



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

EULÁLIA MARGARETHE DA COSTA MÉLO

**EFEITO DA DOSE SUBLETAL DO LARVICIDA PYRIPROXYFEN NO CICLO
BIOLÓGICO EM POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti***

**CAMPINA GRANDE
2023**

EULÁLIA MARGARETHE DA COSTA MÉLO

EFEITO DA DOSE SUBLETAL DO LARVICIDA PYRIPROXYFEN NO CICLO BIOLÓGICO EM POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado à Coordenação do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Entomologia e Malacologia de Vetores.

Orientador: Prof. Dr. Walter Fabrício Silva Martins

Coorientador(a): Prof^a Dra. Carla de Lima Bicho

**CAMPINA GRANDE
2023**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M528e Mélo, Eulália Margarethe da Costa.
Efeito da dose subletal do larvicida *Pyriproxyfen* no ciclo biológico em populações de *Aedes aegypti* [manuscrito] / Eulália Margarethe da Costa Mélo. - 2022.
32 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2023.

"Orientação : Prof. Dr. Walter Fabrício Silva Martins, Coordenação de Curso de Biologia - CCBS. "

"Coorientação: Profa. Dra. Carla de Lima Bicho , Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Dengue. 2. Larvicida Pyriproxyfen. 3. Ciclo biológico do mosquito da Dengue. I. Título

21. ed. CDD 616.921

EULÁLIA MARGARETHE DA COSTA MÉLO

EFEITO DA DOSE SUBLETAL DO LARVICIDA REGULADOR DE
CRESCIMENTO PYRIPROXYFEN NO CICLO BIOLÓGICO EM POPULAÇÕES DE
Aedes aegypti DE CAMPINA GRANDE, PARAÍBA

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado à Coordenação do Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do título de
Licenciada em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Entomologia e
Malacologia de Vetores.

Aprovada em: 21 / 03 / 2023.

BANCA EXAMINADORA



Profª Dra. Carla de Lima Bicho (Coorientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profª Dra. Maria José Lima da Silva
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A minha família, amigos e ao meu orientador, pela dedicação, companheirismo e apoio, DEDICO.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Mapa do Estado da Paraíba com destaque para o município de Campina Grande	12
Figura 2. A) Ovitampa estruturada com duas palhetas do tipo Duratree, água e fermento biológico para a coleta de ovos; B1-B3) Ovitampas instaladas em área intra e peridomiciliar	13
Figura 3. Palhetas contendo ovos postos em água destilada para eclosão de larvas	14
Figura 4. Bioensaio utilizando a DL50; A) Processo de diluição seriada do larvicida Pyriproxyfen à 1% (0.01 ppm) até atingir a 5ª diluição à 0.0001% (0.0002 ppm). B) Copos após a pipetagem dos tratamentos utilizados.....	15
Figura 5. Repasto sanguíneo através do <i>Hemotek Membrane Feeding Systems</i>	16
Figura 6. Fêmeas isoladas individualmente para facilitar a contagem dos ovos postos.....	17
Figura 7. Contabilização de ovos postos com auxílio de estereomicroscópio lupa binocular.....	17
Figura 8. Percentual de Inibição de Emergência considerando a dose letal recomendada pela OMS (T0) e suas respectivas diluições a 1:10 (T1- T5).	18
Figura 9. Amostra representativa para o uso do <i>software ImageJ</i> , em que é possível visualizar a medição da largura de um indivíduo do grupo DL50 e subgrupo F... ..	19
Figura 10. Comprimento médio das asas dos adultos dos grupos Controle e DL50 e suas respectivas subcategorias (F e M).	20
Figura 11. Largura média das asas dos adultos dos grupos Controle e DL50 e suas respectivas subcategorias (F e M).	20
Figura 12. Taxa de Emergência, sobrevivência e mortalidade de adultos de <i>Aedes aegypti</i> submetidos ao controle e a DL50 do larvicida Pyriproxyfen	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações de pyriproxyfen em relação à dose diagnóstica utilizadas em cada tratamento	14
Tabela 2. Volumetria para a diluição seriada do larvicida pyriproxyfen à 1% (0.01 ppm) até atingir a 5ª diluição à 0.0001%.....	15
Tabela 3. Resultados do <i>Kruska wallis test</i> em que foi feita a comparação dos grupos Controle F, Controle M, DL50 F e DL50 M	21
Tabela 4. Sexagem de indivíduos emergentes e sobreviventes ao segundo bioensaio.....	22
Tabela 5. Quantificação de indivíduos adultos sobreviventes no decorrer do processo de repastos sanguíneos.....	22
Tabela 6. Quantificação de ovos postos por fêmea em cada copo quando submetidas a condições de laboratório.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHIKV	Chikungunya
DL50	Dose Letal 50
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEAa	Plano de Erradicação do <i>Aedes aegypti</i>
PIACD	Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue
PYR	Pyriproxyfen
PNCD	Plano Nacional de Controle de Dengue
ZIKV	Zika Vírus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	METODOLOGIA	11
2.1	Local de Estudo	11
2.2	Coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i>	12
2.3	Pressão seletiva através de diferentes doses de Pyriproxyfen	13
2.4	Efeito de diferentes doses de Pyriproxyfen na morfologia alar dos adultos	14
2.5	Efeito da seleção de resistência no Ciclo Biológico	15
2.6	Análise Estatística	18
3	RESULTADOS	18
3.1	Pressão seletiva através de diferentes doses de Pyriproxyfen	18
3.2	Efeito de diferentes doses de Pyriproxyfen na morfologia dos adultos	19
3.3	Efeito da seleção de resistência no Ciclo Biológico	21
4	DISCUSSÃO	23
5	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS	25

EFEITO DA DOSE SUBLETAL DO LARVICIDA PYRIPROXYFEN NO CICLO BIOLÓGICO EM POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti*

EFFECT OF THE SUBLETHAL DOSE OF THE LARVICIDE PYRIPROXYFEN ON THE BIOLOGICAL CYCLE IN POPULATIONS OF *Aedes aegypti*

Eulália Margarethe da Costa Mélo¹
Walter Fabrício Silva Martins^{2,3}
Carla de Lima Bicho²

RESUMO

A dengue, a principal arbovirose transmitida pelo *Aedes aegypti*, é prevalente em mais de 120 países das regiões subtropicais e tropicais do mundo. Na última década, relatórios epidemiológicos também revelam uma crise epidemiológica ascendente no território brasileiro. A ineficácia das ações de controle vetorial e a ausência de vacinas específicas para arboviroses, dentre outros aspectos, podem ser as possíveis causas para esse cenário. Atualmente, o controle químico aliado ao controle mecânico consiste na principal intervenção para mitigar a incidência das arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti*. Adulticidas e larvicidas organofosforados foram os mais utilizados nas últimas décadas, porém tem perdido local para o pyriproxyfen, larvicida análogo ao hormônio juvenil, devido ocasionar seleção de populações resistentes. Nesse contexto, objetivou-se com o presente trabalho analisar o possível impacto da pressão de seleção do larvicida pyriproxyfen no ciclo biológico do mosquito *A. aegypti* em populações da cidade de Campina Grande, Paraíba. A seleção de mosquitos resistentes foi realizada no LEMMol, CCBS – UEPB, em condição de insetário: 27 °C ± 2 °C e 70 % ± 20 % de umidade e fotoperíodo 12-12h. No primeiro momento, larvas L3 – L4 foram expostas a diferentes concentrações de PYR e os indivíduos sobreviventes foram submetidos a refrigeração para dissecação de asas e medição através do *ImageJ*, submetidos ao *Kruska wallis test*. No segundo momento, larvas foram submetidas a DL50 e os adultos emergentes alimentados para atestar a fertilidade e fecundidade dos mesmos. Em ambas as situações a contagem da mortalidade dos indivíduos foi realizada a cada 48h e os dados obtidos foram testados através da Fórmula de Abbott. Os nossos resultados verificam a eficácia da dose recomendada pela OMS, com IE = 100%, e em doses subletais a IE reduz significativamente, possibilitando adultos resistentes em vida, morfologicamente semelhantes aos insetos não submetidos ao PYR, porém com fertilidade e fecundidade reduzidas. Desse modo, o presente trabalho atesta que mesmo em doses subletais o Pyriproxyfen continua contribuindo positivamente para a redução da população de *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: Efetividade; Inibição de Emergência; Resistência.

¹ Graduando em Ciências Biológicas – Licenciatura pela Universidade Estadual da Paraíba – UEPB; eulalia.melo@aluno.uepb.edu.br

² Professor do Departamento de Biologia; Universidade Estadual da Paraíba; Campina Grande, PB; walterfsm@yahoo.com.br; clbicho@servidor.uepb.edu.br

³ Research fellow in the Department of Vector Biology; Liverpool School of Tropical Medicine; Liverpool, Great Britan; fabricio.martins@servidor.uepb.edu.br

ABSTRACT

Dengue, the main arbovirus transmitted by *Aedes aegypti*, is prevalent in more than 120 countries in the subtropical and tropical regions of the world. In the last decade, epidemiological reports also reveal an ascending epidemiological crisis in the Brazilian territory. The ineffectiveness of vector control actions and the absence of specific vaccines for arboviruses, among other aspects, may be the possible causes for this scenario. Currently, chemical control combined with mechanical control is the main intervention to mitigate the incidence of arboviruses transmitted by *Ae. aegypti*. Adulticides and organophosphate larvicides were the most used in recent decades, but have lost ground to pyriproxyfen, a larvicide analogous to the juvenile hormone, due to the selection of resistant populations. In this context, the objective of the present work was to analyze the possible impact of the selection pressure of the pyriproxyfen larvicide on the biological cycle of the *Ae. aegypti* mosquito in populations of the city Campina Grande, Paraíba. The selection of resistant mosquitoes was carried out at LEMMol, CCBS – UEPB, in insectarium conditions: 27 °C + 2 °C and 70% + 20% humidity and photoperiod 12-12h. At the first moment, L3 – L4 larvae were exposed to different concentrations of PYR and the surviving individuals were submitted to refrigeration for wing dissection and measurement through *ImageJ*, submitted to the *Kruska wallis test*. In the second moment, larvae were subjected to LD50 and the emerging adults were fed to attest to their fertility and fecundity. In both situations, the mortality of individuals was counted every 48 hours and the data obtained were tested using Abbott's Formula. Our results verify the effectiveness of the dose recommended by the WHO, with EI = 100%, and in sublethal doses the EI is significantly reduced, allowing resistant adults in life, morphologically similar to insects not subjected to PYR, but with reduced fertility and fecundity. Thus, the present work attests that even at sublethal doses, Pyriproxyfen continues to contribute positively to the reduction of the *Ae. aegypti* population.

Keywords: Effectiveness; Emergency inhibition; Resistance.

1 INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*, bem como a zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV) e febre amarela; endêmica das regiões tropicais e subtropicais, afetando mais de 120 países e atingindo aproximadamente 390 milhões de infecções anuais no mundo (BHATT *et al.*, 2013). Diversas características dos vetores, como serem artrópodes antropofílicos que realizam múltiplas alimentações em um único ciclo gonotrófico e o hábito de oviposição, associadas às condições habitacionais e de saneamento básico precários das populações possibilita uma rápida dispersão da doença (DIAS *et al.*, 2022; HUSTEDT *et al.*, 2020; MCGREGOR & CONNELLY, 2021).

No território brasileiro o cenário visualizado não diverge do mundial, uma crise epidemiológica ascendente. Com isso, desde o século XX diversas campanhas e programas de controle de *Ae. aegypti* foram implementadas no Brasil na tentativa de erradicação da dengue, como o Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) nos anos 90 e o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue (PIACD) em 2001; entretanto, devido ao insucesso dos mesmos, aliado a ausência de vacinas e tratamentos específicos para essa arbovirose, o governo voltou as atenções para o controle vetorial com o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), instituído no ano de 2002 e ativo até os dias atuais (FUNASA, 2002; ZARA *et al.*, 2016).

Existem múltiplos métodos que podem ser utilizados para controle vetorial, contudo, estes podem ser sintetizados em três tipos: controle mecânico, que tenciona eliminar ou reduzir os vetores e os criadouros, com o uso, por exemplo, de ovitrampas e a *gravid trap*; o controle químico, utilizando produtos químicos com o propósito de matar larvas e adultos; e o controle biológico, que age através de predadores ou patógenos aptos para diminuição das populações de *Ae. aegypti* (ZARA *et al.*, 2016). Todavia, no Brasil a principal estratégia utilizada para o tratamento de focos tem sido a associação de controles mecânicos com inseticidas químicos em busca de reduzir ao máximo a população do inseto. (RÍOS *et al.*, 2017; MOREIRA, 2018).

Ao considerarmos os inseticidas químicos utilizados para o controle vetorial, os piretróides são os adulticidas mais aplicados no mundo inteiro e compõem a rotina de controle do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). São comumente pulverizados em pontos estratégicos, possuindo alta eficácia por menor quantidade de produto ativo, porém a aplicação inadequada e por longos períodos contribuem para a seleção de mosquitos resistentes a estas substâncias (WHO, 2013). Desse modo, esse tratamento foi substituído parcialmente pelo uso de larvicidas organofosforados, porém, desde 2014, o PNCD vem substituindo-o pela utilização de larvicidas análogos ao hormônio juvenil, que atuam na fase de maior vulnerabilidade do *Ae. aegypti*, devido ao aumento da resistência detectados nas populações aos larvicidas organofosforados (ALONSO E TANNER, 2013; BRASIL, 2009; BRASIL, 2014).

O pyriproxyfen (composição química: C₂₀H₁₉NO₃) (PYR) é um larvicida análogo do hormônio juvenil, que atua durante a ecdise do terceiro e quarto instares larvais, mimetizando o hormônio juvenil natural e interrompendo a emergência do adulto, resultando em morte tipicamente em pupa (FIAZ, 2019; MOURA *et al.*, 2020). Consiste em uma substância sem ações carcinogênicas, teratogênicas ou genotóxicas, quando utilizado em dose recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e, aliado a alta efetividade em doses significativamente baixas, um dos larvicidas recomendados no controle da dengue (BRASIL, 2014).

Contudo, a detecção da evolução da resistência aos inseticidas químicos utilizados no controle de insetos vetores tem sido amplamente relatada no Brasil e no mundo (LINSS *et al.*, 2014; LIU, 2015). A resistência pode ser pensada como um processo de evolução acelerada de uma população que responde a uma intensa pressão seletiva, com a consequente sobrevivência dos indivíduos que possuem alelos que conferem resistência (BRAGA & VALLE, 2007). Algumas das possíveis causas para esse aumento da resistência são a aplicação com uma maior frequência de pesticidas, negligência durante as aplicações, podendo ser a utilização de dose subletal ou acima da indicada pelo OMS, o uso por longos períodos ou sua substituição por outro produto, geralmente de maior toxicidade, bem como possibilidade das populações alvo apresentarem resistência cruzada ou resistência múltipla para novos compostos (POUPARDIN *et al.*, 2012; NKYA *et al.*, 2013; WHO, 2013).

O número de mecanismos envolvidos com a resistência é relativamente pequeno e inclui a diminuição da sensibilidade do sítio-alvo, a diminuição da taxa de penetração do composto no corpo do inseto, o aumento da atividade de enzimas de detoxificação e mudanças em seu comportamento (LIU, 2015; FAUCON *et al.*, 2017). Por outro lado, os larvicidas com efeito regulador de crescimento atuam interferindo na pupação, desenvolvimento dos insetos, alterações na morfogênese, desenvolvimento embriológico, reprodução, diapausa, polimorfismo e comportamento dos estágios de pupa e adulto (FIAZ *et al.*, 2019; MOURA *et al.*, 2020).

Uma situação epidemiológica atípica, com epidemias de três arbovírus, pode ser visualizado em todo território nacional nos últimos anos (BHATT *et al.*, 2013; CALVET *et al.*, 2016). Ao considerarmos o estado da Paraíba, a notificação de casos do ano de 2015 a 2022 sofreu oscilações, com quedas abruptas nos anos de 2017 (6.575 casos notificados) e 2020 (8.609) e picos nos anos de 2016 (70.201), 2019 (20.640) e 2022 (47.378) (BRASIL, 2022a; BRASIL, 2022b). Essa flutuação ocorre não só em decorrência da má execução dos planos de contingência anuais posteriores aos anos de queda, mas também ao crescimento desordenado das áreas urbanas, entre outros fatores (MCGREGOR & CONNELLY, 2021).

Embora o controle químico de vetores seja a principal ferramenta para minimizar os casos, até o presente momento ocorre uma escassez de estudos acerca o efeito do uso do larvicida pyriproxyfen em doses letais e subletais no ciclo biológico, morfologia e fecundidade nas populações de *Ae. aegypti* no estado da Paraíba. Assim, ao estudar a eficácia de diversas concentrações de PYR em populações do mosquito da dengue na cidade de Campina Grande, o presente trabalho fornecerá informações essenciais para a compreensão de possíveis impactos no ciclo biológico de insetos resistentes que possam implicar no processo de transmissão de arboviroses.

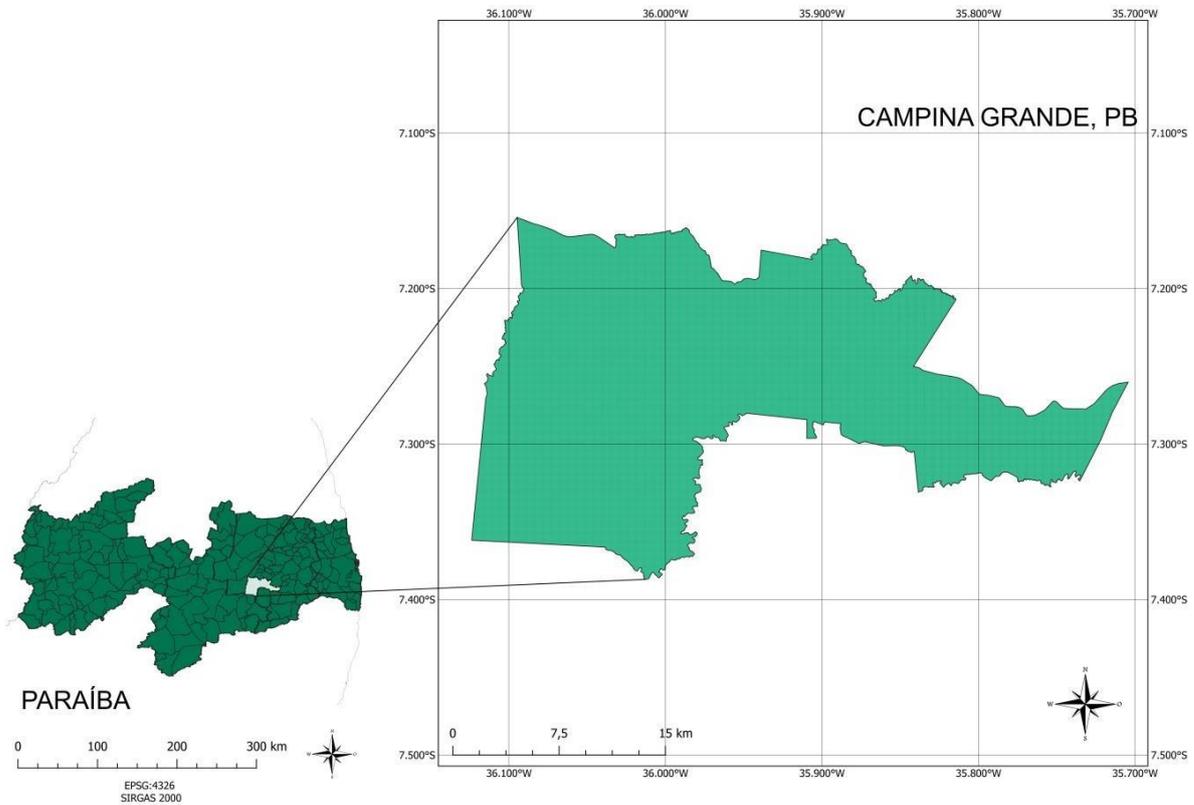
2 METODOLOGIA

2.1 Local de Estudo

O estudo foi realizado no município de Campina Grande, Paraíba, Brasil, localizado na mesorregião do agreste paraibano, na parte oriental do Planalto da Borborema, possui vegetação do tipo caatinga, clima equatorial semi-árido, caracterizado pelos períodos seco e chuvoso e temperatura média anual de 23.3°C. A cidade possui área territorial de 591,658 km² (Latitude 7° 13' 51" Sul, Longitude: 35° 52' 54" Oeste) localizando-se a 512 m de altitude em relação ao nível do mar. A

população é de aproximadamente 513.430 habitantes e apresenta uma densidade demográfica em torno de 648,31 hab/Km² (IBGE, 2021) (Figura 1).

Figura 1 – Mapa do Estado da Paraíba com destaque para o município de Campina Grande elaborado através do programa QGIS a partir de bases cartográficas disponibilizadas pelo IBGE.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

2.2 Coleta de ovos de *Aedes aegypti*

A coleta dos ovos de *Aedes aegypti* foi realizada com a utilização de armadilhas do tipo ovitrampas (Figura 2 A), estas constituídas de plástico de cor preta, com abertura de cerca de 12 cm de largura na parte superior e capacidade de 800mL (WHO, 2013). No interior do recipiente foram colocadas duas palhetas de madeira do tipo Duratree, com um lado liso e o outro áspero, de 12 cm x 2,5 cm de largura fixadas verticalmente, com a face áspera para cima para postura e aderência dos ovos, 400mL de água para apenas metade da palheta estar em contato com o líquido e 1 grama de fermento biológico para ocorrer a atração das fêmeas.

Ao todo, foram distribuídas 30 armadilhas de modo aleatório em área intra e peridomiciliar (Figura 2 B1-B3), sombreadas para evitar a evaporação total, no bairro do Distrito industrial, local selecionado por se tratar de uma região com saneamento básico precário na cidade. Após o período de quatro dias foram recolhidas e o material coletado transportado até o Laboratório de Entomologia Médica e Molecular (LEMMol) localizado no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), Campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). As palhetas foram postas para secar naturalmente por 72 horas e, com o auxílio de um estereó microscópio lupa binocular, visualizado a presença ou não de ovos.

Figura 2 – A) Ovitrapa estruturada com duas palhetas do tipo Duratree, água e fermento biológico para a coleta de ovos; **B1-B3)** Ovitrapas instaladas em área intra e peridomiciliar.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

2.3 Pressão seletiva através de diferentes doses de Pyriproxyfen

As palhetas contendo ovos do mosquito foram colocadas em bandejas plásticas contendo 1 litro de água destilada cada, sob condições de laboratório; $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade de $70\% \pm 10\%$, e fotoperíodo de 12-12 h. A seleção de palhetas foi realizada aleatoriamente para intensificar a diversidade genética e evitar a consanguinidade. Em seguida, as bandejas foram cobertas por uma tela de malha fina e alimentadas com ração para peixe a cada 48h com o propósito de obtenção das larvas em fase L3/L4 para a realização do bioensaio (Figura 3).

Figura 3 – Palhetas contendo ovos postas em água destilada para eclosão de larvas.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Ao atingir a fase L3 do ciclo biológico, foram colocadas 30 larvas por recipientes plásticos de 500ml contendo 200ml de água destilada, em triplicatas para o controle e respectivas diluições de pyriproxyfen, sob a concentração inicial da dose diagnóstico de 0.01ppm indicada pela OMS (Tratamento 0), seguido de cinco diluições seriadas de 1:10 (Tabela 1). Para o controle, foi adicionado 0,5 μ L de álcool etílico e utilizado 0,5 μ L das diluições nos tratamentos T0-T5 para atestar a eficácia de diferentes concentrações do larvicida. O experimento foi realizado em delineamento ao caso, com os copos posicionados aleatoriamente. A taxa de emergência para cada tratamento foi avaliada a cada 48h considerando a mortalidade de larvas, pupas ou surgimento de adultos.

Tabela 1 – Concentrações de Pyriproxyfen em relação à dose diagnóstica utilizadas em cada tratamento.

Tratamentos	Diluição	Concentração (ppm)
T0	C	0,01
T1	1_5	0,002
T2	1_10	0,001
T3	1_20	0,0005
T4	1_30	0,000333333333333333
T5	1_40	0,00025

Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

2.4 Efeito de diferentes doses de Pyriproxyfen na morfologia dos adultos

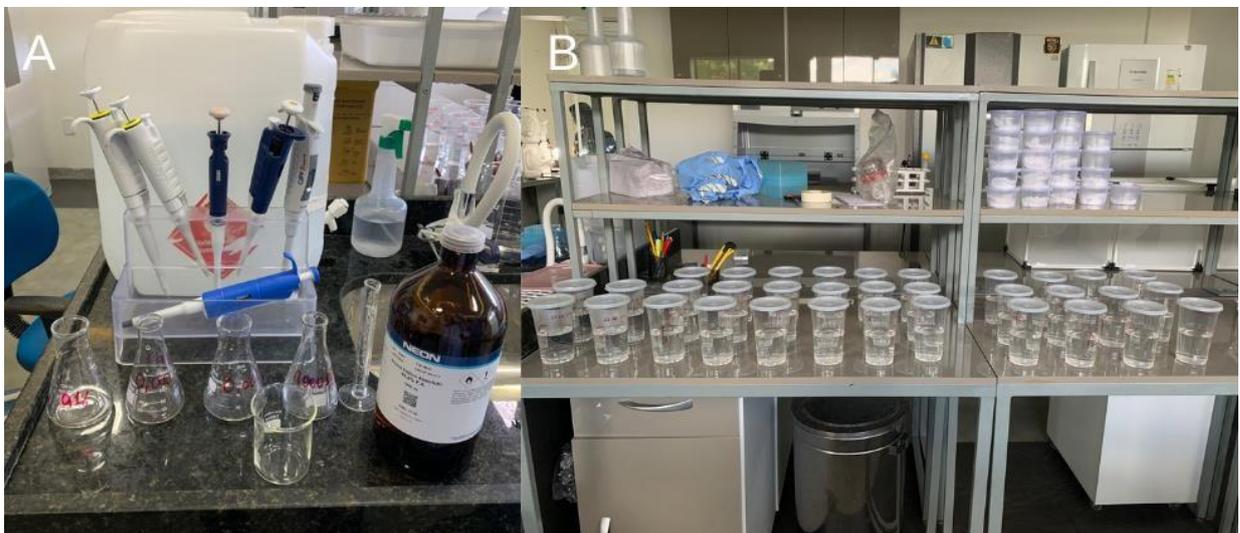
Os adultos sobreviventes ao controle e aos tratamentos T0-T5 foram submetidos a refrigeração para alcançar o óbito sem modificações na estrutura das

asas. Com o auxílio de um estereomicroscópio lupa binocular e uma pinça anatômica de dissecação, as asas foram retiradas, posicionadas em lâminas de vidro e fotografadas no aumento de 4x. Utilizando o *software ImageJ* para medir manualmente a altura e largura de ambas as asas de cada indivíduo e os dados obtidos separados em grupos, onde cada um foi subdividido em duas categorias, machos e fêmeas (designados M e F, sequencialmente), e disponibilizados em planilha para excel. Para uma melhor visualização dos dados adquiridos, foi realizado um cálculo de média aritmética simples para sintetizar o comprimento e largura média das asas dos indivíduos dissecados.

2.5 Efeito da seleção de resistência no Ciclo Biológico

Com a obtenção da dose letal 50 (DL50), foi realizado um segundo bioensaio com o objetivo de analisar o efeito da seleção de resistência no ciclo biológico do *Aedes aegypti*. O procedimento inicial nessa fase foi semelhante ao adotado no ponto 2.3, contudo, ao atingir a fase L3 do ciclo biológico, foram colocadas 30 larvas por recipiente plástico de 500ml contendo 200ml de água destilada, sendo em quatro repetições para o controle, onde foi adicionado 0,5 µL de álcool etílico, e 30 repetições utilizando 0,5 µL da quinta diluição (0.0002 ppm) para a concentração da dose diagnóstico (0.01 ppm) de pyriproxyfen (Figura 4 A e B, Tabela 2) em prol da obtenção de um número maior de indivíduos resistentes.

Figura 4 – Bioensaio utilizando a DL50; **A)** Processo de diluição seriada do larvicida Pyriproxyfen à 1% (0.01 ppm) até atingir a 5ª diluição à 0.0001% (0.0002 ppm). **B)** Copos após a pipetagem dos tratamentos utilizados.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

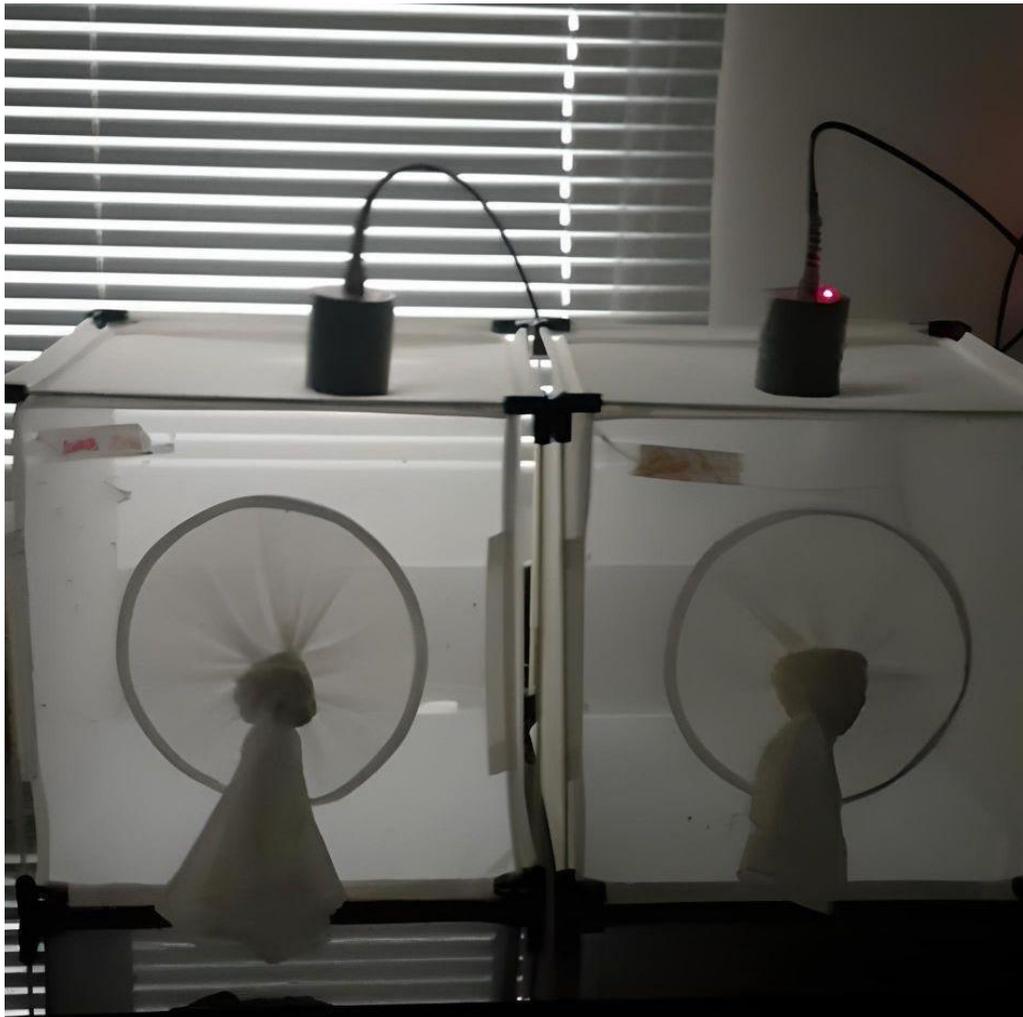
Tabela 2 – Volumetria para a diluição seriada do larvicida Pyriproxyfen à 1% (0.01 ppm) até atingir a 5ª diluição à 0.0001%

	Diluição	Volumetria (ml)	
		Alcool Etílico	Pyriproxyfen
Solução STOCK	1%	1.8	0.2
DL20	0.1%	9	1
DL30	0.01%	9	1
DL40	0.001%	9	1
DL50	0.0001%	9	1

Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

A cada 48h foi realizada a contagem de emergência, sobrevivência e mortalidade dos adultos e aqueles vivos foi realizado a sexagem e colocados em gaiolas 30x30x30cm em 2:1 (duas fêmeas para um macho) para o controle e DL50, logo após sendo realizado o primeiro repasto sanguíneo com sangue de galinha (*Gallus gallus domesticus*) através do *Hemotek Membrane Feeding Systems* (Figura 6). Aliado a alimentação foi disponibilizado continuamente açúcar a 10% para garantir a sobrevivência dos indivíduos.

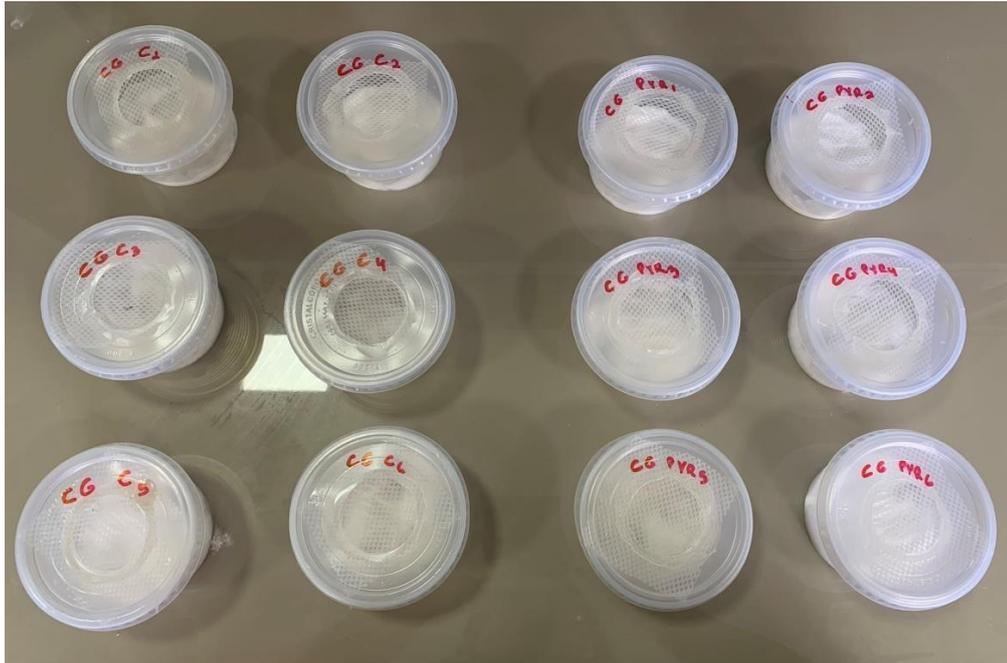
Figura 5 – Repasto sanguíneo através do *Hemotek Membrane Feeding Systems*.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

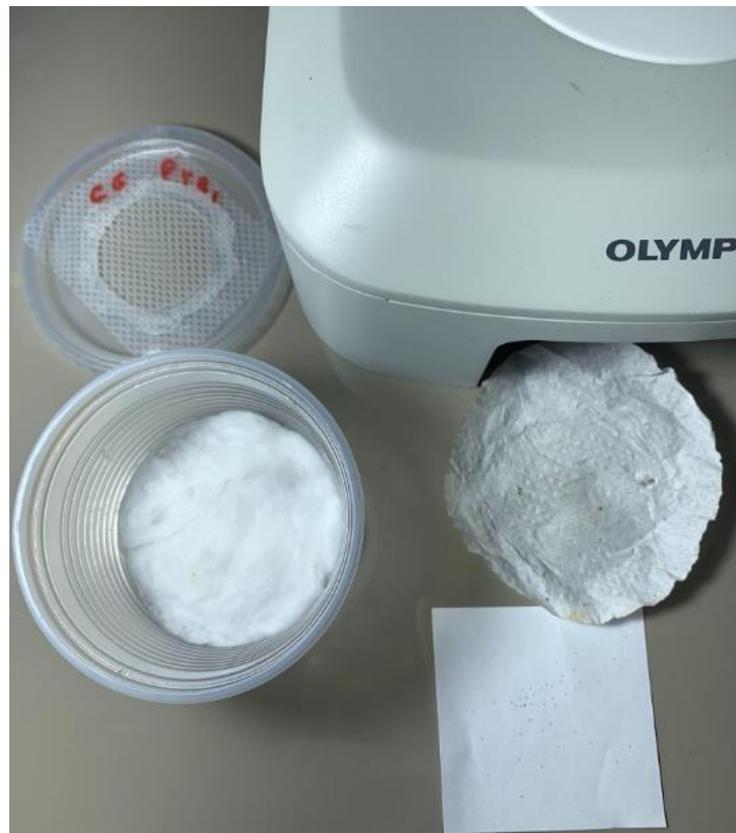
Após a realização de cinco repastos foi aguardado o período de 24h para garantir o acasalamento e as fêmeas retiradas das gaiolas e isoladas como indivíduos em recipientes de 25 ml forrados com algodão, este umedecido com 5ml de água destilada para estimular a oviposição e possibilitar a análise de fecundidade (Figura 7). O número de ovos postos foi contabilizado após o período de 5 dias de isolamento com o auxílio de um estereomicroscópio lupa binocular (Figura 8) e, logo após, postos em água destilada para atestar a viabilidade dos mesmos.

Figura 6 – Fêmeas isoladas individualmente para facilitar a contagem dos ovos postos.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Figura 7 –Contabilização de ovos postos com auxílio de estereomicroscópio lupa binocular.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

2.6 Análise Estatística

Para a realização do cálculo da eficiência de inibição da emergência na pressão seletiva do larvicida Pyriproxyfen em cinco concentrações distintas e na DL50 foi utilizada a fórmula de Abbott: $IE\% = 100(-100 \times ET\% / EC\%)$, sendo **IE**: Inibição da Emergência, **ET**: Emergência do tratamento e **EC**: Emergência controle. Os efeitos na morfologia dos adultos submetidos aos tratamentos foram analisados por meio do *Prism*, utilizando o “*Kruska wallis test*”, que consiste em um teste não paramétrico utilizado com três ou mais amostras diferentes que indica a existência de diferenças significativas entre os dados.

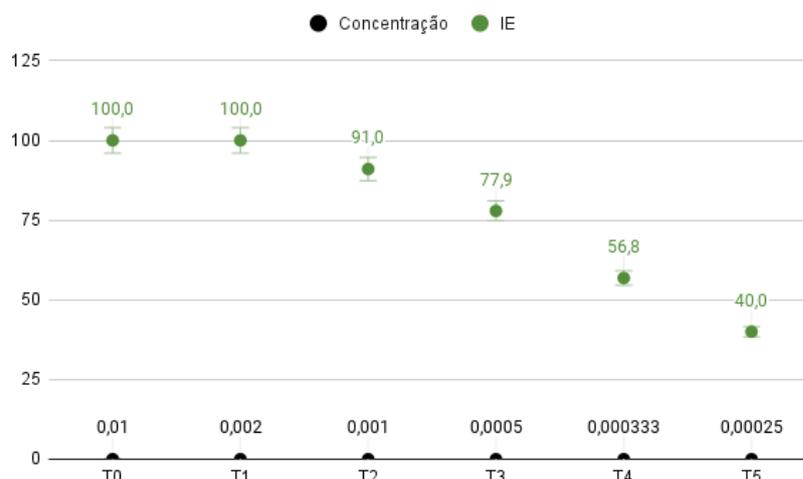
3 RESULTADOS

3.1 Pressão seletiva através de diferentes doses de Pyriproxyfen

Para determinar a eficácia do pyriproxyfen foram utilizadas cinco concentrações com fator de diluição 1:10, iniciada pela dose recomendada pela Organização Mundial da Saúde (0,01 ppm). A partir da fórmula de Abbott, foi verificado que a população de *Aedes aegypti*, proveniente da cidade de Campina Grande, permanece suscetível à dose de pyriproxyfen utilizada nos programas de controle (0,01 ppm) e ao tratamento 1 (0,002 ppm). Nas concentrações subseqüentes a inibição de emergência reduz gradativamente, possibilitando o desenvolvimento de adultos em pleno funcionamento a partir do Tratamento 5 (0,00025 ppm), onde o percentual de inibição de emergência equivale a aproximadamente 40% (39,98%) (Figura 8). Contudo, embora a população expresse resistência relativamente alta (60%) ao PYR quando submetidos a DL50, os indivíduos emergentes não possuem grande longevidade.

Devido o T5 consistir na primeira subdose em que os indivíduos de *Ae. aegypti* expressam resistência ao larvicida Pyriproxyfen, ao persistirem em vida após a emergência, a concentração desse tratamento foi designada como Dose Letal 50 e utilizada posteriormente para análises aprofundadas de seus efeitos na fertilidade e fecundidade dos adultos resistentes.

Figura 8 – Percentual de Inibição de Emergência (IE) considerando a dose letal recomendada pelo MS (T0) e suas respectivas diluições a 1:10 (T1-T5).

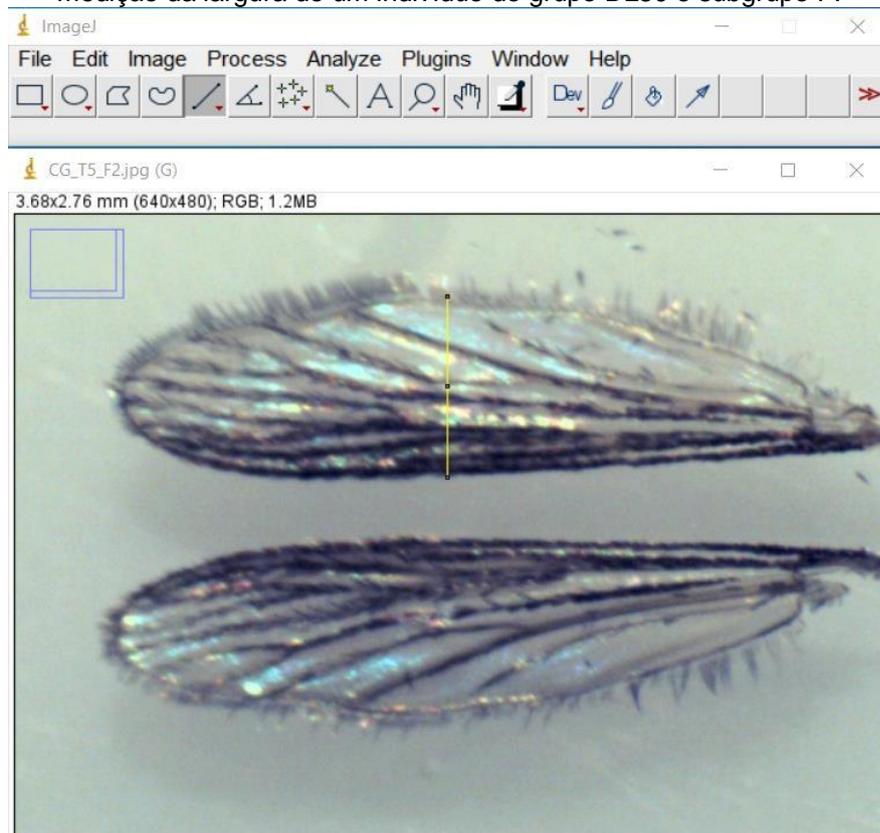


Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

3.2 Efeito de diferentes doses de Pyriproxyfen na morfologia alar dos adultos

Ao considerarmos os adultos emergentes dos tratamentos utilizados no primeiro bioensaio, apenas aqueles submetidos à concentração de 0.0002 ppm (T5) perseveraram em vida para ocorrer a dissecação das asas, sendo identificado como grupo DL50. Os indivíduos do grupo controle também foram submetidos a dissecação para posterior comparação dos tamanhos através do *ImageJ* em que foi utilizado como referência para os tamanhos a quantidade de pixels por mm (Figura 9). A partir dos dados disponibilizados em excel, foi realizado um cálculo de média aritmética simples para sintetizar o comprimento e largura média das asas dos indivíduos dissecados.

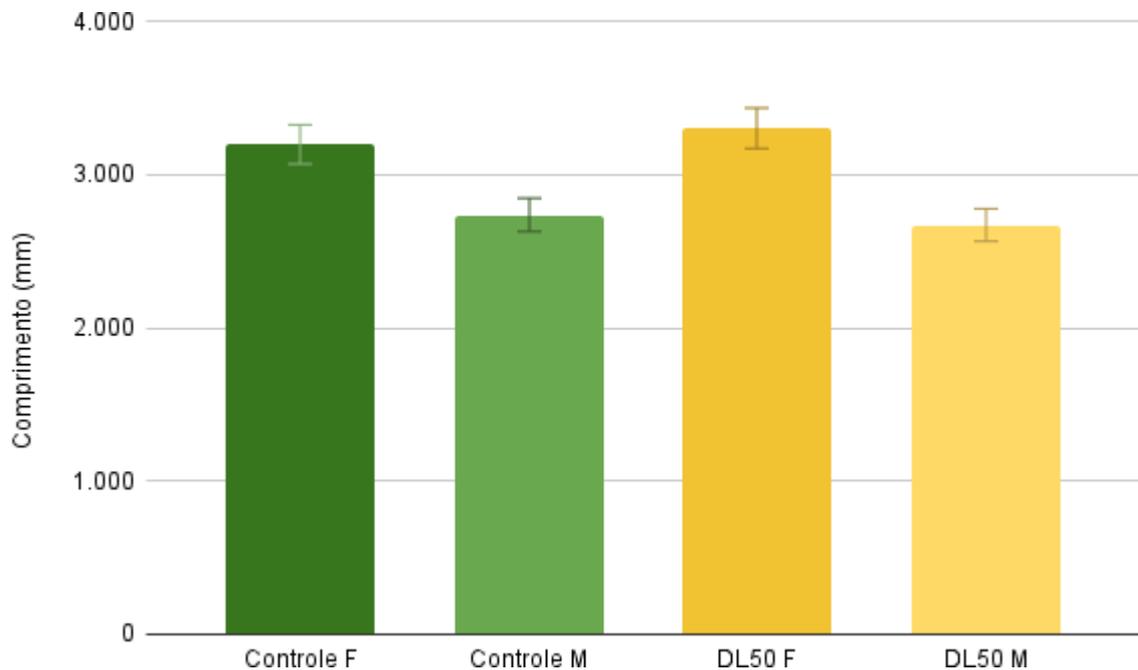
Figura 9– Amostra representativa para o uso do *software ImageJ*, em que é possível visualizar a medição da largura de um indivíduo do grupo DL50 e subgrupo F.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

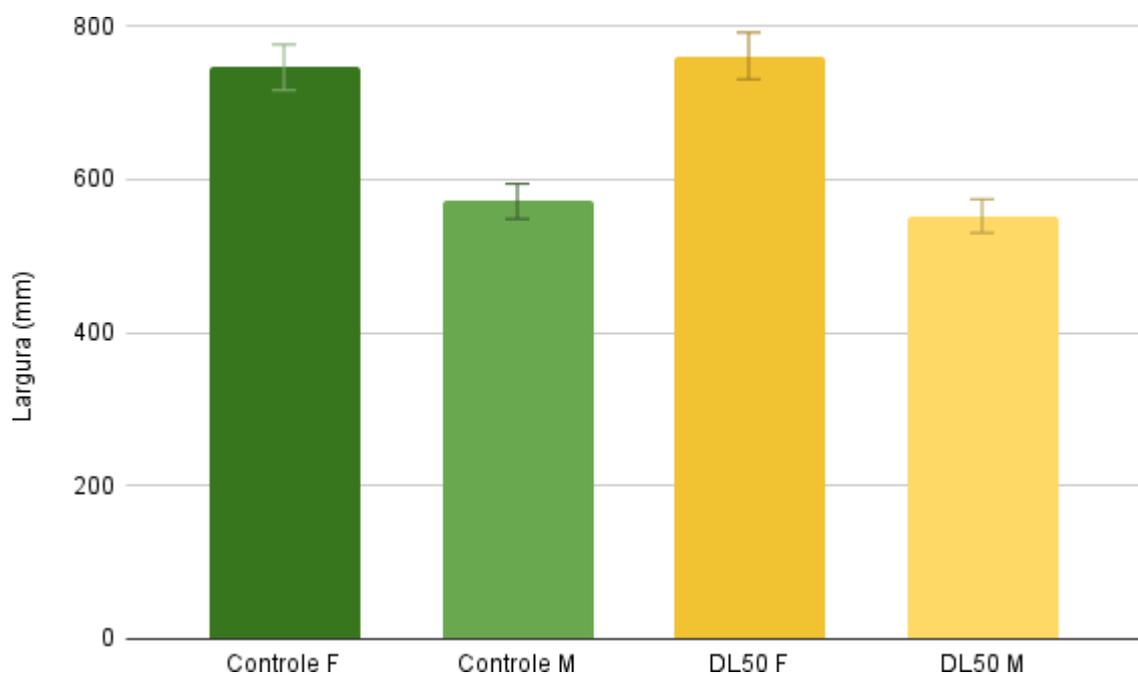
Em relação ao comprimento das asas, o grupo Controle F possui uma média de 3.196 mm, Controle M de 2.736 mm, DL50 F 3.302 mm e DL50 M 2.670 mm (Figura 10). Quanto a largura, a média consiste em 746 mm para Controle F, 571mm Controle M, 761 mm DL50 F e 552 mm DL50 M (Figura 11).

Figura 10 – Comprimento médio das asas dos adultos dos grupos Controle e DL50 e suas respectivas subcategorias (F e M).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Figura 11 – Largura média das asas dos adultos dos grupos Controle e DL50 e suas respectivas subcategorias (F e M).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Em vista disso, através do *software* Prism, foi realizado o teste não paramétrico *Kruska wallis* em que foi averiguado prováveis diferenças significativas entre o comprimento e largura das amostras. Verificou-se que ao comparar os grupos

Controle e DL50 com subcategorias distintas existe diferença significativa entre as asas. Contudo, comparar as mesmas subcategorias, Controle F e DL50 F e Controle M e DL50 M, resultou na inexistência de uma diferença significativa no comprimento e largura das asas entre os indivíduos submetidos ao pyriproxyfen e aqueles não submetidos (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados do *Kruska wallis test* em que foi feita a comparação dos grupos Controle F, Controle M, DL50 F e DL50 M.

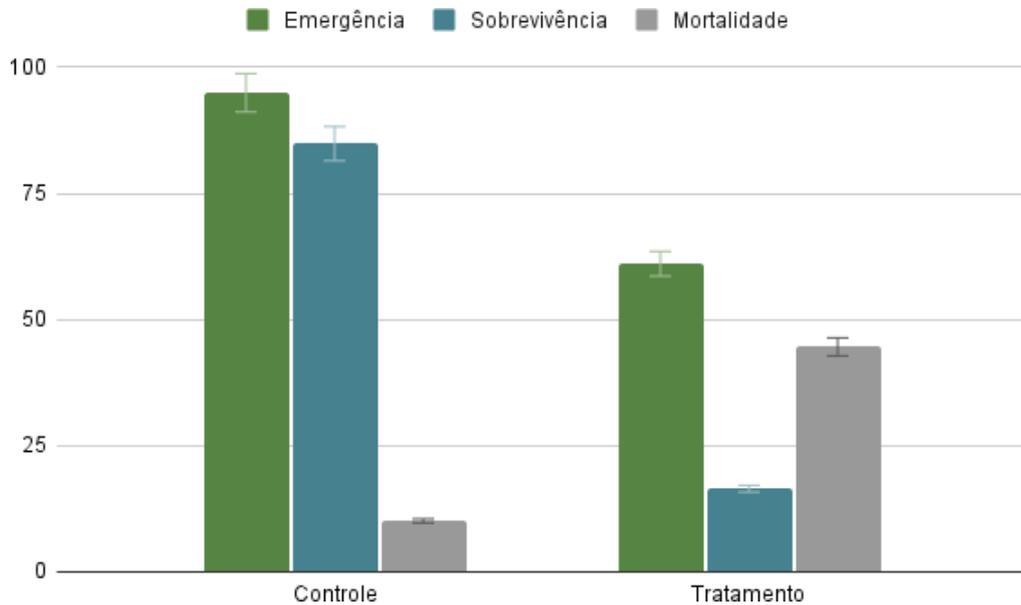
Número de Famílias	1	
Número de comparação por família	6	
Alpha	0,05	
Teste de Múltiplas Comparações	Diferença de classificação média	Significância?
Controle F vs. Controle M	47.93	Sim
Controle F vs. DL50 F	-4.95	Não
Controle F vs. DL50 M	47.43	Sim
Controle M vs. DL50 F	-52.88	Sim
Controle M vs. DL50 M	-5.032	Não
DL50 F vs. DL50 M	52.38	Sim

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

3.3 Efeito da seleção de resistência no Ciclo Biológico

Com a obtenção da DL50 (0,0002 ppm), um segundo bioensaio foi realizado para analisar o efeito da seleção de resistência no ciclo biológico do *Aedes aegypti*. Durante a primeira fase do processo, que consiste na seleção por PYR, foi realizada a contagem a cada 48h da emergência, sobrevivência e mortalidade de pupas e adultos do controle e tratamento. A partir dos dados obtidos foi utilizado a fórmula de Abbott para atestar a eficiência de inibição de emergência da DL50, sendo observado que, para o controle, a taxa de emergência dos indivíduos equivale a 94,95% com uma taxa de sobrevivência de 84,87%, consequentemente uma taxa de mortalidade de 10,084%. Já para os indivíduos submetidos à pressão do larvicida, a taxa de emergência equivale a 61,0609%. Contudo, ao considerarmos os indivíduos sobreviventes, visualizamos uma taxa de sobrevivência de 16,4785553% e por conseguinte a taxa de mortalidade corresponde a 44,58% (Figura 12).

Figura 12 – Taxa de Emergência, sobrevivência e mortalidade de adultos de *Aedes aegypti* submetidos ao controle e a DL50 do larvicida Pyriproxyfen.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Paralelamente à contabilização dos indivíduos, foi realizada a sexagem dos adultos emergentes para ocorrer a separação dos adultos em gaiolas em prol do acasalamento e repasto sanguíneo. Devido a maior quantidade de fêmeas resistentes ao pyriproxyfen (Tabela 5) foi estabelecido a divisão de 2:1 (2 fêmeas para 1 macho) em cada gaiola, totalizando inicialmente uma gaiola para controle com 50 fêmeas e 25 machos, e uma para os adultos resistentes, com 88 fêmeas e 44 machos.

Tabela 4 – Sexagem de indivíduos emergentes e sobreviventes ao bioensaio.

	Controle		DL50	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
Emergentes	59	54	246	295
Sobreviventes	50	51	57	89

Fonte: Elaborada pelo autor, 2022

As alimentações foram realizadas com no mínimo 48h entre elas e os indivíduos sobreviventes contabilizados para permitir a fecundação (Tabela 6). Ao fim dos cinco repastos, 30 fêmeas resistentes a DL50 persistiram em vida e, por este fator, apenas 30 fêmeas controle foram isoladas para estabelecer um parâmetro equipedente entre os dados obtidos.

Tabela 5 – Quantificação de indivíduos adultos sobreviventes no decorrer do processo de repastos sanguíneos.

	Controle		PYR I	
	Macho CNT	Fêmea CNT	Macho PYR	Fêmea PYR
23/12/2022	25	50	44	88
26/12/2022	25	50	30	57
28/12/2022	25	50	20	40
30/12/2022	22	45	17	34
02/01/2023	22	42	11	30

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

Ao passar de cinco dias de isolamento das fêmeas, os indivíduos foram retirados dos copos para a contagem dos ovos postos. Verificou-se que, em condições laboratoriais, dos trinta adultos do controle, doze ovipositaram. Em contrapartida, apenas 2 indivíduos resistentes realizaram a oviposição (Tabela 7). Todos os ovos postos foram colocados em 50ml de água destilada e, ao fim de 3 dias, todas as larvas eclodiram, evidenciando uma ausência de ação ovicida.

Tabela 6 – Quantificação de ovos postos por fêmea em cada copo quando submetidos a condições de laboratório.

Fêmea	Ovos postos			Fêmea	Ovos postos		
	Controle	DL50			Controle	DL50	
1	80	60		16	0	0	
2	44	0		17	0	0	
3	32	0		18	17	0	
4	62	0		19	0	0	
5	29	0		20	0	0	
6	0	56		21	0	0	
7	80	0		22	39	0	
8	40	0		23	0	0	
9	0	0		24	0	0	
10	46	0		25	0	0	
11	45	0		26	0	0	
12	70	0		27	0	0	
13	0	0		28	0	0	
14	0	0		29	0	0	
15	0	0		30	0	0	

Fonte: Elaborada pelo autor, 2023.

4 DISCUSSÃO

O Pyriproxyfen consiste em um larvicida inibidor de crescimento que atua mimetizando o hormônio juvenil natural dos insetos durante as fases larvais e finda por interferir diretamente na metamorfose e emergência dos adultos, podendo ter efeitos também sobre a fertilidade (FIAZ, 2019; MOURA *et al*, 2020; PESSOA, 2018). Trata-se de uma substância ambientalmente segura, sem ações carcinogênicas, teratogênicas ou genotóxicas, com alta efetividade em doses reduzidas, sendo recomendada no controle de insetos de importância sanitária (PESSOA, 2018; WHO 2013). Esse larvicida está sendo utilizado nos programas de controle vetorial da dengue desde o ano de 2014, contudo negligência durante a aplicação do larvicida, utilização de dose subletal ou o uso por longos períodos contribuem para a seleção de mosquitos resistentes (BRASIL, 2014).

Neste estudo verificou-se que a dose do pyriproxyfen recomendada pela OMS, na concentração de 0,01 ppm, e a sua primeira diluição, na concentração de 0,002 ppm, apresentou eficiência na inibição da emergência dos adultos, pois averiguou-se uma mortalidade de 100% ao utilizá-la, contudo à medida que a diluição é aumentada pode ser verificada a diminuição da taxa de inibição de emergência de adultos e, conseqüentemente, adultos resistentes que viabilizam a persistência da população. De acordo com os critérios da OMS (WHO, 2013), resultados iguais ou superiores a 98% indicam sensibilidade ao larvicida, e aqueles com menos de 98% indicam possível resistência. Tendo isto em vista, a partir da segunda diluição, com concentração de 0,001 ppm e taxa de inibição de emergência de 91%, existe a possibilidade de indivíduos resistentes.

No trabalho de Freitas (2020), realizado no estado do Maranhão, obteve-se resultados similares ao utilizar a dose recomendada pela OMS em bioensaios laboratoriais e de semi-campo, com uma taxa de inibição maior que 98% ratificando a eficácia do Pyriproxyfen em populações divergentes. O estudo de Fonseca e Colaboradores (2019), produzido no município de Itabuna, Bahia, obteve o índice de mortalidade de 95,1% ao uso do larvicida à 0,01 ppm, demonstrando que embora ainda apresente uma taxa alta de eficácia, o pyriproxyfen mostra indícios de aumento de resistência nas populações testadas.

A relação inversamente proporcional do aumento de emergência de adultos à medida que a concentração do pyriproxyfen reduz é corroborada pelo estudo de Moura, Nadai e Corbi (2020), em que foi investigado os efeitos subletais de cinco concentrações de pyriproxyfen, sendo as mesmas diluições utilizadas no presente estudo, porém sob três temperaturas diferentes, e observaram que os indivíduos submetidos ao larvicida em dose subletal possuem índice de sobrevivência baixo.

Acerca da morfologia alar dos indivíduos adultos de *Aedes aegypti*, constatou-se diferenças significativas entre indivíduos machos e fêmeas, onde as asas das fêmeas possuem o comprimento e largura maior do que as asas dos machos. Essa diferença de tamanhos é respaldada pela literatura, onde espécies da família Culicidae apresentam dimorfismo sexual em que as fêmeas possuem maior desenvolvimento corpóreo e, conseqüentemente, asas maiores, como também antenas pilosas, contrapondo aos machos com antenas plumosas (COSTA, 2019; SANCHÉZ & LIRIA, 2017; LORENZ, C.; VIRGINIO, F. & BREVIGLIERI, E. L., 2018.).

Todavia, ao compararmos as asas dos indivíduos resistentes ao pyriproxyfen aos não submetidos ao larvicida, as diferenças morfológicas não são significativas, demonstrando que a primeiro momento a pressão seletiva de doses subletais do Pyriproxyfen não alteram drasticamente as estruturas alares. Esses resultados são corroborados pelo trabalho de Vidal e Suesdek (2011), realizado a partir de quatro amostras populacionais no município de São Paulo, SP, em que verificou-se uma discrepância não significativa da morfologia das asas de *Aedes aegypti* dentro de cada população e entre as quatro populações.

A fim de analisar o efeito do uso de dose subletal no ciclo biológico do *Aedes aegypti*, com enfoque na longevidade, fertilidade e fecundidade, a DL50 definida no primeiro bioensaio foi utilizada para promover pressão seletiva e possibilitar a emergência de adultos resistentes para posterior acasalamento. Verificou-se que neste segundo bioensaio a taxa de inibição de emergência das larvas submetidas ao pyriproxyfen possui similaridade com a obtida no primeiro bioensaio (38,94% e 39,98% respectivamente), porém apenas 16,48% (146 indivíduos, sendo 88 fêmeas e 44 machos) sobreviveram e prosseguiram para a realização do teste de fertilidade.

Pode ser observado que dos adultos resistentes, apenas 30 fêmeas foram submetidas a isolamento para possibilitar a oviposição, onde 2 exemplares ovipositaram em condições laboratoriais. Em contrapartida, das 30 fêmeas provenientes do controle isoladas, 12 ovipositaram, evidenciando redução na fertilidade e fecundidade nos indivíduos submetidos a DL50. Todos os ovos postos, quando colocados em água destilada eclodiram, indicando ausência de ação ovicida.

A redução da fertilidade e fecundidade foi visualizada por Harburguer e colaboradores (2014), onde cepas provenientes da Venezuela foram submetidas à concentração de Pyriproxyfen que possibilitou uma IE de 40% e 20% (DL50) e verificou-se que na concentração de 40% a oviposição das fêmeas reduz significativamente quando em comparação com 20%, que possuiu resultados semelhantes aos adultos não resistentes. Em ambas as concentrações os ovos

eclodiram, corroborando com a hipótese de que dose subletal do larvicida análogo ao hormônio juvenil permite o prosseguimento de populações. O trabalho de Rigby *et al* (2021) apresenta resultados similares ao atestar o impacto de doses subletais de Permetrina, um tipo de inseticida, em populações provenientes da Austrália e verificou-se que os indivíduos resistentes obtiveram a fertilidade e fecundidade reduzidas igualmente.

5 CONCLUSÃO

Ao considerarmos a dose de Pyriproxyfen indicada pela Organização Mundial da Saúde verificou-se que sua eficácia persiste nas populações da cidade de Campina Grande, Paraíba, em condições laboratoriais. Contudo, à medida que a concentração do larvicida é diluída a taxa inibição de emergência reduz paralelamente e, ao atingir a dose subletal 50, onde há uma IE de aproximadamente 40%, indivíduos emergentes possuem longevidade maior e possibilita o acasalamento. Quando em comparação com indivíduos não submetidos ao larvicida, os adultos resistentes dispõem de uma morfologia de asas similar aos não resistentes, contudo, uma longevidade, fertilidade e fecundidade reduzida, atestando que mesmo em doses subletais o Pyriproxyfen continua contribuindo positivamente para a redução da população de *Aedes aegypti*.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, P. L.; TANNER, M. Public health challenges and prospects for malaria control and elimination. **Nature medicine**, v. 19, n. 2, p. 150-155, 2013. ISSN 1078-8956.
- BHATT, S. et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504- 507, 2013. ISSN 0028-0836.
- BRAGA, I. A. & VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, 2007. ISSN 2237-9622.
- BRASIL. Boletim Epidemiológico. SAÚDE, S. D. Paraíba, 2022a.
- _____. **Nota Técnica n015/2009/CGPNCD/DIGES/SVS/MS**. SAÚDE, S. D. V. E. Brasília 2009.
- _____. **Ofício Circular nº 123/2014/GAB/SVS/MS**. SAUDE, S. D. V. E. Brasília 2014.
- _____. PLANO ESTADUAL DE CONTINGÊNCIA DAS ARBOVIROSES - DENGUE, ZIKA E CHIKUNGUNYA. SAÚDE, S. D. Paraíba, 2022b.
- CALVET, G. *et al*. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. **The Lancet Infectious diseases**, v. 16, n. 6, p. 653-660, 2016. ISSN 1473-3099.

COSTA, R. O. B. **Influência da temperatura e ciclo circadiano na eclodibilidade, desenvolvimento, características celulares e sexo do mosquito *Aedes aegypti***. Monografia (Graduação) - UFPB/CBiotec - João Pessoa, 2019.

DIAS, I. K. R. *et al.* Ações educativas de enfrentamento ao *Aedes aegypti*: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, n. 1, p. 231-242, 2022.

FAUCON, F. *et al.* In the hunt for genomic markers of metabolic resistance to pyrethroids in the mosquito *Aedes aegypti*: An integrated next-generation sequencing approach. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. e0005526, 2017. ISSN 1935-2735.

FAZ. M *et al.* Pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, damages midgut cells and interferes with behaviors of *Aedes aegypti* larvae. **PeerJ**, 2019.

FONSECA, E. O. L. *et al.* Estudo experimental sobre a ação de larvicidas em populações de *Aedes aegypti* do município de Itabuna, Bahia, em condições simuladas de campo. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 28, n. 1, 2019.

FREITAS, T. C. **Efetividade do inseticida Pyriproxyfen no controle de *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: Culicidae) em condição de laboratório e semi-campo**. Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Naturais - Biologia, Universidade Federal do Maranhão, 2020.

FUNASA. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD). **Fundação Nacional da Saúde**, Brasília, 2002.

HARBURGUER, L.; ZERBA, E. & LICASTRO, S. Sublethal Effect of Pyriproxyfen Released From a Fumigant Formulation on Fecundity, Fertility, and Ovicidal Action in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 2, p. 436-443, 2014.

HUSTEDT, J. C. *et al.* Use of pyriproxyfen in control of *Aedes* mosquitoes: A systematic review. **PLOS Neglected Tropical Diseases** v. 14, n. 6., 2020.

LINSS, J. G. B. *et al.* Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 25, 2014. ISSN 1756-3305.

LIU, N. Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. **Annual review of entomology**, v. 60, p. 537-559, 2015. ISSN 0066-4170.

LORENZ, C.; VIRGINIO, F. & BREVIGLIERI, E. L. O Fantástico Mundo dos Mosquitos. **Águas de São Pedro: Livro novo**, v.1 p.142, 2018.
McGREGOR, B. L. & CONNELLY, R. C. A Review of the Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Continental United States, **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 1, p. 10–25, 2021.

MOREIRA, Israel Martins. Avaliação da suscetibilidade de populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) do Distrito Federal à inseticidas e seu controle de qualidade químico. 2018.

MOURA, L.; NADAI, B. L.; CORBI, J.J. What does not kill it does not always make it stronger: High temperatures in pyriproxyfen treatments produce *Aedes aegypti* adults with reduced longevity and smaller females. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 23, n. 4, p. 529-535, 2020. ISSN 12268615

NKYA, T. E. et al. Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: facts, evidences and prospects. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 43, n. 4, p. 407-416, 2013. ISSN 0965-1748.

PESSOA, L. F. F. Uso de pyriproxyfen em novas abordagens para controle de formas jovens e adultas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). 2018. 72 f. Dissertação (mestrado 40 em Biociências e Biotecnologia em Saúde). Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2018.

POUPARDIN, R. et al. Do pollutants affect insecticide-driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics. **Aquatic toxicology**, v. 114, p. 49-57, 2012. ISSN 0166-445X.

RIGBY, L. M.; JOHNSON, B. J.; PEATEY, C. L.; BEEBE, N. W. & DEVINE, G. J. The impacte of sublethal permethrin exposure on susceptible and resistant genotypes of the urban disease vector *Aedes aegypti*. **Pest Manag Sci**. v. 7, n. 77, p. 3450-3457, 2021.

RÍOS, Natalia; STASHENKO, Elena E.; DUQUE, Jonny E. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, p. 307-311, 2017.

SANCHÉZ, E. & LIRIA, J. DIMORFISMO SEXUAL ALAR EN *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) DE VENEZUELA. **Acta Biologica Venezuelica**, v. 37, n. 2, p. 163-170, 2017.

VIDAL, P. O. & SUEDESK, L. Comparison of wing geometry data and genetic data for assessing the population structure of *Aedes aegypti*. **Infect Genet Evol**, v. 12, n. 3, p. 591-596, 2011.

WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. 2013. ISSN 924150515X.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, abr/jun. 2016LUCK, H. **Liderança em gestão escolar**. 4. ed. Petrópolis: Vozes, 2016.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Clóris e Jefferson, e aos meus familiares, Nilza, Clóvis Júnior e Josemara, por todo o suporte e apoio durante não só esse percurso, mas toda a minha vida.

Ao meu professor orientador, Walter Fabrício Silva Martins, que me concedeu a oportunidade de estágio por três anos e me auxiliou através de todas as dificuldades.

Agradeço a confiança, parceria, conselhos e orientações não só na minha formação acadêmica, mas como pessoa.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, Eli, Davy e Vitória, por todo o auxílio na construção e desenvolvimento deste trabalho, sem o apoio deles não fluiria tão bem.

Aos meus amigos e colegas de curso, em especial Wendell, por toda paciência e companheirismo durante todos os momentos.

À Universidade Estadual da Paraíba e aos professores do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da UEPB, que contribuíram para a minha formação enquanto profissional.

Sou extremamente grata por tudo. Obrigada!

