções químicas ou biológicas (BARRETO; TEIXEIRA, 2008; GLASSER; GOMES, 2002). O controle mecânico/ambiental é baseado na eliminação mecânica de criadouros, que consiste em transformações do ambiente, relacionadas a recursos hídricos, prevendo a eliminação ou diminuição de habitats do mosquito.

No Brasil são conhecidos diversos e graves problemas associados ao saneamento básico, abastecimento de água de forma irregular, coleta e encaminhamento precário de resíduos sólidos. Tais fatores que somados aos hábitos população, aumentam a quantidade de criadouros artificiais dos mosquitos no ambiente (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

Algumas ações de controle que são utilizadas, como o próprio saneamento básico das residências, envolvem um custo elevado nos períodos iniciais, tendo em vista que estão relacionadas às políticas públicas de caráter permanente e em constante manutenção (PESSOA, 2018). Métodos relacionados à manipulação da habitação humana também estão inseridos neste tipo de controle, como a telagem de portas e janelas, utilização de mosquiteiros impregnados com inseticida, dentre outros que auxiliam no bloqueio do contato entre o humano e o mosquito (FERRARI, 1996; MACORIS, 1999; FORATTINI, 2002).

A partir do século XX, diversas estratégias vêm sendo implementadas para o controle populacional de *Ae. aegypti* no Brasil, todas as estratégias com o objetivo inicial de interrupção da transmissão do vírus da febre amarela urbana, apesar que após diversos esforços para a contenção do mosquito não foram eficazes pois a febre amarela permanecia endêmica no país (COSTA *et al.*, 2010). O Brasil participou do processo de erradicação do *Ae. aegypti* e obteve sucesso na primeira etapa de eliminação da espécie no ano de 1955. O último foco do mosquito foi encontrado e extinto no nordeste brasileiro em um município da zona rural da Bahia (FRANCO, 1969) e três anos depois na XV Conferência Sanitária Pan-Americana, em Porto Rico, foi declarado oficialmente que o Brasil conseguiu erradicar o mosquito *Ae. aegypti* (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002). Embora as ações de vigilância epidemiológicas estivessem atuantes, como consequência de ações humanas e o aumento da urbanização houve uma reintrodução do *Ae. aegypti* no Brasil em 1976 e foram confirmadas infestações nos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte, (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

Os programas da época eram essencialmente centrados no combate químico, com baixíssima ou mesmo nenhuma participação da comunidade, sem integração de estratégias e com pouca utilização do instrumental epidemiológico mostraram-se incapazes de conter um vetor com altíssima capacidade de adaptação ao novo ambiente criado pela urbanização acelerada e pelos novos hábitos, (BRASIL, 2002). Em 1996 o Ministério da Saúde decide rever a estratégia empregada contra o *Ae. aegypti* e propõe o Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa), que preconizava a atuação multissetorial e tinha como base um modelo descentralizado com a participação das três esferas de governo, federal, estadual e municipal, cujo objetivo era centrado na redução dos casos de dengue hemorrágica, (BRAGA; VALLE, 2007).

Apesar do funcionamento do PEAa, houve a introdução do sorotipo 3 da dengue no Brasil e sua rápida disseminação para oito estados, demonstrou a facilidade para a circulação de novos sorotipos, e com as multidões que se deslocam diariamente, ficou evidenciada a possibilidade de ocorrência de novas epidemias de dengue. Visto este cenário epidemiológico, em 2002 Ministério da Saúde apresenta Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Contudo, as ações de controle do PNCD, continuaram voltadas ao uso de inseticidas químicos, e questões como saúde, educação e saneamento, mais uma vez, foram secundarizadas, condições ambientais essas determinantes para a proliferação do mosquito, (BRAGA; VALLE, 2007; MELO-SANTOS, 2010).

O histórico do controle vetorial de *Ae. aegypti* reforça a ideia da integração de diferentes métodos e ferramentas, adequadas para garantir o sucesso na diminuição populacional do mosquito. O controle químico ainda é a metodologia mais utilizada para o controle de *Ae. aegypti* no mundo. Contudo, estudos já indicam inseticidas químicos tem selecionado populações resistentes de *Ae. aegypti* em vários países, inclusive no Brasil (MONTELA *et al.*, 2007; DINIZ, 2015). Para conter o problema de resistência aos inseticidas químicos, em 1999 foi instalada a Rede de Monitoramento Nacional de Resistência de *Aedes aegypti* (MoReNAa), coordenado pelo PNCD. À medida em que uma população do mosquito apresentava uma razão de resistência ≥ 10 ao temefós, este era substituído. O Bti (*Bacillus thuringiensis* sorovar. *Israelenses*) foi o larvicida de escolha para o PNCD para a substituição do temefós até 2009. A partir desse ano passou a vigorar um esquema de rotatividade entre inseticidas químicos, como os reguladores de crescimento de insetos (IGR) (BRAGA; VALLE, 2007b).

3.4 Técnica do Inseto Estéril (TIE)

A Técnica do Inseto Estéril (TIE) desenvolvida na década de 1950, é uma modalidade de controle genético baseada na supressão populacional de espécies, que consiste na produção massiva de insetos da espécie-alvo, frequentemente os machos, sua esterilização e liberação em campo, em número capaz de superar a densidade de machos selvagens. Esta técnica se mostrou bem-sucedida contra as principais pragas de insetos de importância veterinária e agrícola, como a mosca da bicheira *Cochliomyia hominivorax*, a qual foi erradicada das Américas do Norte e Central, e a erradicação da *Glossina austeni* da Ilha de Unguja, em Zanzibar, (KNIPLING, 1955; BUSHLAND, 1985; MEYER, SIMPSON 1995; HENDRICHS & ROBINSON, 2005; MASTRANGELO, 2011; VREYSEN *et al.*, 2014). Mais recentemente, um caso de bastante sucesso de controle de insetos empregando a TIE foi o controle da mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata*. No Brasil, na região nordeste, em Juazeiro da Bahia, cuja região é conhecida pela fruticultura de exportação, o emprego da TIE faz parte do programa de Manejo Integrado de mosca-das-frutas, o que levou a implantação da biofábrica Moscame na região (HENDRICHS *et al.*, 2002).

Na TIE tradicional a esterilização de machos é geralmente feita por radiação ionizante, X ou gama, cujo objetivo é inviabilizar os espermatozoides dos machos sem causar um comprometimento, significativo, do seu potencial de competir, em campo, pelas fêmeas selvagens e promover a eliminação das gerações subsequentes. É considerada uma técnica espécie-específica, segura para outros organismos não-alvo e ambientalmente “limpa”, haja visto que os machos esterilizados por radiação não se tornam fontes emissoras dessa radiação e têm um tempo reduzido de vida, ou seja, um fim em si mesmo, aspecto que inclusive requer liberações continuadas para garantir a efetividade de controle (WILKE *et al.*, 2009; ALPHEY 2002; DYCK *et al.*, 2005; PHUC *et al.*, 2007; PAPATHANOS *et al.*, 2009; OLIVEIRA, 2011).

Para a irradiação de insetos, geralmente são utilizados irradiadores de raios gama, (KLASSEN, 2005). A fonte mais comum utilizada é Cobalto 60, que emite raios gama de alta energia, sendo frequentemente utilizado, devido sua fabricação simplificada. A dose aplicada é determinada pelo tempo de exposição a fonte radioativa e pela atividade atual da fonte (HELINSKI *et al.*, 2009).

Para a melhorar a forma de como ocorre a irradiação no órgão de interesse, se faz necessário o conhecimento do estágio de desenvolvimento e a idade em que o inseto se encontra, além do tempo de maturação dos seus órgãos reprodutivos. A escolha da forma influenciará diretamente nos procedimentos para manuseio, irradiação e transporte de amostras (KLASSEN, 2005).

São considerados parâmetros importantes para medir a qualidade dos insetos estéreis e a eficiência da TIE: o grau de inviabilidade reprodutiva dos machos; o sucesso na competição com os machos selvagens (populações de campo) para o acasalamento com as fêmeas; a longevidade; a facilidade de criação e liberação em massa desses mosquitos (BARRY *et al.*, 2003; HELINSKI *et al.*, 2009; PAPATHANOS, *et al.*, 2009; WILKE *et al.*, 2009; LIMA, 2015). Estudos de campo demonstraram que uma dose de radiação pode ser selecionada, dando esterilidade suficiente sem impactar significativamente a competitividade do macho estéril (BELLINI *et al.*, 2013; LIMA, 2015). Estudos em laboratório mostram que irradiar as pupas em estágio avançado, permite que os machos apresentem melhor performance de acasalamento (HELINSKI, 2009).

Em relação à espécie *Ae. aegypti*, os primeiros testes utilizando machos estéreis foram realizados por Harvey e colaboradores na cidade de Pensacola, Flórida – Estados Unidos em 1960. Foi utilizada uma dose de 180 Gy de radiação gama através do elemento Cobalto 60. Contudo, não foram alcançados níveis satisfatórios de supressão da população do mosquito. Houve uma redução considerável da competitividade dos mosquitos, resultante da elevada dose de radiação a que foram expostos, foi o caso de o programa de controle vetorial ter sido falho (ALPHEY *et al.*, 2010). A dose de irradiação parece afetar de forma diferente machos e fêmeas dos insetos, a pupa fêmea parece ser mais sensível que a macho. Em 2010, Balestrino e colaboradores observaram fortes reduções nas fecundidades e fertilidades de fêmeas irradiadas com 20 Gy e supressão completa da oviposição em doses mais elevadas, enquanto que machos passavam a ser afetados a partir de 40 Gy.

As técnicas de esterilização para *Ae. aegypti* têm sido centradas no uso de radiações ionizantes (gama e raios X). Outras técnicas genéticas para controle populacional utilizam mosquitos transgênicos, através do sistema (liberação de insetos portadores de um gene letal). RIDL (Release of Insects carrying Dominant Lethals). Empresas como a Mosamed e a Oxford insect technology, têm como foco o desenvolvimento de tecnologia para o combate de insetos vêm desenvolvendo técnicas aprimoradas para a produção e liberação de mosquitos

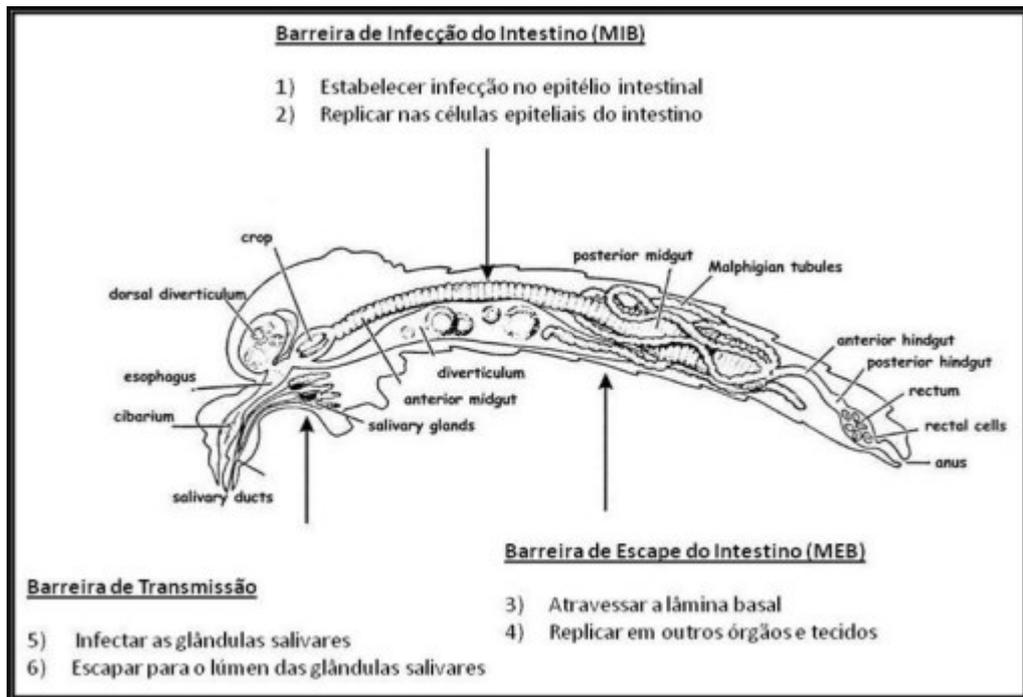
transgênicos (CARVALHO, *et al.*, 2014). A introdução de novas tecnologias para produção em massa de machos estéreis, no entanto requer meios menos laboriosos de sexagem e a otimização do sistema de criação, tais fatores se tornam essenciais para obter um controle de qualidade na TIE (BAKRI; MEHTA; LANCE, 2005; BALESTRINO *et al.*, 2014; BALESTRINO *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*; 2014; CHADEE *et al.*, 2014; FRANZ, 2002; HAMADY *et al.*, 2013; HELINSKI; KNOLS, 2008).

3.5 Competência Vetorial

A competência vetorial pode ser definida como a capacidade biológica intrínseca de uma espécie em transmitir biologicamente um agente etiológico de doenças, sendo, portando, controlada por fatores genéticos (BEERNTSEN *et al.*, 2000). No caso da competência vetorial de mosquitos para arbovírus, ela inclui a suscetibilidade à infecção, a duração do período de incubação extrínseco (PIE) e a eficiência na transmissão (BOSIO *et al.*, 1998; BOSIO *et al.*, 2000; BLACK *et al.*, 2002). Sendo assim, a competência vetorial para DENV pode ser estimada pela proporção de mosquitos que, tendo ingerido sangue infectado com vírus, apresentam após um tempo de incubação, infecção disseminada (presença de vírus ou antígenos virais em qualquer parte do corpo, exceto intestino). A taxa de disseminação corresponde à proporção de mosquitos com infecção disseminada pelo total de mosquitos que apresentaram intestinos positivos (CHRISTOFFERSON; MORES, 2011; RICHARDSON *et al.*, 2006; SALAZAR *et al.*, 2007).

O ciclo de um arbovírus dentro de um mosquito competente envolve diversos eventos entre o vetor e o vírus, além de barreiras anatômicas, fisiológicas e moleculares que precisam ser vencidas pelo vírus para que este infecte os órgãos do mosquito. São conhecidas três importantes barreiras para o estabelecimento da infecção nos mosquitos, são as: a barreira de infecção do intestino médio (Midgut Infection Barrier - MIB), a barreira de escape do intestino médio (Midgut Escape Barrier - MEB) e a barreira de transmissão (Transmission Barrier - TB) (Figura 5) (BENNETT *et al.*; 2002, BLACK *et al.*, 2002).

Figura 4- Representação esquemática das diferentes barreiras de infecção em mosquitos.



Fonte: Black *et al.* (2002), adaptado.

Em mosquitos competentes como vetores, as barreiras de infecção são vencidas e ocorre a transmissão viral com eficiência. Há mosquitos incapazes de transmitir o patógeno mesmo após ingerir de sangue infectado, existindo assim, uma incompatibilidade entre os dois organismos, sendo o desenvolvimento do patógeno interrompido em alguma fase da infecção (MARQUARDT, 2004). Outros fatores extrínsecos que podem interferir na competência vetorial de uma espécie a um patógeno são: o título do vírus no sangue e a competição interespecífica na fase larval do inseto. Diallo *et al.* (2008) avaliaram a competência vetorial de populações de *Ae. aegypti* do Senegal para dois isolados de DENV-2, sendo um deles uma cepa silvestre, e mostraram que a diferença nas taxas de disseminação poderia ser decorrente do título viral usado nos diferentes experimentos. A competição existente entre as larvas de mosquito pode influenciar algumas características do inseto adulto e dessa forma afetar a competência vetorial. Populações diferentes de *Ae. aegypti* apresentam variabilidade considerável na competência vetorial para arbovírus, inclusive para o DENV-2 (GUBLER *et al.*, 1979). Diferentes linhagens desse vetor respondem diferentemente às infecções virais, apresentando, portanto, competência vetorial variada devido às variações genéticas dos indivíduos (BLACK *et al.*, 2002; SALAZAR *et al.*, 2007).

Embora diversas espécies de mosquitos possam ingerir arbovírus durante a alimentação sanguínea, para que seja considerada vetor biológico devem ser atendidos alguns critérios: 1) o isolamento do arbovírus em espécimes coletados diretamente na natureza; 2) demonstração que a fêmea do mosquito se infectou após uma alimentação artificial utilizando o sangue de um hospedeiro na fase de viremia ou uma suspensão de vírus; 3) demonstração de que o vírus pode ser transmitido para um novo hospedeiro através de uma picada, ou detecção comprovada do vírus nas glândulas salivares da espécie e 4) evidências em campo confirmando a associação entre a espécie de mosquito estudada e a população de vertebrados na qual a infecção viral esteja ocorrendo (MITCHELL, 1995).

A competência vetorial de uma espécie a um determinado patógeno pode ser estudada por várias técnicas. As técnicas anteriormente utilizadas traziam resultados tipicamente qualitativos, pois detectavam presença ou ausência do antígeno viral em diferentes partes do mosquito após um período de 14 dias. Os rápidos avanços na biologia molecular têm facilitado o desenvolvimento de novas técnicas para avaliar aspectos da competência vetorial nas espécies de mosquitos. A técnica de RT-PCR em tempo real ou RT-PCR quantitativa (qRT-PCR) tem proporcionado a sensibilidade, rapidez e o poder estatístico necessários aos experimentos.

4 RESULTADOS

4.1 Artigo 1

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA VIABILIDADE BIOLÓGICA E COMPETÊNCIA VETORIAL DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

Artigo a ser submetido ao periódico



Home > Journals > Applied Radiation and Isotopes



ISSN: 0969-8043

Applied Radiation and Isotopes

A journal of nuclear and radiation techniques and their applications in the physical, chemical, biological, medical, earth, planetary, environmental, security and engineering science.

Editors-in-Chief: [Richard P. Hugtenburg](#), [Brian E. Zimmerman](#)

> [View Editorial Board](#)

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA VIABILIDADE BIOLÓGICA E COMPETÊNCIA VETORIAL DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

**Carlos Messias de Mendonça^{1*}; Jaziela de Arruda Mendonça²; Edvane Borges da
Silva¹; Maria Alice Varjal de Melo Santos²**

¹*Centro Acadêmico de Vitória, Rua do Alto do Reservatório, s/n - Bela Vista - Vitória de Santo Antão, CEP 50670-901, PE, Brasil.*

²*Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ/PE, Av. Professor Moraes Rego, s/n – Cidade Universitária – Recife/PE. CEP 50.740-465.*

*Corresponding author. Tel.: 55 – 081 – 997165358
E-mail address: mendoncacm27@gmail.com (Carlos Mendonça)*

Highlights

- *Aedes Aegypti* males are exposed to 20, 30 and 40 Gy of gamma radiation.
- Biological parameters of mosquitoes from two consecutive branch generations (F1 and F2) are evaluated.
- Side effects of gamma radiation on vector competence of *Aedes aegypti* females were evaluated.
- No side effects were observed in biological parameters of mosquitoes from two consecutive branch generations.
- Females mosquitoes irradiated with 40 Gy, although completely infertile, were as competent for Zika virus as those not exposed to gamma radiation.

RESUMO

O presente estudo avaliou efeitos secundários da radiação gama sobre a competência vetorial das fêmeas *Aedes aegypti* e os parâmetros biológicos de mosquitos provenientes de duas gerações filiais consecutivas de machos expostos a 20, 30 e 40 Gy de radiação gama. Os resultados mostraram que as fêmeas irradiadas, apesar de completamente inférteis, se mostraram tão competentes ao Zika vírus, quanto as não irradiadas. Também não foram observados efeitos adversos sobre os parâmetros biológicos dos descendentes de machos irradiados.

Palavras-chaves: *Aedes aegypti*; Radiação, Técnica do Inseto Estéril

1. INTRODUÇÃO

Em 2015 o Brasil sofreu o seu primeiro surto conjunto de dengue, chikungunya e Zika, os quais têm como principal vetor o mosquito *Aedes aegypti*. No ano seguinte foram registrados cerca de 1,5 milhão de casos prováveis de dengue no país, 277.882 casos prováveis de chikungunya e 216.207 casos de Zika. Em 2018, as regiões Centro-Oeste e Sudeste acumularam 36,6% e 29,2% dos casos, respectivamente (BRASIL, 2018).

Na ausência de vacinas eficazes para a prevenção da maioria dessas arboviroses, o controle vetorial do mosquito *Ae. aegypti* tem sido o caminho para reduzir a sua incidência entre as populações humanas (TEIXEIRA *et al.*, 1999; TAUIL, 2002; AMARAL & PETRETSKI, 2012). A técnica do inseto estéril (TIE) vem se apresentando como uma alternativa para o controle de *Ae aegypti*. No entanto, sua efetividade depende da liberação de um grande número de machos estéreis no ambiente, para copular com fêmeas selvagens, ou seja, para competir com os machos selvagens para o acasalamento. Desta forma, os machos estéreis precisam ser produzidos em larga escala e liberados continuamente para garantir a supressão de novas gerações de *Ae. aegypti* em campo. Entre as vantagens da TIE se destacam sua elevada especificidade e autolimitação, que reduzem consideravelmente os riscos de impactos ambientais para espécie não-alvo.

Entretanto, duas principais limitações são inerentes à produção massal dos mosquitos que serão expostos à radiação ionizante. Na primeira, o processo de separação entre machos e fêmeas não é 100% eficaz, uma vez que cerca 5% de pupas fêmeas passam pelo processo de separação e são expostas à radiação ionizante para, posteriormente, serem soltas no campo e, a segunda, o estabelecimento da menor dose efetiva de esterilização associada ao melhor desempenho biológico do macho.

Trabalho recente avaliando a esterilização de *Ae. aegypti* por radiação gama, revelou que doses inferiores a 50 Gy promoveram esterilidade parcial ou incompleta dos machos expostos, conferindo-lhes, conseqüentemente, maior competitividade e longevidade em campo do que os machos completamente estéreis. Porém, resta a dúvida sobre o efeito da radiação ionizante sobre os descendentes desses mosquitos.

Com base nos aspectos ressaltados acima, o presente estudo se propôs a avaliar o efeito mutagênico da radiação gama sobre a competência vetorial ao vírus zika em fêmeas irradiadas e se existe efeitos nos descendentes dos machos com esterilidade incompleta. Tais informações poderão ser utilizadas para aperfeiçoar a TIE, para avaliar riscos e benefícios

associados à técnica e contribuir para o conhecimento básico sobre os efeitos da radiação ionizante sobre este produto biotecnológico.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Populações de *Aedes aegypti*

No presente estudo, foi utilizada uma subpopulação de campo da Vila da Praia da Conceição (VPC-*Aedes*), Distrito de Fernando de Noronha/PE, mantida no insetário do Departamento de Entomologia/Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz, a oito gerações filiais consecutivas, desde dez/2015. A VPC-*Aedes* é susceptível a todos os inseticidas químicos e biológicos, e apresenta um padrão de atividade de enzimas de detoxificação similar ao observado para a linhagem Rockfeller, frequentemente utilizada como referência para avaliação de inseticidas químicos (FLORENCIO, 2017). Foi utilizada metodologia baseada em Florêncio (2017) para produção em massa de mosquitos *Ae. aegypti* em laboratório.

2.2 Irradiação das amostras biológicas

Para o processo de irradiação, pupas da VPC-*Aedes* com idade entre 24 e 36 horas foram sexadas no separador mecânico (J. W. Hock, modelo 5412, Gainesville, Florida, USA) baseado no tamanho, considerando que os machos naturalmente são menores do que as fêmeas e pupam mais cedo do que estas. Em seguida, as pupas-machos foram transferidas, em grupos de até 500 indivíduos, para placas de Petri, forradas com papel de filtro umedecido, para garantir um contato mínimo com o ambiente líquido e ao mesmo tempo limitar a movimentação das mesmas.

As pupas foram expostas à fonte uma fonte de Co-60 em um irradiador do tipo Gammacell 220 ® (MDS Nordion, Ottawa, Canadá), pertencente ao Departamento de Energia Nuclear, da Universidade Federal de Pernambuco (DEN-UFPE). Foram utilizadas três doses de radiação gama, 20, 30, e 40 Gy, conhecidamente semi-esterilizantes (LIMA *et al.*, 2015) para a população-alvo (*Aedes*-VPC), além dos controles não irradiados. O tempo de exposição dos grupos às diferentes doses variou de 68 a 89 segundos, na taxa de 1,905 KGy/h.

2.3 Obtenção das gerações filiais não irradiadas

O nível de esterilidade parcial induzido foi avaliado pela viabilidade da progênie de fêmeas virgens, submetidas ao cruzamento com os machos irradiados (Macho-I) com as diferentes doses ou os machos não irradiados, como grupo controle, os quais corresponderam à geração parental. Um total de 30 casais, com idade de 3 a 4 dias, foram acondicionados, individualmente, em potes plásticos telados (16 x 8 cm). Machos e fêmeas foram alimentados com solução de açúcar a 10%, *ad libitum* e, adicionalmente, às fêmeas foi oferecido um repasto sanguíneo, por um período de 30 minutos, para a obtenção dos ovos da primeira geração filial (F1). Casais adultos da geração F1 foram mantidos de forma similar, a exceção da exposição à radiação, para serem obtidos os descendentes da segunda geração filial (F2). De um modo geral, os ovos foram coletados nos potes de manutenção dos casais utilizando papel filtro umedecido (papelote), como substrato.

Os ovos obtidos de todos os cruzamentos foram mantidos em papelotes úmidos, durante 72 horas, para garantir a embriogênese. Os ovos postos por cada fêmea, apenas em seu primeiro ciclo gonotrófico, foram contados e posteriormente somados ao das demais para estimar a fecundidade e o número médio de ovos por grupo. A fertilidade foi representada pelo percentual de ovos cujas larvas eclodiram em cada grupo/dose de radiação.

As larvas obtidas de cada grupo, representativas das duas gerações filiais (F1 e F2), foram criadas até a fase de pupa, separadas mecanicamente de acordo com o tamanho, contadas e acondicionadas em gaiolas de contenção até a passagem para a fase adulta. Os mosquitos adultos obtidos após três dias da separação foram classificados em machos e fêmeas para o cálculo do percentual de emergência a partir da quantidade de pupas. A razão sexual foi estimada pela relação entre o número de machos e fêmeas de cada grupo.

2.4 Competência vetorial das fêmeas irradiadas ao vírus Zika

O procedimento de infecção artificial oral das fêmeas de *Ae. aegypti* foi realizado no Infectório do Departamento de Entomologia/IAM, onde as etapas de infecção e manutenção dos mosquitos infectados foram realizadas dentro das normas internacionais de biossegurança nível 2. O procedimento de infecção oral com ZIKV seguiu o protocolo descrito por Salazar *et al.* (2007) e Guedes, (2017). A alimentação sanguínea artificial com sangue de coelho desfibrinado foi conduzida utilizando as fêmeas de *Ae. aegypti* com 7-10 dias de idade. Um total de 300 fêmeas de mosquitos, tendo a alimentação com solução de sacarose retirada 24 horas antes da infecção oral, foi alimentado durante 45-60 minutos com uma mistura de suspensão viral com uma titulação de 3×10^6 PFU/ml e 5×10^4 PFU/ml, em dois

experimentos independentes. Resumidamente, o sangue contendo as partículas virais foi fornecido em um aparato de alimentação artificial colocado em cada gaiola de mosquitos. A alimentação sanguínea foi mantida a 37°C usando bolsas de calor durante todo o processo. Após a alimentação, as fêmeas ingurgitadas foram separadas das demais. As fêmeas que não se alimentaram adequadamente foram descartadas do estudo. Foi mantido também em cada ensaio um grupo controle, o qual consistiu em mosquitos alimentados com sangue livre de partículas virais.

Foram dissecados 12 a 15 mosquitos para a coleta do intestino médio e das glândulas salivares no 7º e no 14º dia após a infecção (dpi). Os parâmetros avaliados foram: A taxa de infecção do intestino (MIR) (m-pidgut infection rate) e a taxa de disseminação (DIR) (dissemination infection rate). Para a extração do RNA o método utilizado foi o método TRIZOL (Invitrogen, Waltham, MA, EUA) o qual foi realizado de acordo com as instruções do fabricante e com modificações descritas por Guedes (2017).

A detecção do vírus foi realizada por qRT-PCR descrita em Guedes (2017). Os mosquitos coletados imediatamente após a alimentação artificial foram usados como controles positivos, enquanto os grupos controle, alimentados com sangue não infectado e as reações de RT-PCR sem RNA representaram controles negativos. Ao final das amplificações, foram analisadas por fluorescência.

2.4 Análise estatística

Os dados foram testados primeiramente quanto à normalidade por meio do Teste de Shapiro-Wilk. Quando confirmada a normalidade dos dados, utilizou-se o Teste t-student para amostras independentes ($p \leq 0,05$ considerados estatisticamente significativos), para comparar os parâmetros fecundidade, fertilidade, emergência dos adultos e sobrevivência dos descendentes dos machos irradiados com relação aos controles. Quando não foi confirmada a normalidade dos dados, as comparações citadas foram realizadas utilizando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para amostras independentes, também ao nível de 5% de significância. Também foi utilizado o teste t para uma amostra para se avaliar a aderência

3. RESULTADOS

3.1 Fecundidade e fertilidade de fêmeas acasaladas com machos irradiados

Os resultados apresentados na Tabela 1 e Figura 6 resumem os dados de fecundidade e fertilidade observados para a geração parental dos mosquitos expostos as doses de 20, 30 e 40 Gy. Como pode ser observado o quantitativo de ovos postos pelos grupos expostos foi maior do que o do grupo controle, embora a análise estatística tenha indicado que não ocorreu diferença estatística entre a amostra controle e as irradiadas. Por outro lado, a eclosão das larvas foi progressivamente menor com o aumento da dose de radiação, cuja comparação mostrou haver diferenças significativas entre o controle e as doses de 20 Gy ($p = 0,0333$), 30 Gy ($p = 0,0002$) e 40 Gy ($p < 0,0001$).

Tabela 1 - Percentual de Fecundidade e fertilidade de fêmeas não irradiadas de *Aedes aegypti* oriundas da Ilha de Fernando de Noronha acasaladas com machos expostos (geração parental) a diferentes doses de radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.

Dose (Gy)	Número de casais	Número de ovos	Número de larvas (L1)	Fertilidade
20	120	4217 ^a	2465 ^a	58,4%
30	120	4463 ^a	1821 ^b	40,8%
40	120	4640 ^a	1114 ^c	24,0%
Controle	120	3742 ^a	3191 ^d	85,2%

Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferiram estatisticamente (Tukey, $p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na avaliação entre as diferentes doses de irradiação, observou-se que o efeito esterilizante da radiação ionizante foi maior no grupo irradiado com a maior dose (40 Gy), cuja redução na produção de larvas foi de 76%. As demais doses apresentaram percentuais menores e embora o grupo controle não tenha sido exposto a nada, também foi registrado 15% de inviabilidade dos ovos (Tabela 1).

Para a geração F1 (Tabela 2), a análise estatística mostrou que não ocorreu diferença significativa na quantidade de ovos postos no grupo controle e nos descendentes de machos

irradiados com as diferentes doses, apesar de haver uma tendência para o aumento no número de ovos quando comparados ao grupo controle. Com relação ao número de larvas nas diferentes doses, a análise não indicou diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos dos descendentes, portanto a fertilidade foi similar entre eles.

Tabela 2 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas de *Aedes aegypti* da primeira geração filial (F1) dos machos submetidos à radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.

Dose (Gy)	Número de casais	Número total de ovos	Número total de larvas (L1)	Fertilidade
20	120	5887 ^a	4610 ^a	78,3%
30	120	4261 ^a	3223 ^a	75,6%
40	120	4596 ^a	3816 ^a	83,0%
Controle	120	3421 ^a	2826 ^a	82,6%

Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na geração F2 também foi observado o aumento no número de ovos nos grupos dos descendentes, embora também não tenham diferido do grupo controle. Por outro lado, na F2 a fertilidade reduziu de forma significativa apenas para o grupo dos descendentes de 40 Gy ($p=0,0130$) (Tabelas 3).

As fêmeas irradiadas com 40 Gy acasaladas com machos viáveis e não irradiados não produziram ovos, portanto, os parâmetros de fecundidade e fertilidade não foram avaliados.

Tabela 3 - Fecundidade e fertilidade de fêmeas de *Aedes aegypti* da segunda geração filial (F2) dos machos submetidos à radiação gama. Os dados referem-se a valores obtidos no total de quatro réplicas de grupos de 30 casais para cada dose.

Dose (Gy_	Número de casais	Número total de ovos	Número total de larvas (L1)	Fertilidade
20	120	4358 ^a	3781 ^a	86,7%
30	120	3234 ^a	2862 ^a	88,4%
40	120	4460 ^a	3322 ^b	74,8%
Controle	120	2685 ^a	2289 ^a	85,3%

Valores na coluna seguidos da mesma letra não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor.

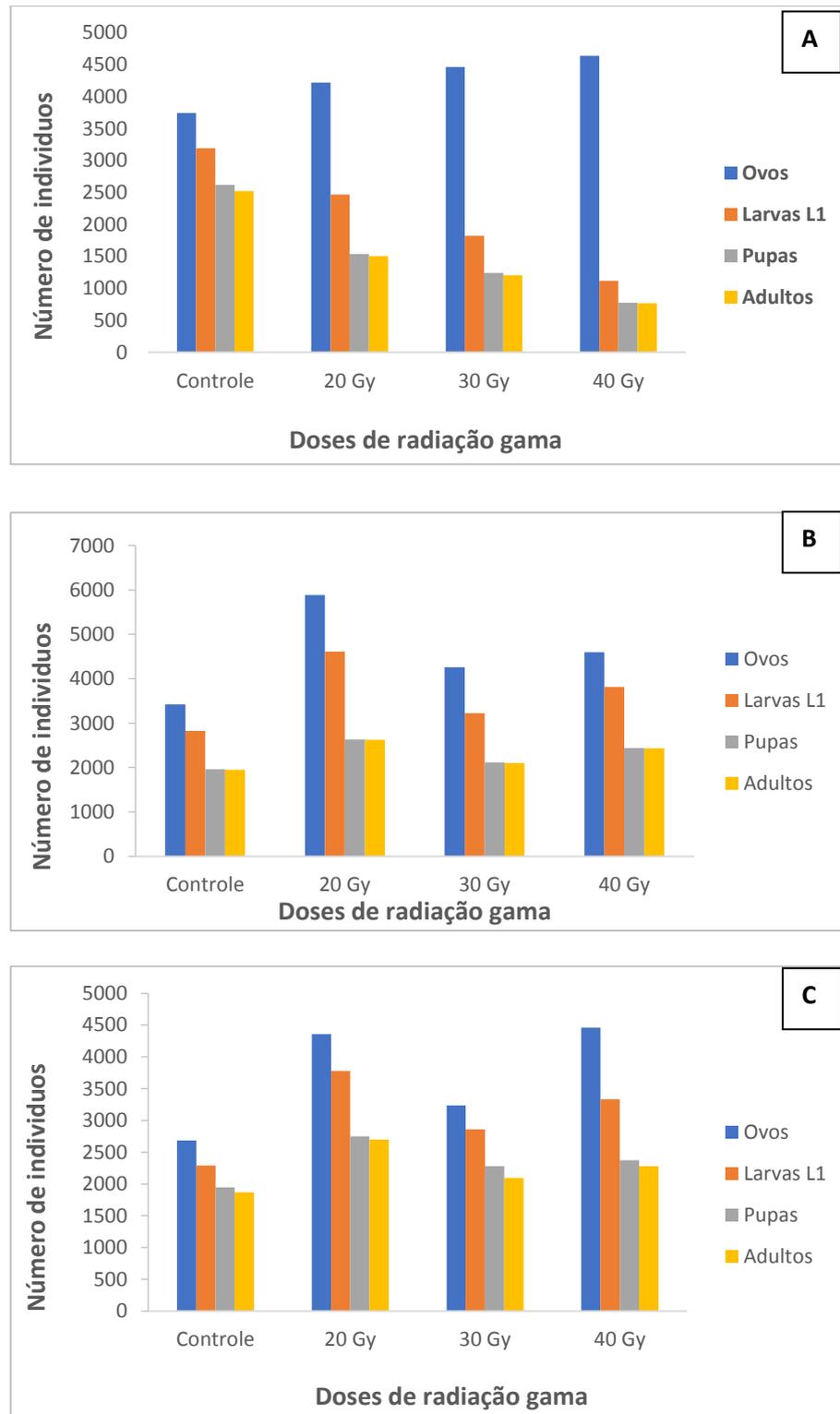
3.2 Sobrevivência para a fase adulta e proporção sexual

Os resultados dos efeitos da radiação ionizante sobre a emergência dos mosquitos estão resumidos nas Figuras 6, 7 e 8. Os resultados indicam que a emergência de adultos diminuiu notavelmente com doses crescentes de radiação para a geração parental. Observou-se inicialmente um número significativamente menor ($P < 0,05$) de emergência em adultos nas amostras de 40 Gy na geração parental (taxa de emergência de adultos em relação aos ovos 65%, 38%, 27%, 18%), respectivamente para o controle e as doses de 20 Gy, 30 Gy e 40Gy.

Para a geração F1 foram observados valores de emergência de adultos em relação aos ovos de 57% para o controle e de 44% a 49% para os grupos dos descendentes. Estes percentuais foram um pouco maiores para a F2, sendo 69,6% para o controle e 51,0 a %, 64,7% para os demais grupos experimentais.

Quando observado as três gerações consecutivas, nas amostras dos grupos controle a proporção de adultos/ovos foi similar. Como esperado, diferenças significativas nesta relação só foram observadas quando comparados o grupo parental exposto e os seus respectivos grupos filiais em todas as dosagens 20 Gy ($p=0,04$), 30 ($p=0,0005$) e 40 Gy ($p=0,0002$). adultos/ovos, indicando que de fato o efeito redutor associado a radiação não estava mais presente.

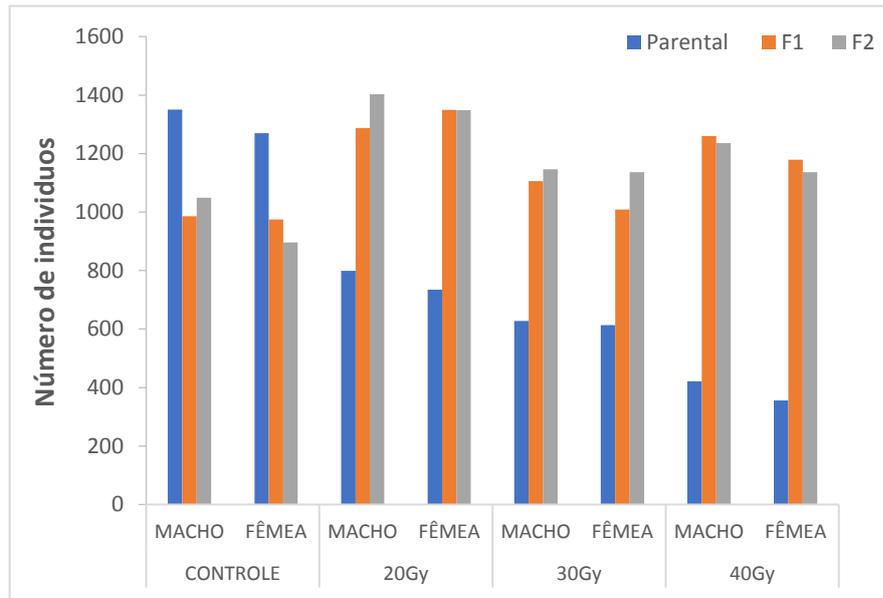
Gráfico 1 - Quantitativo de ovos, larvas, pupas e adultos de *Aedes aegypti* da geração parental (A) cujos machos foram expostos a radiação gama e suas gerações filiais F1 (B) e F2 (C), não expostas



Fonte: Elaborado pelo autor.

A comparação entre a F1 e F2 também não mostrou alterações entre A comparação entre os grupos controle, parental, F1 e F2 revelou que a proporção macho/fêmea não se modificou e permaneceu próxima de 1:1(Figura 8).

Gráfico 2 - Proporção sexual de *Aedes aegypti* da geração parental (A) cujos machos foram expostos a radiação gama s suas gerações filiais F1 e F2 não expostas.

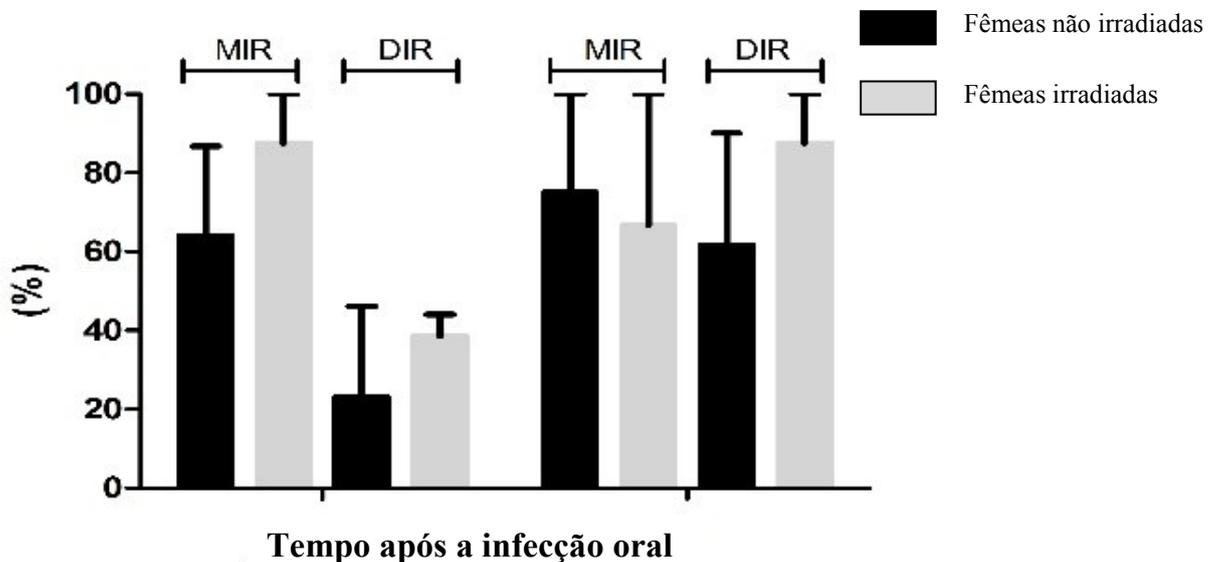


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 Infecção oral dos mosquitos com ZIKV

A análise dos tecidos, intestino e glândulas salivares, revelou que as taxas de infecção (MIR) e disseminação (DIR) médias no 7º dpi foram, respectivamente maiores, para as FI (87,5% e 38,6%) do que para as FC (64,15% e 23,05%) e que no 14º dpi, a variação foi de 66,6% e 87,5% para as FI e de 75% e 61,6% para as FC, (figura 3)

Gráfico 3 - Taxa de infecção e disseminação em fêmeas de *Ae.aegypti* irradiadas com radiação gama 50Gy.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4. DISCUSSÃO

Este estudo traz evidências de que os danos genéticos promovidos pela radiação gama, associados ao processo de esterilização parcial ou total dos mosquitos *Aedes aegypti*, não alteraram a susceptibilidade das fêmeas ao Zika vírus nem o desempenho biológico dos descendentes dos machos expostos.

As doses testadas em nosso estudo não produziram nenhuma redução sobre a sobrevivência e proporção sexual dos mosquitos adultos nas gerações filiais, diferente do referido por Shetty *et al.*, (2016), que detectaram a diminuição da emergência, por três gerações consecutivas, em uma população de *Ae. aegypti*. Neste mesmo trabalho, observaram que irradiando machos adultos com doses maiores do que 35 Gy, a proporção sexual se alterava e mais machos eram produzidos. É possível supor que o processo de irradiação dos mosquitos na fase adulta possa afetar este parâmetro de forma diferente do observado na fase de pupa. O mecanismo que favorece geneticamente a distorção da razão sexual em mosquitos ainda é pouco entendido, contudo, parece ser uma unidade meiótica operando no loco sexual, causando uma produção seletiva de espermatozoides determinantes do sexo masculino (CRAIG, 1967).

Estudos com outras espécies de mosquitos como *Anopheles quadrimaculatus* (WEIDHAAS *et al.*, 1962), *An. pharoensis* e *An. arabiensis* (HELINSKI *et al.*, 2006) também não relataram efeitos sobre a sobrevivência de adultos em descendentes de machos irradiados com doses que variaram de 5 até 100 Gy.

Efeitos sobre a fecundidade não foram detectados em nosso estudo tanto na geração parental quanto nas filiais, corroborando os resultados encontrados por Terzian e Stahler (1958) e Shetty *et al.* (2016), para populações de *Ae. aegypti* cujos machos foram expostos a doses de 30 a 50 Gy e de 10 a 300 Gy de radiação gama, respectivamente.

A fecundidade é um dos parâmetros reprodutivos mais atingidos quando existe um elevado custo biológico associado à exposição direta, por exemplo, a inseticidas, ou a outros agentes mutagênicos (DINIZ, *et al.*, 2015). Em nosso estudo, quando as fêmeas foram irradiadas com 40 Gy mostraram-se incapazes de produzir ovos, tal como referido por Florêncio (2017) e Bond *et al.* (2019) para *Ae. aegypti* e por Oliva *et al.* (2012) para *Ae. albopictus*, com doses entre 30 e 50 Gy. Por outro lado, quando acasaladas com machos da geração parental, expostos a diferentes doses de radiação gama, produziram tanto ou mais ovos do que o grupo controle. Liu *et al.*, em 2007, relata que baixas doses de radiação induzem efeito estimulante em células germinativas masculinas, fenômeno denominado hormese. Esse fenômeno pode explicar o aumento da capacidade espermática em mosquitos, consequentemente no maior número de ovos. Este resultado reflete, em primeira instancia o sucesso do acasalamento dos machos irradiados com as fêmeas selvagens, embora tenham produzido e repassado para estas espermatozoides não funcionais, em sua maioria

Alguns estudos já revelaram que a radiação gama pode induzir mutações letais principalmente em células germinativas, visto que células em constante divisão são mais sensíveis à radiação e, embora essas mutações possam não afetar a maturação da célula em gameta ou na capacidade do gameta em formar o zigoto, tais mutações podem causar a morte do embrião em desenvolvimento, resultando em ovos inviáveis (LACHANCE, 1967). As mutações letais são induzidas pela radiação e ocorrem principalmente como resultado de danos cromossômicos nas células irradiadas (LACHANCE, 1967). Desta forma, os resultados do nosso estudo sugerem que a radiação causou mutações letais nas células germinativas quando os machos de *Ae. aegypti* foram irradiados. Segundo Verçosa (2019) os danos no material genético dos machos expostos estão diretamente correlacionados com o aumento da dose de radiação e, a exposição de indivíduos da mesma linhagem analisada em nosso estudo (*Aedes*-VPC) a 50 Gy, completamente estéreis não levou a reparações nos danos ao DNA dos

machos. Contudo este efeito não foi herdado pelos machos das gerações subsequentes (F1 e F2), da mesma forma sugerem que não foram gerados outros danos que comprometessem seu potencial biótico.

A constatação de que as fêmeas completamente esterilizadas por radiação gama são tão ou mais competentes para a transmissão do Zika vírus do que as selvagens é um importante achado epidemiológico do presente estudo. É possível sugerir que a reserva energética destinada a produção de ovos tenha sido estocada no corpo gorduroso, e isso tenha favorecido a replicação e maior disseminação do ZIKV no corpo das fêmeas irradiadas. Em algumas situações a realocação de reservas energéticas primariamente destinadas à produção de ovos pode favorecer custos biológicos associados aos mecanismos metabólicos de resistência aos inseticidas (DINIZ *et al.*, 2015) ou mesmo a exposição à radiação (CALKINS; PARKER, 2005). Isto reitera a necessidade de aperfeiçoar as técnicas de separação mecânica dos machos, achado visto que testes piloto com a TIE têm revelado que 0,01% a 1% do material liberado em campo correspondem a fêmeas (CARVALHO *et al.*, 2014; BELINNI *et al.*, 2013; FLORENCIO, 2017).

5 CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que os danos genéticos induzidos pela exposição à radiação gama em *Ae. aegypti*. não são repassados aos seus descendentes.

Fêmeas irradiadas, quando também estéreis, podem ser tão competentes quanto as não irradiadas para a transmissão do Zika vírus.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve suporte da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, R. J. V.; DANSÁ-PETRETSKI, M. Interação patógeno-vetor: dengue. In: Silva-Neto, M. A. C.; Winter, C.; Termignoni, C. (orgs.). **Tópicos avançados em entomologia molecular**. p. 1-35, 2012.
- ALPHEY, L. Re-engineering the steril insect technique. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**. v. 32, p. 1243-1247, 2002.
- ALPHEY, L *et al.*, Sterile-Insect Methods for Control of Mosquito-Borne Diseases: An Analysis. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 3, n. 10, p.295-311, 2010.
- ATKINSON, B. *et al.* 2016. Detection of Zika virus in semen. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 5. Disponível em: <Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/5/16-0107_article >. Acesso em: 24 fev. 2019.
- BAKRI, A.; MEHTA, K.; LANCE, D. R. Sterilizing insects with ionizing radiation. In: DICK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (ed.). **Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management**. Dordrecht: Springer, 2005. p. 233-268.
- BALESTRINO, F. *et al.* Gamma ray dosimetry and mating capacity studies in the laboratory on *Aedes albopictus* males. **Journal of Medical Entomology**, Annapolis, v. 47, p. 581–591, 2010.
- BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estud. av.** v. 22 n. 64 São Paulo, 2008.
- BARRY, J. D. *et al.* Potential for Reducing Overflooding Ratios of Sterile Mediterranean Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) with the Use of Ginger Root Oil. **The Florida Entomologist**, California, v. 86, p. 29-33, 2003.
- BECKER, N. *et al.* Mosquitoes and their control. New York: **Kluwer Academic: Plenum Publishers**. p. 377, 2003.
- BEERNTSEN, B. T.; JAMES, A. A.; CHRISTENSEN, B. M. Genetics of mosquito vector competence. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 1, p. 115-137, 2000.

- BELLINI, R. *et al.* Pilot Field Trials With *Aedes albopictus* Irradiated Sterile Males in Italian Urban Areas. **Journal of Medical Entomology**, Annapolis, v. 50, p.317-325, 2013.
- BENNETT, K. E. *et al.* Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. **Am J Trop Med Hyg**, v. 67, n. 1, p. 85-92, 2002.
- BESNARD M, LASTERE S, TEISSIER A, CAO-LORMEAU V, MUSSO D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Euro Surveillance**. v. 19, 2014.
- J. GUILLERMO BOND. *et al.* Optimization of irradiation dose to *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in a sterile insect technique program. **PLoS One**. v. 14 n. 2, 2019
- BOSIO, C. F. *et al.* Quantitative trait loci that control vector competence for dengue-2 virus in the mosquito *Aedes aegypti*. **Genetics**, Austin, v. 156, n. 2, p. 687-698, 2000.
- BOSIO, C. F. *et al.* Quantitative genetics of vector competence for dengue-2 virus in *Aedes aegypti*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, Baltimore, v. 59, n. 6, p. 965-970, Dec 1998.
- BRAGA IA, VALLE D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v. 16, n.2, p.113-8, 2007.
- BRAGA IA, VALLE D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, p. 279-293, 2007b.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 30 de 2018**. v. 49, n. 34, 2018, a.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 48 de 2018**. v. 49, n. 49, 2018, b.
- BLACK, W. C. T. *et al.* Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*. **Archives of medical research**, Mexico, v. 33, n. 4, p. 379-388, Jul./Aug. 2002.

BRYANT, Juliet E.; HOLMES, Edward C.; BARRETT, Alan D. T. Out of Africa: a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas. **PLoS pathogens**, v. 3, n. 5, p. e75, 2007.

BUSHLAND, R. C. Eradication program in the southwestern United States, Symposium on eradication of the screwworm from the United States and Mexico. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, College Park MD, v. 62, p.12-15, 1985.

CAGLIOTI, Claudia *et al.* Chikungunya virus infection: an overview. **New Microbiol**, v. 36, n. 3, p. 211-227, 2013.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885-1886, 2015.

CARVALHO, D. O. *et al.* Mass Production of Genetically Modified *Aedes aegypti* for Field Releases in Brazil. **Journal of Visualized Experiments**, Boston. v. 83, n.3579, p.1-10, 2014.

CASTANHA, P. M. S. BRAGA, C., CORDEIRO, M. T. SOUZA, A. I. SILVA JR, C. D. MARTELLI, C. M. T. VAN PANHUIS, W. G. NASCIMENTO, E. J. M. AND MARQUES, E. T. A. Placental transfer of dengue virus (DENV) – Specific antibodies and kinetics of DENV infection–enhancing activity in brazilian infants, **The Journal of Infectious Diseases.**, v. 214, p. 265–272, 2016.

CHADEE, D. D.; GILLES, J. R. The diel copulation periodicity of the mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) at indoor and outdoor sites in Trinidad. West Indies, **Acta Tropica**, Basel, v. 132, p.91-95, 2013.

CHOMPOOSRI, Jakkrawarn *et al.* Vertical transmission of Indian Ocean Lineage of chikungunya virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 227, 2016.

CLEMENTS, A. N. **The biology of mosquitoes**. London: Chapman and Hall. v. 1, p. 752, 1992.

CLEMENTS, A. N. **The biology of mosquitoes**. London: Chapman and Hall, 1999.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Fiocruz. p. 228, 1994.

CRAIG, G.B. JR. **Genetic control of mosquitoes** Bull. World Health Organ. p. 628-632, 1967.

CHRISTOPHERS, S. R. *Aedes aegypti* (L.): The yellow fever mosquito. London: Cambridge University Press, 1960.

CHRISTOFFERSON, R. C.; MORES, C. N. Estimating the magnitude and direction of altered arbovirus transmission due to viral phenotype. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 1, p. e16298, 2011.

DIALLO, M. *et al.* Vector competence of *Aedes aegypti* populations from Senegal for sylvatic and epidemic dengue 2 virus isolated in West Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 102, n. 5, p. 493-498, May 2008.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952.

DYCK, V. *et al.* History of the Sterile Insect Technique. **Sterile Insect Technique**. The Netherlands: Springer Netherlands. 2005.

DINIZ, D. F. A. *et al.* Fitness cost in field and laboratory *Aedes aegypti* populations associated with resistance to the insecticide temephos. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p.2-15, 2015.

DUFFY, M. R. *et al.* Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). Vigilância epidemiológica: Programa Nacional de Controle da Dengue. Brasília, 2002.

FARES, R. C. G. *et al.* Epidemiological scenario of dengue in Brazil. **BioMed Research International**, New York, v, 2015 p. 321873, 2015.

FERRARI, J. A. Insecticide resistance. **The biology of disease vectors**, Denver, p. 512-529, 1996.

FLORÊNCIO, SLOANA GIESTA LEMOS. Potencial de uso de machos esterilizados por radiação gama (60CO) para o controle populacional de *Aedes aegypti* (Diptera - Culicidae): um caminho biotecnológico do laboratório para o campo. Tese (Doutorado) – Universidade

Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, 2017.

FLORES, F. S.; DIAZ L. A.; BATALLÁN G. P.; ALMIRÓN W. R.; CONTIGIANI M. S. Vertical Transmission of St. Louis Encephalitis Virus in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Cordoba, Argentina. **Vector Borne Zoonotic Dis**, v 10, p. 999-1002, 2010.

FORATTINI, O. P. Entomologia Médica. **EdUSP**, 1965.

FORATTINI, O. P. Culicidologia Médica. São Paulo: **EdUSP**, p. 864, 2002.

FRANCO, O. **História da Febre Amarela no Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, DNERU, 1969.

FRANZ, G. Recombination between homologous autosomes in medfly (*Ceratitis capitata*) males: type-1 recombination and the implications for the stability of genetic sexing strains. **Genetica**, Seibersdorf, v.116, p. 73–84. 2002.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Vigilância epidemiológica: Programa Nacional de Controle da Dengue**. Brasília, 2002.

GERMAIN, Max *et al.* Recent advances in research regarding sylvatic yellow fever in Westand Central Africa. **Bull Inst Pasteur**, v. 80, p. 315-30, 1982.

GLASSER, C. M.; GOMES, A. C. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.36, p.166-172, 2002.

GUBLER, D. J. *et al.* Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 28, n. 6, p. 1045 1052, 1979.

GUEDES, D. R. D. *et al.* Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerging Microbes &Infections**. 2017.

HALSTEAD, S. B. Dengue virus-mosquito interactions. **Annual Review of Entomology**. v. 53, p. 273-91, 2008.

HAMADY D, *et al.* Colonized *Aedes albopictus* and its sexual performance in the wild: implications for SIT technology and containment. *Parasite and Vectors*. Malasya, v. 6, p. 206, 2013.

- HELINSKI, M. E.; PARKER, A. G.; KNOLS, B. G. Radiation-induced sterility for pupal and adult stages of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis*. **Malaria Journal**, v. 5, n. 1, p. 41, 2006.
- HELINSKI, M. E. H. *et al.* Radiation biology of mosquitoes, **Malaria Journal**, London, v. 8, p. 23-39, 2009.
- HENDRICHS J.; ROBINSON, A. S. **Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. The Netherlands: Springer, p. 233- 268, 2005.
- HICKEY, W. A. Distortion of sex ratios in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Tese**. Universidade de Notre Dame, Notre Dame, Indiana, 1965.
- HIGGS, S. BEATY, B. J. Natural cycles of vector-borne pathogens. In: MARQUARDT, W. C. (Ed.). **Biology of disease vectors**. Burlington: Elsevier Academic Press, 2004.
- HONÓRIO, N. A. *et al.* Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 2, p. 191-198, mar. 2003.
- HUANG, Yan-Jang S. *et al.* Flavivirus-mosquito interactions. **Viruses**, v. 6, n. 11, p. 4703-4730, 2014.
- KLASSEN, W.; CURTIS, C. F; History of the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique: principles and practice in area-wide integrated pest management**. The Netherlands: Springer, p. 3-36, 2005
- KNIPE, D. M. H. HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- KNIPLING, E. F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**. v. 48, p.459–462, 1955.
- LACHANCE, L.E. The induction of dominant lethal mutations in insects by ionizing radiation and chemicals-as related to the sterile male technique of insect control. J.W. WRIGHT, R. Pal (Eds.), **Genetics of Insect Vectors of Disease**. p. 617-650, 1967.
- LAMBRECHTS, L. SCOTT, T. W. Mode of transmission and the evolution of arbovirus virulence in mosquito vectors. **Proc Biol Sci**, v. 276, n. 1660, p. 1369-1378, 2009.
- LANCE, D. R.; MCINNIS, D. O. Biological Basis of the Sterile Insect Technique. In: DYCK V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management**. 2005.

LIMA, KÁRITAS FARIAS ALVES. Avaliação biológica de machos esterilizados por radiaçãoogama, para utilização em programas de controle populacionalde aedes aegypti (diptera: culicidae). Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2015.

MACNAMARA, F. N. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 2, p. 139-145, 1954.

MACORIS, M. L. G. *et al.* Alteration in susceptibility response of Aedes aegypti to organophosphates in cities in the state of S. Paulo, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 521-522, 1999.

MARQUARDT, W. C. **Biology of disease vectors**. Burlington: Elsevier Academic Press, 2004.

MARTINS, Victor Emanuel Pessoa *et al.* Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in Aedes aegypti and Aedes albopictus in Fortaleza, Ceará, Brazil. **PloS One**, v. 7, n. 7, p. e41386, 2012.

MASTRANGELO, T.; WALDER, J.; Use of Radiation and Isotopes in Insects, Radioisotopes. **Applications in Bio-Medical Science**, Yale, v.2, p. 67-92, 2011.

MCNEILL, John Robert. **Mosquito empires: ecology and war in the Greater Caribbean, 1620-1914**. Cambridge University Press, 2010.

MEEGAN, James M. *et al.* **Yellow fever vaccine**. World Health Organization, 1991.

MELO-SANTOS, M. A. *et al.* Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an Aedes aegypti laboratory strain from Brazil. **Acta Trop**, v. 113, n. 2, p. 180-189, 2010.

MEYER, N.; SIMPSON, O. **History of the Mexico and United States screwworm eradication programme**. New York: Vantage, v.1, p. 367, 1995.

MITCHELL, C. J. The role of Aedes albopictus as an arbovirus vector. **Parassitologia**, Roma, v. 37, n. 2-3, p. 109-113, Dec 1995.

MONTELLA, I. R. *et al.* Insecticide Resistance Mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* Population from 2001 to 2004. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Brasília, v. 77, p. 467-477, 2007.

NORMILE, D. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. **Science**, Cambridge v. 342, n. 6157, p. 415-415, out. 2013.

OLIVA, C. F. *et al.* The Sterile Insect Technique for Controlling Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: Mating Vigour of Sterilized Males. **PLoS ONE**, v. 7, p. e49414, 2012.

OLIVEIRA, S. L. *et al.* Mosquito transgênico: do paper para a realidade. **Revista da Biologia**. v. 6, p. 38-43, 2011.

PAHO/WHO. Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas. **Epidemiological Alert**, p. 1-11, 2015.

PAPATHANOS, P. A. *et al.* Sex separation strategies: past experience and new approaches. **Malaria Journal**, London, v. 8, p. 32-41, 2009.

PESSOA, LUIZ FERNANDO DE FREITAS. Uso do pyriproxyfen em novas abordagens para /controle de formas jovens e adultas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). 2018. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2018.

PINHEIRO, F. P.; CORBER, S. J. Global Situation of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever, and its Emergence in the Americas. **World Health Statistics Quarterly Rapport Trimestriel de statistique sanitaires Mondiales**, Geneva, v. 50, n. 3/4, p. 161-169, 1997.

POWERS, Ann M. *et al.* Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. **Journal of General Virology**, v. 81, n. 2, p. 471-479, 2000.

PHUC, H. K. *et al.* Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control, **Biomed central biology**, Oxford, v. 5, p.11, 2007.

- REGIS L. N. *et al.* Sustained Reduction of the Dengue Vector Population Resulting from an Integrated Control Strategy Applied in Two Brazilian Cities. **PLoS ONE**, New York, v. 8, p. 65-72, 2013.
- RIBEIRO, A. F. *et al.* Associação entre incidência de dengue e variáveis climáticas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 671-676, mar. 2006.
- RICHARDSON, J. *et al.* Quantitative analysis of dengue-2 virus RNA during the extrinsic incubation period in individual *Aedes aegypti*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, Baltimore, v. 74, n. 1, p. 132-141, Jan 2006.
- ROBINSON, A. S. Mutations and their use in insect control. **Mutation Research**. v. 511, p. 113–132, 2002.
- SALAZAR, M. I. *et al.* Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. **BMC Microbiology**, London, v. 7, p. 9, 2007.
- SHETTY, Vinaya *et al.* Effect of gamma radiation on life history traits of *Aedes aegypti* (L.). **Parasite Epidemiology And Control**, v. 1, n. 2, p.26-35, 2016.
- SILVA, V. C. *et al.* Diversidade de criadouros e tipos de imóveis frequentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. **Rev Saúde Publica**, v. 40, n. 6, p. 1106-1111, 2006.
- SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 4, n. 95 p. 349-355, 1999.
- SINGH, Anil Kumar *et al.* Vertical transmission of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* mosquitoes from northern India. **Defence Life Science Journal**, v. 1, n. 2, p. 184-187, 2016
- SPIELMAN, Andrew; D'ANTONIO, Michael. **Mosquito: a natural history of our most persistent and deadly foe**. Hyperion, 2001
- TAUIL P. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 18, p. 867-871, 2002.
- TEXEIRA, M. G. *et al.* Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. **Informe epidemiológico do SUS**, Brasília, v.8, n. 4, p. 5-33, 1999.

TERZIAN, LEVON A.; STAHLER, NATHAN. A study of some effects of gamma radiation on the adults and eggs of *Aedes aegypti*. **The Biological Bulletin**, v. 115, n. 3, p.536-550, 1958.

CÍCERO JORGE VERÇOSA. Efeito genotóxico resultante da esterilização de machos de *Aedes aegypti* pela Técnica do Inseto Estéril, e avaliação do potencial tóxico-genético do larvicida Pyriproxyfen em dípteros. 2019. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular Aplicada) - Universidade de Pernambuco

VREYSEN, Marc J. B. *et al.* *Glossina austeni* (Diptera: Glossinidae) eradicated on the island of Unguja, Zanzibar, using the sterile insect technique. **Journal of economic entomology**, v. 93, n. 1, p. 123-135, 2000.

WEAVER, Scott C.; FORRESTER, Naomi L. Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. **Antiviral research**, v. 120, p. 32-39, 2015.

WEIDHAAS, D.E.; SCHMIDT, C.H.; CHAMBERLAIN W.F. **Radioisotopes and Radiation Entomology** IAEA, p. 257-265, 1962.

WILKE, A, B. B. *et al.* Genetic enhancements to the sterile insect technique to control mosquito populations. **Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, Malaya, v.17, p. 65-74, 2009.

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

ZANLUCA, C. *et al.* First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569-572, 2015.