



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
INOVAÇÃO E TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

ANÁLISE DO BIOPOTENCIAL LARVICIDA DE PLANTAS
DA AMAZÔNIA OCIDENTAL CONTRA *Aedes aegypti*

ELLEN CAROLINE NOBRE SANTOS

RIO BRANCO, AC
08/2020

ELLEN CAROLINE NOBRE SANTOS

**ANÁLISE DO BIOPOTENCIAL LARVICIDA DE PLANTAS
DA AMAZÔNIA OCIDENTAL CONTRA *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Ciências, Inovação e Tecnologia**.

Orientador: Dr. EMMERSON CORRÊA BRASIL DA COSTA

Coorientador: Dr. RICARDO DA COSTA ROCHA

RIO BRANCO, AC
08/2020

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

S237a Santos, Ellen Caroline Nobre, 1995 -
Análise do biopotencial larvívora de plantas da Amazônia Ocidental contra
Aedes aegypti / Ellen Caroline Nobre Santos; Orientador: Dr. Emmerçon Corrêa
Brasil da Costa e Coorientador: Dr. Ricardo da Costa Rocha. -2020.
106 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-
graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia. Rio Branco,
2020.

Inclui referências bibliográficas, anexos e apêndices.

1. Insetívora. 2. Metabólitos secundários. 3. Plantas medicinais. I. Costa,
Emmerçon Corrêa Brasil da. (Orientador). II. Rocha, Ricardo da Costa (Co-
orientadora). III. Título.

CDD: 509

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E
TECNOLOGIA PARA A AMAZÔNIA – CITA

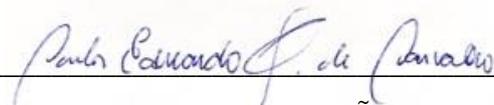
ANÁLISE DO BIOPOTENCIAL LARVICIDA DE
PLANTAS DA AMAZÔNIA OCIDENTAL CONTRA *Aedes*
aegypti

ELLEN CAROLINE NOBRE SANTOS

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 21 de agosto de 2020.



DR. EMMERSON CORRÊA BRASIL DA COSTA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
(Orientador)



DR. CARLOS EDUARDO GARÇÃO DE CARVALHO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
(Membro externo)



DR. WAGNER JESUS PINTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
(Membro externo)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela concedida graça para realização deste trabalho. Também agradeço a minha família, principalmente aos meus pais, Gilvane da Silva Nobre Santos e Antônio Marcos da Silva Santos, pelo infinito apoio nessa jornada de pesquisa. Agradeço a todos que contribuíram para pesquisa “Análise do Biopotencial Larvicida de Plantas da Amazônia Ocidental Contra *Aedes aegypti*”, especialmente ao Orientador Dr. Emmerson Corrêa Brasil da Costa, pelas orientações e conhecimentos fornecidos.

Estendo os agradecimentos aos integrantes do Laboratório de Citogenética e Genética Molecular (CCBN), Laboratório Intermediário de Fitoterápicos (CCSD) e Laboratório de Química, por ajudar nas coletas de plantas e ovos de *A. aegypti*, obtenção dos extratos: Genilda de Andrade Barbosa, Marcos Antônio de Oliveira Silva, Polinar Bandeira Rufino, Jorgiane Freitas Araújo e Pedro Júnior Pinheiro Mourão, principalmente os alunos de iniciação científica Andson Amorim Lima e Taynara Lopes de Araújo, por estarem diretamente envolvidos nesta pesquisa.

Também agradeço ao Coorientador Dr. Ricardo da Costa Rocha, Secretaria Municipal da Saúde, principalmente ao Janis Lunier de Souza, por auxiliarem nos conhecimentos relacionados a espécie *A. aegypti*.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Aedes aegypti é o transmissor de diversas arboviroses, e uma das formas de diminuir as incidências dessas doenças é por meio de controle do vetor com aplicação de inseticidas sintéticos. Entretanto, *A. aegypti* adquiriu resistência à diversos inseticidas e, para contornar esse problema, pesquisas buscam identificar plantas com atividade larvicidas por apresentarem diversos compostos ativos. O objetivo desse estudo foi identificar plantas da Amazônia Ocidental que possuam potencial larvicida contra *A. aegypti*. Foram obtidos extratos etanólicos de 17 plantas para realização do bioensaio larvicida. Em seguida, 100 ppm de cada extrato etanólico foram testados em 20 larvas de *A. aegypti* no terceiro estágio, cuja taxa de mortalidade foi analisada até 48 horas. Extratos promissores foram submetidos a partição líquido-líquido para semi-isolamento do princípio ativo, testagem larvicida e prospecção fitoquímica. Nossos resultados demonstraram que os extratos etanólicos de *Protium heptaphyllum* e *Fridericia chica* apresentaram taxa de mortalidade de 70% e 36%, respectivamente, sendo que os particionados de diclorometano da *P. heptaphyllum* e aquoso da *F. chica*, em 300 ppm, apresentaram taxas de mortalidade com 60% e 53,3%, respectivamente. A prospecção fitoquímica desses particionados indicou a presença de taninos condensados, catequinas e o grupo das flavonas, flavonóis e xantonas. Portanto, as partições de diclorometano de *P. heptaphyllum* e aquosa de *F. chica* podem ser possíveis controles alternativos de *A. aegypti*, por apresentarem diversas classes de metabólitos descritos na literatura como agente larvicida. Além disso, esse é o primeiro relato da atividade larvicida de *F. chica* contra *A. aegypti*.

Palavras-chave: Inseticida. Metabólitos Secundários. Plantas Medicinais.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a vector of several arboviruses. One means of reducing the incidence of these diseases are the application of synthetic insecticides to vector control. However, *A. aegypti* has acquired resistance to several insecticides. To overcome this problem, research seeking to identify plants with larvicidal activity to various compounds. The aim of this study was to identify plants of the Western Amazon that have larvicidal activity against *A. aegypti*. Ethanolic extracts were obtained from 17 plants in order to conduct larvicidal bioassays. The initial screen was performed with 100 ppm of each ethanolic extract using 20 *A. aegypti* larvae in the third stage of development, and the mortality rate of the larvae was analyzed for up to 48 hours. The most promising extracts were submitted to liquid-liquid partition for the semi-isolation of the active principle, larvicidal assay and phytochemical prospecting. Our results showed that ethanolic extracts of *Protium heptaphyllum* and *Fridericia chica* presented mortality rates of 70% and 36%, respectively. In the other hand, in 300 ppm of the dichloromethane partition of *P. heptaphyllum* and aqueous partition of *F. chica*, presented mortality rates of 60% and 53.3%, respectively. In the phytochemical prospecting test of these two partitions indicated the presence of condensed tannins, catechins and the group of flavones, flavonols and xanones. Therefore, dichloromethane partition of *P. heptaphyllum* and aqueous partition of *F. chica* may provide possible alternative controls of *A. aegypti*, as well as present several classes of metabolites described as larvicidal agents. This is the first report of the larvicidal activity of *F. chica* against *A. aegypti*.

Keywords: Insecticide. Secondary metabolites. Medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Ciclo Biológico de <i>Aedes aegypti</i>	14
Figura 2	Número de casos prováveis de dengue no Brasil segundo o Ministério da Saúde entre 2015 a 2020	15
Figura 3	Número de casos prováveis de chikungunya no Brasil segundo o Ministério da Saúde entre 2015 a 2020	18
Figura 4	Estrutura do isopreno	26
Figura 5	Exemplos de compostos fenólicos	27
Figura 6	Exemplos de alcaloides	29
Figura 7	Bairros de Rio Branco contemplados para a realizadas as coletas de ovos de <i>A. aegypti</i>	33
Figura 8	Ovitrapas e gaiolas para criação dos mosquitos <i>A. aegypti</i>	35
Figura 9	Fases de desenvolvimento de <i>Aedes aegypti</i> em laboratório	41
Figura 10	Identificação de <i>A. aegypti</i>	42
Figura 11	Atividade larvicida de extratos brutos etanólicos contra <i>A. aegypti</i> em 100 ppm	48
Figura 12	Bioensaio dos particionados de <i>Fridericia chica</i> e <i>Protium heptaphyllum</i> contra <i>A. aegypti</i> em 300 ppm	52
Figura 13	Análise fitoquímica das partições de <i>Fridericia chica</i> e <i>Protium heptaphyllum</i>	54

LISTA DE QUADROS E TABELAS

		Pág.
Quadro 1	Plantas amazônicas com atividade inseticida contra <i>A. aegypti</i>	30
Quadro 2	Plantas coletadas para avaliação inseticida contra <i>A. aegypti</i>	36
Quadro 3	Indicação de cores para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas	38
Quadro 4	Indicação de cores para antocianinas, antocianidinas e flavonoides	39
Tabela 1	Coleta de ovos de <i>A. aegypti</i> nos bairros de Rio Branco, Acre	40
Tabela 2	Coleta de ovos de <i>A. aegypti</i> de acordo com estação do Acre	44
Tabela 3	Rendimentos dos extratos	45
Tabela 4	Teste de toxicidade de DMSO em larvas de <i>A. aegypti</i>	47
Quadro 5	Plantas que apresentaram atividade larvicida em pesquisas científicas	49
Tabela 5	Rendimentos das partições de <i>F. chica</i> e <i>P. heptaphyllum</i>	51
Quadro 6	Prospecção fitoquímica de <i>Fridericia chica</i> e <i>Protium heptaphyllum</i>	53

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
Bti	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israelenses</i>
CHIKV	Vírus da Chikungunya
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DEN	Dengue
DEN-1	Dengue tipo 1
DEN-2	Dengue tipo 2
DEN-3	Dengue tipo 3
DEN-4	Dengue tipo 4
DMAPP	Isômero de difosfato de dimetilalilo
DMSO	Dimetilsulfóxido
E	Proteína do envelope viral
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
GABA	Ácido γ -aminoburítico
HCL	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDO	Índice de densidade de ovos
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IGRs	Reguladores de crescimento de insetos
IPO	Índice de positividade das ovitrampas
IPP	Isopentenil difosfato
kdr	Knockdown
mg/mL	Miligrama por microlitros
NaOH	Hidróxido de sódio
ppm	Partes por milhões
Rdl	<i>Resistência à dieldrina</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reverse transcription polimerase chain reaction
YFV	Vírus da febre amarela

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i>	13
2.2 ARBOVIROSES	14
2.2.1 Dengue	14
2.2.2 Chikungunya	17
2.2.3 Febre Amarela	19
2.3 CONTROLE E RESISTENCIA DE <i>Aedes aegypti</i>	20
2.4 ALTERNATIVAS DE CONTROLE DE <i>A. aegypti</i>	23
2.5 PLANTAS E ATIVIDADES INSETICIDAS	25
2.5.1 Terpenos	26
2.5.2 Fenólicos	27
2.5.3 Alcaloides	28
2.6 PLANTAS DA REGIÃO AMAZÔNIA E ATIVIDADE INSETICIDA	29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1 COLETA DE OVOS DO MOSQUITO	33
3.1.1 Local de coleta	33
3.1.2 Instalação das armadilhas	34
3.2 OBTENÇÃO DE LARVA DE <i>A. aegypti</i>	35
3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS	36
3.4 BIOENSAIO LARVICIDA	37
3.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA	38
3.5.1 Taninos e fenóis	38
3.5.2 Leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas	38
3.5.3 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 OVOS COLETADOS DE <i>A. aegypti</i>	40
4.2 RENDIMENTOS EXTRATOS BRUTOS	45
4.3 TESTE LARVICIDA SELETIVO	46
4.4 AVALIAÇÃO DOS PARTICIONADOS CONTRA LARVAS DE <i>A. aegypti</i> E A PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE <i>F. chica</i> e <i>P. heptaphyllum</i>	50
5. CONCLUSÃO.....	56

6. REFERÊNCIAS.....	58
APÊNDICE A – ZIKA VÍRUS: DOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS AO TRATAMENTO	83
APÊNDICE B - INFESTAÇÃO DE <i>Aedes aegypti</i> (DIPTERA: CULICIDAE) EM DIFERENTES BAIRROS DE RIO BRANCO, ACRE	103
ANEXO A – Formulário de localizações de ovitrampas e contabilização de ovos de <i>A. Aegypti</i>	106

1 INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é um problema de saúde pública, por ser um vetor de diversas arboviroses, tais como dengue, chikungunya e zika, que podem ocasionar sequelas graves para os infectados, como microcefalias, síndrome de Guillain-Barré, reumatismo inflamatório crônico pós-chikungunya e entre outros (CAO-LORMEAU et al., 2016; KANTOR, 2016; SCHULER-FACCINI et al., 2016; MARTINEZ; GARZA; CUELLAR-BARBOZA, 2019). Para prevenir as incidências dessas infecções, o principal modo é o controle do vetor por meio de aplicação de inseticidas sintéticos, principalmente os piretroides, organofosforados e carbamatos (FARIAS et al., 2010; DAVID et al., 2013).

No entanto, os inseticidas podem causar graves problemas para a saúde do homem, como diabetes mellitus, alterações hormonais e funcional dos neutrófilos (QUEIROZ; FERNANDES; VALADARES, 1999; HAN et al., 2008; VELMURUGAN et al., 2017). Além disso, *Aedes aegypti* adquiriu mecanismos de resistência contra os inseticidas sintéticos, tais como: modificação no sítio alvo, alteração metabólica, comportamental e penetração reduzida, que possibilitaram seleção de espécies por pressão seletiva (BRAGA; VALLE, 2007; DAVID et al., 2013; LIU, 2015; BELLINATO et al., 2016; SMITH; KASAI; SCOTT, 2016).

Para solucionar a ineficácia de inseticidas sintéticos, estudos têm demonstrado atividades inseticidas das plantas contra *A. aegypti*, pois seus metabólitos secundários conferem características inseticidas, são biodegradáveis, seletivo, e o surgimento de resistência é demorado por serem constituídos de diversos princípios ativos, sendo assim, uma alternativa de controle de *A. aegypti* (BALANDRIN et al., 1985; KAUFMAN; MANN; BUTLER, 2010; RATTAN, 2010; GHOSH; CHOWDHURY; CHANDRA, 2012; GARCEZ et al., 2013).

Dessa forma, a presente pesquisa buscou uma alternativa de controlar o vetor, e consequentemente amenizar a frequência das arboviroses, através de aplicações de controles químicos provenientes de substâncias de origem vegetal, que podem ter um alto potencial larvicida biodegradável, combatendo na fase larvária e interceptando a transmissão do vírus que ocorre na fase adulta.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MOSQUITO *Aedes aegypti*

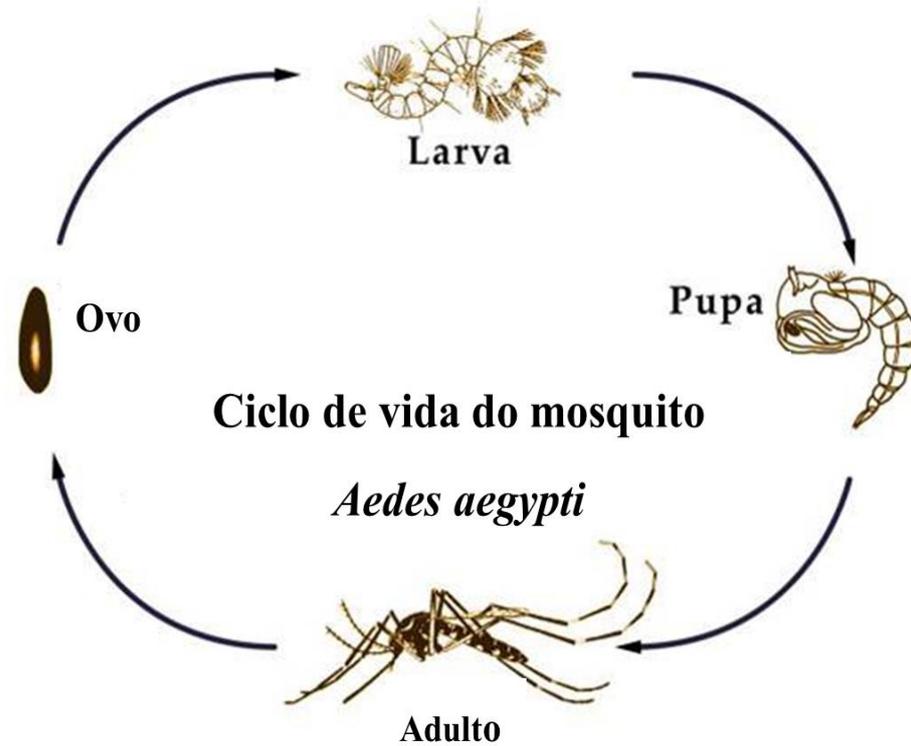
Aedes aegypti, da família Culicidae, é encontrado em países tropicais e subtropicais, como Brasil, México, Cuba, costa do sudeste dos Estados Unidos, África central, sudeste da Ásia e leste da Oceania (DING et al., 2018). Habitando em áreas urbanas, sendo a prevalência relacionada às péssimas condições socioeconômicas e deficiência sanitária, pode ser encontrado nas áreas florestais, desenvolvendo em recipientes com água doce parada ou em plantas (FORATTINI, 2002; MORRISON et al., 2008; BARBOSA et al., 2009; DAVID; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA; FREITAS, 2009; WHO, 2009; VAREJÃO et al., 2005; DAVID et al., 2013; CARVALHO; MOREIRA, 2017).

O ciclo biológico do mosquito é composto por quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e mosquito adulto (Figura 1) (FORATTINI, 2002; CARVALHO; MOREIRA, 2017). Na primeira fase, os ovos são elípticos e durante a oviposição apresenta-se de cor pálida e minutos depois, de cor escura (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). O local onde ocorre as oviposições, na maioria das vezes são em superfícies úmidas dos reservatórios, na qual pode ocorrer sua eclosão após ter o contato com água (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002). No entanto, os ovos são resistentes ao meio seco, sobrevivendo durante meses após a oviposição (VALDEZ; SIBONA; CONDAT, 2018).

Na segunda fase, a larva possui quatro estágios denominados de L1, L2, L3 e L4, que são aquáticos, e seu corpo é dividido em cabeça, tórax e abdômen (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; URDANETA-MARQUES; FAILLOUX, 2011). A sua alimentação não é seletiva pelo tipo de alimento, mas de acordo com o tamanho da partícula (FORATTINI, 2002). Esta característica é uma das formas para controlar o vetor através da ingestão dos inseticidas (FORATTINI, 1962; FORATTINI, 2002).

A pupa é a fase em que ocorre a transformação da larva de último estágio (quarto estágio) em mosquito adulto, saindo da etapa aquática para terrestre (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FORATTINI, 2002). Na última fase, encontra-se o mosquito adulto, onde somente a fêmea é apta como vetor de arboviroses, pois necessita do sangue para o desenvolvimento e maturação dos seus ovos, ao contrário do macho, que sua nutrição é proveniente somente de alimentos doces (REIS et al., 2018).

Figura 1. Ciclo Biológico de *Aedes aegypti*



Fonte: CDC/ Dr. Harry D. Pratt, 1966 (modificado).

2.2 ARBOVIROSES

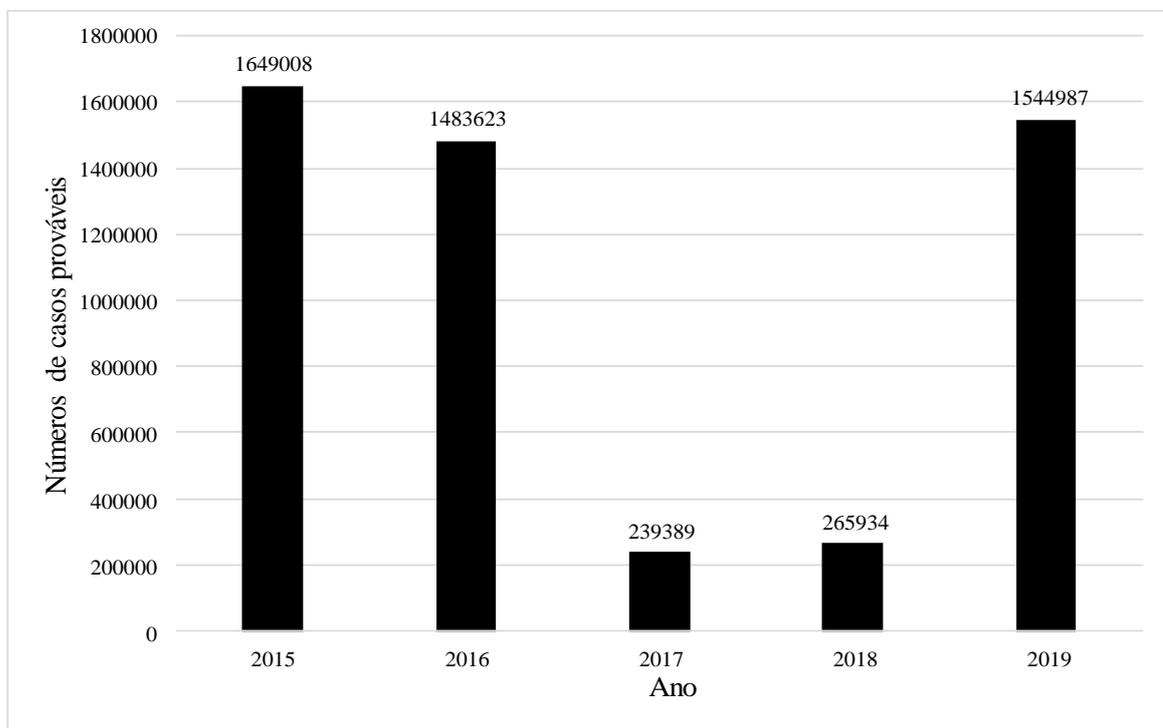
A. aegypti é um dos transmissores de arboviroses que têm ocasionado apreensão para a saúde pública, na qual mosquitos infectados por vírus transmitem as doenças através de sua picada para o vertebrado, sendo o principal vetor das doenças como a febre amarela, dengue, chikungunya e zika (**Apêndice A**) (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; FURTADO et al., 2005; KANTOR, 2016). Estas doenças no Brasil, são notificadas compulsoriamente, de acordo com a Portaria de Consolidação nº. 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017).

2.2.1 Dengue

A dengue é a arbovirose que mais acomete os seres humanos (MURHEKAR et al., 2019; SALDA et al., 2005). Anualmente, estima-se que 50 milhões de pessoas são infectadas pelo vírus da dengue, sendo que os países mais afetados são da região sudeste da Ásia e a região

pacífico ocidental (WHO, 2009). No entanto, o Brasil se destaca como o país que mais apresenta casos de dengue na América, com 98,5% das notificações entre o período de 2001 a 2007 (WHO, 2009). Dados recentes mostram altos índices de casos prováveis de dengue no Brasil, exceto nos anos de 2017 e 2018, em que houve diminuição dos casos de dengue no país devido ao maior controle do vetor (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; ARAÚJO, 2018; BRASIL, 2018; CAMPOS et al., 2018; BRASIL, 2019a, BRASIL, 2020), como mostra a figura 2.

Figura 2. Número de casos prováveis de dengue no Brasil segundo o Ministério da Saúde entre 2015 a 2020



Fonte: BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; BRASIL, 2018; BRASIL, 2019a.; BRASIL, 2020

A dengue é ocasionada por quatro sorotipos de vírus da família Flaviviridae, do gênero Flavivírus, na qual são formados por fitas simples de RNA de polaridade positiva, denominados de dengue tipo 1 (DEN-1), tipo 2 (DEN-2), tipo 3 (DEN-3) e tipo 4 (DEN-4) (SIMMONS et al., 2012; WHO, 2009; SALDA et al, 2005; WILDER-SMITH et al. 2019).

O RNA do vírus codifica três proteínas estruturais: a proteína C do capsídeo, responsável por envolver o material genético do vírus; a proteína prM da pré-membrana tem como função coordenar a entrada do vírus em células hospedeiras; e a proteína do envelope (E) está relacionada na ligação dos receptores celulares para a entrada do vírus na célula e a neutralização dos anticorpos (WHO, 2009; HIGUERA; RAMÍREZ, 2019; WILDER-SMITH et al., 2019;). Além das proteínas estruturais, o RNA também codifica sete proteínas não

estruturais: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5, as quais possuem a função de replicar o RNA viral no hospedeiro (WILDER-SMITH et al., 2019; WHO, 2009).

O vírus dengue infecta primeiro as células dendríticas e dispersa em outras células, por meio de ligações nos receptores da superfície celular e se interioriza na célula pela via dependente de clatrina (CHEN, 2014; LIM, 2019). No citosol, o RNA do vírus é liberado para início da replicação do RNA viral e posterior síntese de novas proteínas virais para montagem e maturação no complexo de Golgi de novos vírus infectantes (CHATEL-CHAIX; BARTENSCHLAGER, 2014; LIM, 2019).

Após a transmissão do vírus para o homem, a doença poderá ficar em incubação entre 4 a 10 dias, podendo apresentar os sintomas, como febre alta, eritema cutâneo, dor no corpo, mialgia, dor de cabeça, náusea, trombocitopenia ou ausência de sintomatologia (RIGAU-PÉREZ, 1998; SALDA et al., 2005; GREEN; ROTHMAN, 2006; WHO, 2009; LIM, 2019). Porém, a doença poderá atingir a sua forma mais grave, chamada de dengue hemorrágica e síndrome do choque da dengue, que consiste de extravasamento do plasma sanguíneo, trombocitopenia, derrame pleural e choque (KALAYANAROOJ et al., 1997; HALSTEAD, 2007; LIM et al., 2013; GHOSH; DAR, 2015).

Pouco se sabe sobre a evolução da dengue até alcançar o estágio mais grave da doença, mas, muitos presumem a causa devido as respostas imunológicas dos indivíduos infectados (JOHN; LIN; PERNG, 2015). Entretanto, além dos fatores imunológicos do hospedeiro para o agravamento da doença, também está relacionado o sorotipo do vírus e a série de infecção do vírus, visto que esse agravamento está relacionado a infecção secundária do vírus da dengue com o sorotipo diferente da infecção primária (GREEN; ROTHMAN, 2006; GHOSH; DAR, 2015).

Para diagnosticar a infecção pela dengue, tem sido utilizado o teste rápido para detectar a proteína não estrutural do vírus (proteína NS1), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) na detecção dos anticorpos IgG e IgM, e RT-PCR (reverse transcription polimerase chain reaction) para identificação do RNA do vírus da dengue no soro (LAN et al., 2008; LIM et al., 2013; NHI et al, 2016). Entretanto, a dificuldade maior é a busca de atendimento médico no início da infecção (LIM, 2019).

Há um grande anseio para encontrar a vacina para dengue, contudo, o maior desafio é encontrar vacina efetiva nos quatro sorotipos do vírus (GHOSH; DAR, 2015; ROSE; SEKHAR, 2019). Em 2015, foi licenciada a primeira vacina tetravalente para o vírus da dengue (CYD-TDV ou Dengvaxia®, da empresa Sanofi Pasteur), sendo o seu grupo alvo indivíduos da faixa etária de 9 a 45 anos e residentes em áreas endêmicas (WHO, 2016; VANNICE et al., 2018).

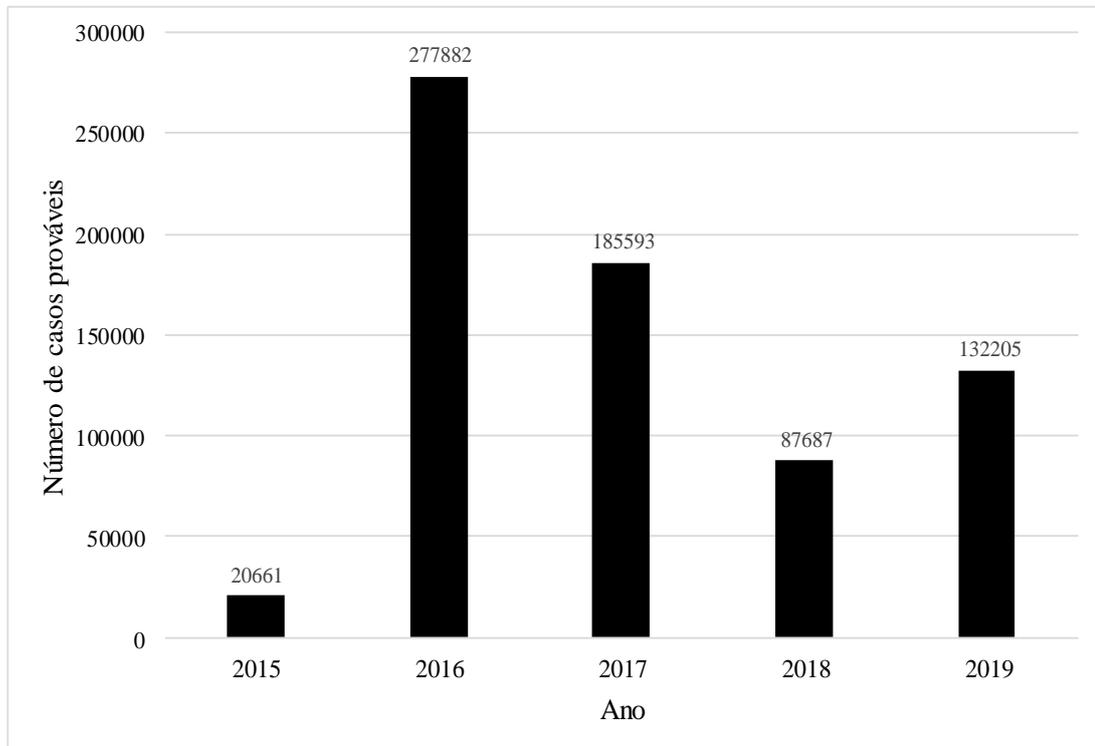
Porém, em 2017, a empresa divulgou um comunicado de imprensa sobre as avaliações quanto a eficácia da vacina, e observou que os pacientes vacinados que nunca tinham entrado em contato com o vírus DEN, após se infectarem, poderiam evoluir para o estágio mais grave da doença (SAFONI, 2017).

2.2.2 Chikungunya

O vírus chikungunya foi descrito pela primeira vez em 1952, em epidemia acometida no território de Makonde Plateau, no sul da República Unida de Tanzânia (ROBINSON, 1955). A doença acometia os países africanos e asiáticos, porém, em 2005, após o vírus sofrer mutação, surgiu outro vetor para a transmissão da doença, além do *A. aegypti*, o *A. albopictus*, ocasionando a disseminação da doença em outros territórios, como Europa, América e na região das ilhas do Oceano Índico (DEBBA et al., 2016; KAKARLA et al., 2019; MATEO; ROURE, 2019).

No Brasil, os primeiros casos de infecção de chikungunya surgiram em 2014 na cidade de Oiapoque, no Amapá, seguido de outros estados que apresentaram a presença do vírus (DONALÍSIO; FREITAS, 2015). A Figura 3 demonstra os índices de casos prováveis no Brasil segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; BRASIL, 2018, BRASIL, 2019a; BRASIL, 2020).

Figura 3. Número de casos prováveis de chikungunya no Brasil segundo o Ministério da Saúde entre 2015 a 2020



Fonte: BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; BRASIL 2018; BRASIL, 2019a; BRASIL, 2020

O vírus da chikungunya (CHIKV) pertence da família *Tagaviridae*, do gênero *alfavírus* (MATEO; ROURE, 2019). Sua molécula de RNA de fita simples codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4) e três proteínas estruturais (C, E1 e E2) (CAGLIOTI et al., 2013). Sendo que as proteínas não estruturais possuem atividades na replicação viral (DEEBA et al., 2016). A proteína estrutural E1 é a facilitadora da entrada do vírus, enquanto a E2 realiza a ligação do vírus com a célula (DEEBA et al., 2016).

Após o repasto sanguíneo por meio dos capilares subcutâneos, o CHIKV invade a célula por meio de endossomo e inicia a replicação do seu material genético nos fibroblastos e macrófagos (HORCADA; DÍAZ-CALDERÓN; GARRIDO, 2015; DEEBA et al., 2016). Em seguida, são transportados para os linfonodos, onde infecta outras células da região (HORCADA; DÍAZ-CALDERÓN; GARRIDO, 2015). Com isso, o vírus alcança o sistema circulatório, afetando os órgãos e tecidos do organismo, tais como fígado, articulações, tecido muscular, gânglios linfáticos e cérebro (HORCADA; DÍAZ-CALDERÓN; GARRIDO, 2015; DEEBA et al., 2016).

Ao terminar o período de incubação de 2 a 4 dias, os sintomas da doença começam a surgir com febre alta e dores nas articulações, erupção cutânea, mialgia e astenia, causando no

indivíduo a incapacidade nas suas atividades (HORCADA; DÍAZ-CALDERÓN; GARRIDO, 2015; MATEO; ROURE, 2019). Esses sintomas têm a duração de 7 a 10 dias, e alguns indivíduos, após esse período, estabelecem a fase crônica com dores nas articulações que podem estender por vários meses a anos, denominada de reumatismo inflamatório crônico pós-chikungunya, que também levam a dores musculares e tenossinovite (KAKARLA, 2019; MARTINEZ; GARZA; CUELLAR-BARBOZA, 2019).

Ainda podem ocorrer problemas neurológicos principalmente em crianças e idosos, apresentando comportamentos anormais, como insônia, alucinação, desorientação e agressividade, encefalite, mielopatia, mieloneuropatia, encefalopatias e neuropatia, como a síndrome de Guillain-Barré (CHANDAK et al., 2009; CROSBY et al., 2016; BRIZZI, 2017; SINGH; JAIN, 2017). Há relatos na literatura científica de transmissão vertical do vírus CHIKV, como o estudo realizado em El Salvador, das 91 gestantes, 53 recém-nascidos foram diagnosticados com a doença, apresentando sintomas nas primeiras semanas de nascido (TORRES et al., 2016).

O diagnóstico, além de ser pelas sintomatologias, é também por meio RT-PCR e testes imunológicos de IgM e IgG, imunofluorescência indireta e teste de ELISA (HORCADA; DÍAZ-CALDERÓN; GARRIDO, 2015; MARTINEZ; GARZA; CUELLAR-BARBOZA, 2019). Não há tratamento específico, mas são utilizados medicamentos para amenizar os sintomas como os analgésicos e anti-inflamatórios (DEEBA et al., 2016).

2.2.3 Febre amarela

A febre amarela é uma doença de caráter hemorrágico pertencente à família Flaviviridae, e que possui elevada taxa de mortalidade de aproximadamente de 50%, com maior prevalência em países sul-americanos e africanos (MONATH; VASCONCELOS, 2015; BARRET, 2018; DOUAM; PLOSS, 2018; DOMPIERI et al., 2019).

Em 1990 houve a descoberta de que o mosquito é vetor da febre amarela, sendo que os principais vetores são dos gêneros *Haemagogus*, *Sabethes* e *Aedes* (BURDMANN, 2019; REED et al., 1990). A manutenção do vírus no ambiente se dá por meio de transmissão viral entre mosquito e animal, sendo que pode infectar o homem por intermédio de um mosquito silvestre infectado (febre amarela selvagem) ou pela relação entre humanos em que o intermediário é mosquito, como *A. aegypti* (febre amarela urbana) (MONATH; VASCONCELOS, 2015).

A estrutura do vírus é constituída por RNA de fita simples polaridade positiva, possui um tamanho de aproximadamente de 11 kb (VASCONCELOS, 2003). Assim como o vírus da dengue, o vírus da febre amarela (YFV) codifica três proteínas estruturais e sete proteínas não estruturais, sendo essa última relacionada a resposta imune do hospedeiro e replicação viral (HIGUERA; RAMÍREZ, 2019).

Ao penetrar o vírus no hospedeiro por meio da picada do mosquito, o vírus se replica nas células dos gânglios linfáticos e se dissemina em outros órgãos, como no fígado, baço e medula óssea (MONATH, 2005; BEASLEY; MCAULEY; BENTE, 2015). E após o período de incubação de 3 a 6 dias, começa apresentar a sintomatologia da primeira fase da doença, chamado de período infeccioso, manifestando febre alta, mal-estar, cefaleia, mialgia e artralgia (VASCONCELOS, 2018). Em seguida, surge o período de remissão, com ausência de sintomatologia (MONATH, 2001).

Após o restabelecimento da saúde, alguns indivíduos podem apresentar a terceira fase, o período toxêmico, manifestando febre alta, calafrios, dores de cabeça e muscular intensificadas, podendo levar a morte (VASCONCELOS, 2003; VIEIRA et al., 2019). E nessa fase ocorre os transtornos renais, hepáticos e cardiovasculares, hemorragias e icterícia (MONATH, 2001; BEASLEY; MCAULEY; BENTE, 2015; VIEIRA et al., 2019). Na literatura, já foram relatadas manifestações clínicas ocasionadas por YFV como maculopatia idiopática aguda unilateral (DOMPIERI et al., 2019), bradicardia (PAIXÃO et al., 2019), retinopatia (BRANDÃO-DE-REZENDE et al., 2019).

O seu diagnóstico é por meio de métodos sorológicos, como a ELISA na captura dos anticorpos IgM específicos, inibição de hemaglutinação e neutralização, além disso, é utilizado o método molecular, como a utilização de RT-PCR em tempo real (MONATH, 2001; VASCONCELOS, 2002; VASCONCELOS, 2003; RIBEIRO; ANTUNES, 2009; NUNES et al., 2011). Em relação ao tratamento, não há medicamentos específicos, mas há para tratar as manifestações clínicas, como os analgésicos (VASCONCELOS, 2003). Para prevenir as incidências de febre amarela, está disponível a vacina 17D, que possui duas sublinhagens: 17DD e a 17D-204 (LOPES et al., 2019). O Brasil dispõe da vacina 17DD (VASCONCELOS, 2003).

2. 3 CONTROLE E RESISTÊNCIA DE *Aedes aegypti*

O controle de *A. aegypti* é um dos meios de prevenção de ocorrências de arboviroses (VONTAS et al., 2012; KASAI et al., 2014). A maneira mais fácil de controlar é impossibilitar

acesso aos criadouros, mas há certas dificuldades, como a atuação da comunidade e encontrar os locais de criação das fases imaturas que estejam disseminados no ambiente (MORRISON et al., 2008; VONTAS et al., 2012). Com isso, o principal modo de controlar o vetor é a utilização de controles químicos, por meio de atividade larvicida e adulticidas (RODRÍGUEZ; BISSET; FERNÁNDEZ, 2007; CARVALHO; MOREIRA, 2017).

Na década de 1940, houve a descoberta do dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), um organoclorado, cujo modo de ação no vetor é por meio dos canais de sódio dependentes de voltagem, permitindo a entrada de íons sódio, assim, ocasionando o desequilíbrio iônico e impossibilitando a transmissão regular dos impulsos nervosos (ROZENDAAL; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997; BRAGA; VALLE, 2007). Esse composto foi eficaz no combate aos vetores, pois sua atividade inseticida permanecia por muito tempo no ambiente e possuía um custo reduzido (ROZENDAAL; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997). Entretanto, surgiram casos de resistência do mosquito a esse inseticida e relatos de indivíduos que foram expostos ao DDT que apresentavam alterações nos níveis de testosterona, elevação de números de natimortos, alterações a nível de sistema nervoso e risco de desenvolvimento de câncer no fígado (ABEDI; DUFFY; BROWN, 1963; JOODE et al., 2001; COCCO et al., 2005; MCGLYNN et al., 2006; BORNMAN et al., 2018).

Em substituição ao DDT, outros inseticidas passaram a ser adotados, como os organofosforados, carbamatos e piretroides (POLSON et al., 2011). Os organofosforados e carbamatos inibem a acetilcolinesterase (AChE), ocasionando abundância de acetilcolina nas sinapses, resultando na paralisia e morte do inseto (BRAGA; VALLE, 2007; GARCEZ et al., 2013). O que diferencia entre as duas classes de inseticidas são que (a) enzima AChE carbamilada por carbamato se regenera e a enzima fosforilada por organofosforado não se regenera em alguns casos; (b) a inibição da AChE por intermédio de organofosforado é realizada por reações químicas, em que a região da hidroxila da serina do sitio ativo da AChE é fosforilada, enquanto para o carbamato, ocorre a carbamilação da serina hidroxila do sitio da AChE (FUKUTO, 1990).

Os piretroides são inseticidas sintéticos semelhantes à substância piretrina, oriundas das plantas chamadas de crisântemos (*Chrysanthemum cinerariaefolium* e *C. coccineum*), onde agem nos canais de sódio dependente de voltagem, semelhante à atuação do DDT (BRAGA; VALLE, 2007; DAVIES et al., 2007; METCALF; HOROWITZ, 2014; SMITH; KASAI; SCOTT, 2016). Sendo assim, os piretroides possuem uma atividade rápida e alta eficácia (CHEN et al., 2019).

Estudos mostram que surgiram casos de resistências nas três classes de inseticidas, o que se tornou preocupante, pois para que ocorra o controle é necessário maiores aplicações de inseticidas, ocorrendo, assim, seleção de espécies, ou seja, a morte dos susceptíveis e sobrevivência dos resistentes (GEORGHIOU et al., 1987; DONALÍSIO, GLASSER, 2002; BRAGA et al., 2004; CARVALHO et al., 2004; CUNHA et al., 2005; SÁ et al., 2019).

A resistência está relacionada com a variação genética existente, pois as primeiras populações que resistem a um determinado controle químico são heterozigotos, de modo que mantendo aplicação desse inseticida, surgem os homozigotos a partir da seleção seletiva, manifestando o gene de resistência (OMS, 1992; POWELL, 2018). Estudos já detectaram diversas mutações que expressam os mecanismos de resistência, e esses mecanismos são diversos, como os de resistência metabólica, alterações nos locais alvos, resistência comportamental e penetração reduzida (HEMINGWAY et al., 2004; DAVID et al., 2013; FAUCON et al., 2015; SATOTO et al., 2019).

A resistência metabólica está relacionada com atividade enzimática de desintoxicação, que metaboliza e promove alteração conformacional no inseticida (HEMINGWAY et al., 2004; FAUCON et al., 2015). Entretanto, essa resistência pode ocorrer em ações diferentes, devido à mutação genética da enzima, ocasionando o aumento da atividade enzimática ou mutação na região reguladora não codificadora, que acarreta o aumento da produção da enzima que metaboliza o inseticida (MARCOMBE et al., 2009). A principal enzima referente essa resistência é a monooxigenases dependentes do citocromo P450, mas há outras enzimas como carboxilesterases, atuando contra os inseticidas carbamatos e organofosforados, e glutathione-S-transferases (GSTs) que atuam contra os organofosforados, piretroides e organoclorados (RIVERO et al., 2010; DAVID et al., 2013).

Alterações nos locais alvos estão associadas às mutações nos canais de sódio, conhecida como *knockdown* (kdr), que é a insensibilidade do sistema nervoso aos inseticidas piretroides e organoclorados, em que estudos observaram alterações nos códons dos canais de sódio de *A. aegypti*, como no códon 1016 (substituição de valina para isoleucina) e no códon 1534 (substituição de fenilalanina para cisteína) levando a formar resistência aos piretroides e DTT (SODERLUND; KNIPPLE, 2003; HEMINGWAY et al., 2004; DONNELLY et al., 2009; HARRIS; RAJATILEKA; RANSON, 2010).

Além dos canais de sódio, as alterações nos locais alvos também estão relacionadas ao ácido γ -aminoburítico (GABA) e a acetilcolinesterase (AChE), porém, esta última não foi detectada em *A. aegypti* (SEVERSON et al., 1997; HEMINGWAY et al., 2004; MARCOMBE et al., 2009; GRISALES et al., 2013). A mutação do receptor GABA está envolvida com a

substituição de aminoácidos na região de *resistência à dieldrina (Rdl)*, como revela um estudo que detectou no códon 885 a substituição de alanina por serina em *A. aegypti* resistentes ao ciclodieno, um organoclorado (THOMPSON; SHOTKOSKI; FFRENCH-CONSTANT, 1993). Esse inseticida (dielidrina) tem atuação de impedir o receptor GABA de permitir a permeabilidade de íons de cloreto nos neurônios, ocasionando a hiperexcitação do inseto (NARAHASHI et al., 1992; BRAGA; VALLE, 2007).

O mecanismo de penetração reduzida do inseticida é motivado pela alteração nas cutículas do inseto (NKYA et al., 2013; KASAI et al., 2014). Como demonstrado em *A. aegypti* tolerante ao neonicotinoide, onde detectou aumento de transcrição de genes que codificam as proteínas de cutículas nas larvas e mosquitos adultos, indicando o aumento da espessura da cutícula como ferramenta de defesa, promovendo, dessa forma, a diminuição da entrada do inseticida no organismo do inseto (MAMIDALA; JONES; MITTAPALLI, 2011; RIAZ et al., 2013).

Já o mecanismo de resistência comportamental se refere à aptidão do mosquito sobreviver a determinado inseticida (MAMIDALA; JONES; MITTAPALLI, 2011). No entanto, esse artifício possui duas técnicas: por irritação ou por repelência, sendo que a irritação é a evasão do mosquito após aplicação de inseticida em uma determinada área; e a repelência é o afastamento do mosquito de uma área tratada com o inseticida, mas não havendo contato do mosquito com o inseticida (ROMERO; POTTER; HAYNES, 2009). Em *A. aegypti* já foi demonstrado o mecanismo de irritação com o deltametrina, um piretróide (KONGMEE et al., 2004).

2. 4 ALTERNATIVAS DE CONTROLE DE *A. aegypti*

Devido à resistência aos inseticidas, foram adotados controles alternativos, como a utilização de microrganismos e reguladores de crescimento de insetos (IGRs) (FONTOURA et al., 2012). Um exemplo de microrganismos utilizado como controle de vetores como *A. aegypti*, é o *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelenses (Bti)*, uma bactéria gram-positiva encontrada no solo, que possui atividade larvicida a partir da ingestão de proteínas chamadas de δ -endotoxinas, que danificam o intestino médio da larva (FRIDERICI, 1995; ESTRUCH et al., 1996; LIMA; MELO; VALLE, 2005; LANCEY, 2007; FONTOURA et al., 2012). Essas proteínas estão localizadas nas inclusões parasporais, onde são produzidas na esporulação da bactéria (FRIDERICI, 1995; LANCEY, 2007). Uma vez que possui dois grupos de toxinas: *Cry*, que são cristais de toxinas (*Cry4Aa*, *Cry4Ba*, *Cry11Aa*) e *Cyt* que são toxinas de cristais

(Cyt1Aa) que possuem atividade citolítica e hemolítica, ambas agem em sinergismo para destruição do intestino larval (LANCEY, 2007; KANG et al., 2017). Entretanto, as atividades das toxinas Cry se distinguem de acordo com o gênero do vetor, por exemplo, Cry11Aa e Cry4Aa são potencialmente tóxicos em *Aedes* e *Culex*, e a toxina CryBa em *Anopheles* (KANG et al., 2017).

Após a ingestão das inclusões parasporais, as proteínas são solubilizadas no pH básico do intestino médio, onde são clivadas por proteases e ativadas, que se ligam às microvilosidades do intestino médio e penetram na membrana superficial para elaborar poros inespecíficos, para que ocorra o desequilíbrio osmótico, assim, danificando as células e, conseqüentemente, ocorrendo a morte larvária (SCHNEPF et al., 1998; BELTRÃO; SILVA-FILHA, 2007; LANCEY, 2007; VACHON; LAPRADE; SCHWARTZ, 2012).

Exceto no Brasil, até hoje o *Bti* é utilizado para o controle de *A. aegypti*, possuindo diversas formulações e efeito duradouro (ARMENGOL et al., 2006; VIANA-MEDEIROS et al., 2017; MOLTINI-CONCLOIS et al., 2018). Como demonstrado por um estudo que observou a eficácia do VectoBac WG, uma formulação de *Bti*, durante semanas após o tratamento em recipientes secos e posteriormente submetidos ao armazenamento de água, que verificou que a taxa de mortalidade era de 100% até a sexta semana (RITCHIE; RAPLEY; BENJAMIN, 2010). Outro estudo que analisou duas formulações de *Bti*, Aquabac G e Vectobac G, verificou que a Aquabac G registrava até 45 dias uma taxa de mortalidade de aproximadamente de 95%, e a Vectobac G registrou até 101 dias a taxa de mortalidade mais de 95%, ambas em ambientes laboratoriais; mas ao comparar no ambiente em ar livre, observou uma diferença significativa da eficácia de ambas formulações, em recipientes de amianto, plástico, cimento e ferro (LIMA; MELO; VALLE, 2005).

Além da durabilidade no ambiente, o *Bti* não é nocivo aos humanos e a dificuldade do surgimento de resistência, em razão dos dois grupos de toxinas com distintos modos de ação (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003; PARIS; DAVID; DESPRES, 2011). Entretanto, uma desvantagem de *Bti* é a exposição a luz solar, onde a sua atividade larvicida é reduzida (MELO-SANTOS et al., 2001).

Já os reguladores de crescimento de insetos impedem o desenvolvimento do mosquito, como a metamorfose e a não reprodução devido à esterilidade ou anomalias no sistema reprodutor (FOURNET et al., 1995; TUNAZ; UYGUN, 2004). Esses reguladores são divididos em dois grupos quanto ao seu modo de ação: inibidores da síntese de quitina e os análogos de hormônios juvenis (GRAF, 1993; TUNAZ; UYGUN, 2004).

Os inibidores da síntese de quitina, que são compostos por benzoylurea, diflubenzuron, novaluron e triflumuron, atuam impedindo a síntese de quitina, assim produzem uma quitina delicada, causando o impedimento na emergência dos adultos e deformação estrutural (MARTINS et al., 2008; SECCACINI et al., 2008; BELINATO et al., 2009; FARNESI et al., 2012). No entanto, há risco de desenvolver resistência cruzada com inseticidas que foram usados para o controle de *A. aegypti* (FONTOURA et al., 2012).

Os análogos de hormônios juvenis atuam como antagonistas na fase larvária e mosquito adulto, impedindo a metamorfose e a vitologênese, que são compostos por metopreno, fenoxicarbe e pyriproxifen (MONDAL; PARWEEN, 2000; NORIEGA, 2004; SIHUINCHA et al., 2005; SECCACINI et al., 2008). Entretanto, já foi observado em larvas de *A. aegypti* uma leve resistência em metopreno e moderado em pyriproxifen (SU et al., 2019).

2.5 PLANTAS E ATIVIDADES INSETICIDAS

Desde a Idade Antiga, as plantas são utilizadas como inseticidas, mas a partir da década de 40 foram substituídos por inseticidas sintéticos (JÚNIOR, 2003). Nos últimos anos, os inseticidas de origem vegetal vêm se destacando como alternativa de controle de insetos na agricultura, devido aos impactos negativos no ambiente e na saúde dos seres vivos ocasionados pelos inseticidas sintéticos (RATTAN, 2010). Estudos têm sido intensificados na busca de plantas que possam controlar a proliferação de *A. aegypti*, pois têm apresentado especificidade para os vetores alvos e baixa toxicidade para espécies não alvos, além de serem biodegradáveis e não tóxicas para o homem e mamíferos (SIMAS et al., 2004; CAVALCANTI et al., 2004; KAUFMAN; MANN; BUTLER, 2010; TORRES; GARBO; WALDE, 2014; MUNUSAMY et al., 2016; SPINDOLA et al., 2016).

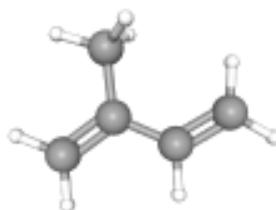
As plantas são constituídas de metabólitos, que são divididas em duas classes: metabólitos primários e metabólitos secundários (BOURGAUD et al., 2001; LUO, 2015; FANG; FERNIE; LUO, 2019). Os metabólitos primários participam dos processos de divisão celular, respiração, armazenamento e reprodução, que englobam os carboidratos, ácidos nucleicos, lipídios e proteínas (BOURGAUD et al., 2001; GARCEZ et al., 2013). Já os metabólitos secundários são originados a partir dos metabólitos primários, cuja a função é de proteção contra herbívoros e micro-organismos patogênicos, adaptação aos estresses e atração de polinizadores (BALANDRIN et al., 1985; ZAYNAB et al., 2018; TAKSHAK; AGRAWAL, 2019), sendo classificado em três grandes grupos: terpenos, fenólicos e alcaloides

(BOURGAUD et al., 2001; ZAYNAB et al., 2018). São esses metabólicos responsáveis pela atividade inseticida da planta (GHOSH; CHOWDHURY; CHANDRA, 2012).

2.5.1 Terpenos

Os terpenos são a maior classe dos metabólitos secundários, possuindo cerca de 40 mil compostos (DUDAREVA; PICHERSKY; GERSHENZON, 2004; KABERA et al, 2014; THOLL, 2015). São constituídos por união de isopreno (2-metil-buta-1,3-dieno), como mostra a Figura 4, que é derivado do isopentenil difosfato (IPP) e do isômero de difosfato de dimetilalilo (DMAPP) (McGARVEY; CROTEAU, 1995; THEIS; LERDAU, 2003; CHENG et al, 2007). São classificados de acordo com número de isopreno na molécula, por exemplo, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos que contêm 2, 3 e 4 isoprenos na sua estrutura, respectivamente (DUDAREVA; PICHERSKY; GERSHENZON, 2004; FELIPE; BICAS, 2017). Apresentam variadas funções, tais como hormonais, pigmentos fotossintéticos, transportadores de elétrons, reguladores das montagens de polissacarídeos, integrante da membrana celular e atração de polinizadores (McGARVEY; CROTEAU, 1995; THEIS; LERDAU, 2003).

Figura 4. Estrutura do isopreno



Fonte: National Center for Biotechnology Information, 2020a.

Estudos têm demonstrado atividade dos terpenos como agente larvicida contra *A. aegypti*, como foi observada a atividade larvicida do gênero *Guarea*, que são mais ativas em espécies que contêm maior quantidade de sesquiterpenos, especialmente os cariofílios (MAGALHÃES et al., 2010). Outros estudos apontam que o sesquiterpeno E-nerolidol possui atividade larvicida contra *Aedes aegypti*, como atestado nas espécies *Myroxylon balsamum* e *Braccharis* sp. (CHANTRAINE et al., 1998; SIMAS et al., 2004).

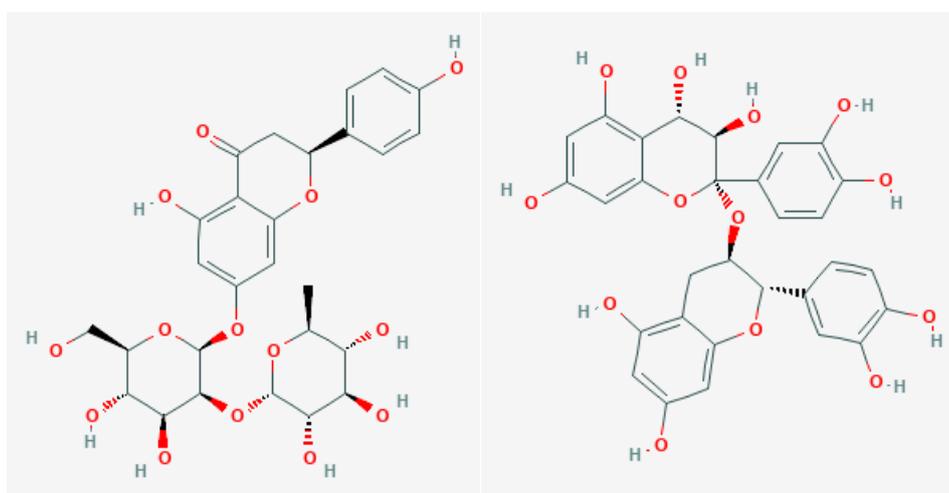
Existem outros terpenos que apresentaram, na literatura científica, atividade larvicida contra *A. aegypti*, como o limoneno, β -mirceno, 3-careno, terpinoleno e γ -terpineno extraído de *Clausena excavata*; trans-nerolidol, geraniol, citronelol, geranil formato de *Pelargonium* sp. e saponinas de *Balanites aegyptiaca* (CHAPAGAIN; SAHARAN; WIESMAN, 2008; CHENG et al, 2009; ALI et al, 2013).

Um exemplo de terpeno que é utilizado como inseticidas é a piretrina, como citado anteriormente, é extraído da espécie *Chrysanthemum cinerariaefolium*, cujo o mecanismo de ação é nos canais de sódio dependente de voltagem (ISMAN, 2006; GUPTA; ENSLEY, 2007). Entretanto, para contornar uma desvantagem das piretrinas, a rápida degradação do composto na luz solar, foram produzidos os piretroides sintéticos (ISMAN, 2006; GUPTA; ENSLEY, 2007).

2.5.2 Fenólicos

Os compostos fenólicos possuem diversas estruturas, mas contêm anéis aromáticos hidroxilados (Figura 5) (KABERA et al., 2014). São originados de diversas vias, por exemplo, pela condensação de acetato e de modificação dos anéis aromáticos dos aminoácidos (BENNETT; WALLSGROVE, 1994). A sua função é de proteção contra herbívoros e patógenos, está envolvido na pigmentação, crescimento e reprodução da planta (APPEL, 1993; BRAVO, 1998).

Figura 5. Exemplos de compostos fenólicos



Naringin

Protoantocianidinas

Fonte: National Center for Biotechnology Information, 2020b;

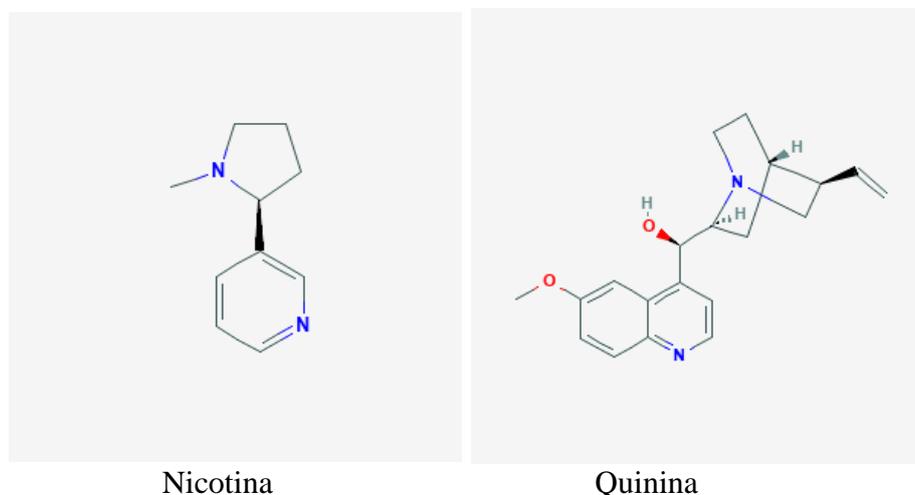
National Center for Biotechnology Information, 2020c.

Pesquisas têm sido realizadas utilizando os compostos fenólicos para observar a sua atividade larvicida, como mostra o estudo realizado com ácidos fenólicos extraídos de *Chaetomorpha antennina*, onde revelou ser um potente larvicida contra *Aedes aegypti* (VIMALADEVI et al., 2012). A investigação dos compostos fenólicos que compõe o óleo essencial de *Anacardium occidentale* certificou que o ácido anacárdico, cardanol e cardol apresentou atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (CARVALHO et al, 2019). Enquanto o eugenol, extraído do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* e *Myroxylon balsamum*, manifestou ação contra as larvas de *A. aegypti* (SIMAS et al, 2004; BARBOSA et al., 2012).

O mesmo ocorreu com p-hidroxibenzoato de metila extraída de *Vitex trifolia* e catequinas de *Leucas aspera* (KANNATHASAN; SENTHILKUMAR; VENKATESALU, 2011; ELUMALAI et al, 2016). E nesta última, foi analisada, além da taxa de mortalidade, a morfologia e comportamento larvário, onde apresentou agitação e seguida lentidão após a exposição do composto, lesões no intestino médio e deterioração das papilas anais e cuticular (ELUMALAI et al, 2016).

2.5.3 Alcaloides

Os alcaloides verdadeiros são constituídos de átomos de nitrogênio em anel heterocíclico, na qual os aminoácidos são seu precursor (Figura 6), diferenciando dos pseudoalcaloides e protoalcaloides, que são compostos por átomos de nitrogênio, porém, não é derivado dos aminoácidos e o anel heterocíclico não contém átomo de nitrogênio, respectivamente (FESTER, 2010; DEBNATH et al., 2018). A função dos alcaloides nas plantas é de defesa contra os insetos, micro-organismos e herbívoros (LEVIN, 1976; BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000). Contudo, nem todas as plantas produzem esse grupo de metabólito, somente entre 20 a 30% das plantas produzem (FESTER, 2010).

Figura 6. Exemplos de alcaloides

Fonte: National Center for Biotechnology Information, 2020d;
 National Center for Biotechnology Information, 2020e.

Por muito tempo os alcaloides foram utilizados como inseticidas, por exemplo, a nicotina, anabasina, veratrina e rianodina (BALANDRIN et al., 1985; JÚNIOR et al., 2003, PAVELA, 2016). Entretanto, a sua aplicação é cautelosa e de baixa dosagem, pois é danoso para os vertebrados (RATTAN, 2010). Pesquisas já identificaram outros alcaloides com potencial inseticida de *A. aegypti*, como piperonaline extraído de *Piper longum*, dicentrina de *Ocotea velloziana*, piperina, pipericide, retrofractamide A, guineensina, pelitorine de *Piper nigrum* (PARK et al., 2002; YANG et al., 2002; GARCEZ et al., 2009; GULZAR et al., 2013).

2.6 PLANTAS DA REGIÃO AMAZÔNIA E ATIVIDADE INSETICIDA

Amazônia comporta a maior floresta tropical do mundo, abrangendo a bacia amazônica, com área de aproximadamente de 6.900.000 km², sendo que 3.800.000 km² está no território brasileiro (BRASIL, 2019b). Estima-se que na Amazônia brasileira possua 10.674 espécies de plantas, apresentando uma rica biodiversidade, onde estudos têm sido realizados na busca de plantas que possuam propriedades inseticidas (SOUTO et al., 2012; SANTOS et al., 2016; CARDOSO et al., 2017).

Uma breve revisão sistemática, utilizando as palavras-chaves como *Amazon*, *Plant* e *Aedes aegypti* nos bancos de dados PubMed, Science Direct, Scielo, Wiley Online Library e Google Acadêmico, resultou 27 estudos na região amazônica com 96 plantas. Dessas, 42 espécies apresentaram atividade inseticida contra *A. aegypti*, sendo a família e espécie mais explorada foram a Piperaceae e *Piper aducum*, respectivamente, como disposto no quadro 1.

Isso evidencia que poucos estudos exploraram a rica biodiversidade das plantas amazônicas contra *A. aegypti*.

O Brasil foi o país em que mais ocorreram estudos para o controle de *A. aegypti* utilizando material botânico, somente dois países, Peru e Equador, realizaram estudos verificando atividade inseticida das plantas estudadas de acordo com essa revisão sistemática. Isso corrobora com fato de que o Brasil é o país da América que mais investiga atividade inseticida de plantas contra diversos artrópodes que transmitem doenças (LEYVA et al., 2017).

Quadro 1. Plantas amazônicas com atividade inseticida contra *A. aegypti*

Espécie	Família	Extrato/óleo essencial	Referência
<i>Siparuna guianensis</i>	Siparunaceae	Óleo essencial das folhas	FERREIRA et al., 2019 FERREIRA et al., 2019
<i>Eugenia piauhiensis</i> <i>Pisium myrsinites</i> <i>Sioaruna camporum</i> <i>Lippia gracilis</i>	Myrtaceae Myrtaceae Siparunaceae Verbenaceae	Óleo essencial das folhas	DIAS et al., 2015
<i>Ocotea cymbarum</i>	Lauraceae	Burchellin extraído do caule por meio da fração hexânica	NARCISO et al., 2014
<i>Piper aducum</i>	Piperaceae	Óleo essencial das partes aéreas	ALMEIDA et al., 2009
<i>Acmella oleracea</i>	Asteraceae	Extrato hidraetanólico das folhas	ARAÚJO et al., 2018
<i>Cassia Leiandra</i>	Fabaceae	Proteínas oriundas de sementes	DIAS et al., 2017
<i>Copaifera multijuga</i>	Fabaceae	Extrato etanólico das folhas e casca, e óleo essencial do óleo-resina	TRINDADE et al., 2013
<i>Lippia origanoides</i>	Verbenaceae	Óleo essencial das folhas	MAR et al., 2018
<i>Piper guadichaudianum</i> <i>P. humaytanum</i> <i>P. permucronatum</i> <i>P. hostmanianum</i>	Piperaceae Piperaceae Piperaceae Piperaceae	Óleo essencial das folhas	MORAIS et al., 2007
<i>Tapura amazonica</i> <i>Croton cajucara</i> <i>C. lanjouwensis</i> <i>Tachia grandiflora</i> <i>Piper aduncum</i> <i>P. tuberculatum</i> <i>Picrolemma sprucei</i> <i>Simaba polyphylla</i> <i>Simaba sp.</i>	Dichapetalaceae Euphorbiaceae Euphorbiaceae Gentianaceae Piperaceae Piperaceae Simaroubaceae Simaroubaceae Simaroubaceae	Extratos com diferentes partes anatômicas das plantas e solventes	POHLIT et al., 2004

Quadro 1. (cont.) Plantas amazônicas com atividade inseticida contra *A. aegypti*

Espécie	Família	Extrato/óleo essencial	Referência
<i>Pothomorphe peltata</i>	Piperaceae	Extrato metanólico e suas frações de clorofórmio e etanol de folhas	MONGELLI; COUSSIO; CICCIA, 2002
<i>Copaifera reticulata</i>	Fabaceae	Óleo-resina	SILVA et al., 2007
<i>Piper aduncum</i> <i>P. arboreum</i> <i>P. marginatum</i>	Piperaceae Piperaceae Piperaceae	Óleo essencial das folhas	SANTANA et al., 2015
<i>Piper nigrum</i>	Piperaceae	Extrato etanólico e frações de hexano, acetato de etila, diclorometano e aquoso de fruta	SIMAS et al., 2007
<i>P. aduncum</i>	Piperaceae	Dillapiol extraído do óleo essencial das folhas	RAFAEL et al., 2008
<i>Astrocaryum aculleatum</i> <i>Oenocarpus bacaba</i> <i>Leopoldinia piassaba</i> <i>O. bataua</i> <i>Endopleura uchi</i>	Arecaceae Arecaceae Arecaceae Arecaceae Humiriaceae	Extrato hexânico, metanólico e frações de clorofórmio e acetato de etila da semente e polpa da fruta	HIDALGO et al., 2016
<i>Derris urucu</i>	Leguminosae	Extrato metanólico da raiz	GUSMÃO 2002
<i>P. aduncum</i>	Piperaceae	Dillapiol e seus derivados extraídos	PINTO et al., 2012
<i>Copaifera reticulata</i>	Fabaceae	Óleo-resina e suas frações hexânica e metanólico	OLIVEIRA et al., 2016
<i>Gutteria blepharophylla</i> <i>G. friesiana</i> <i>G. hispida</i>	Annonaceae Annonaceae Annonaceae	Óleo essencial das folhas	ACIOLE et al., 2011
<i>Eugenia caryophyllata</i>	Myrtaceae	Extrato aquoso e metanólico das flores	MEDEIROS et al., 2013
<i>Siparuna guianensis</i>	Siparunaceae	Óleo essencial das folhas, caules e frutos	AGUIAR et al., 2015
<i>Licaria puchury-major</i>	Lauraceae	Óleo essencial das sementes	AZEVEDO et al., 2018
<i>Ocimum campechianum</i> <i>Ocotea quixos</i> <i>P. aduncum</i>	Lamiaceae Lauraceae Piperaceae	Óleo essencial das partes aéreas	SCALVENZI et al., 2019
<i>Aniba duckei</i>	Lauraceae	Óleo essencial das folhas e galhos finos	TELES; FILHO; SOUZA, 2017
<i>A. duckei</i>	Lauraceae	Óleo essencial de galhos	SOUZA et al., 2007

Um estudo avaliando a atividade larvicida contra *A. aegypti* com 55 espécies de plantas localizadas no estado de Amazonas, detectou quatro plantas eficazes contra larvas de *A. aegypti*: *Tapura amazonica*, *Piper aduncum*, *P. tuberculatum* e *Simaba polyphylla* (POHLIT et al., 2004). Outra investigação utilizando o óleo essencial de plantas frequentes na Amazônia, detectou atividade larvicida de *Eugenia piauhiensis*, *Siparuna camporum*, *Lippia gracilis* e *Psidium myrsinites* (DIAS et al., 2015).

Algumas pesquisas já exploraram o efeito dos extratos de plantas nas larvas, como verificou um estudo com extrato metanólico da raiz de *Derris urucu*, onde observou danos no intestino médio larvário de *A. aegypti* (GUSMÃO et al., 2002). Todavia, algumas investigações identificaram princípios ativos larvicidas oriundas de plantas residentes na Amazônia, por exemplo, *Piper nigrum*, onde os princípios ativos larvicidas identificados foram a piperoleína-A e piperina (SIMAS et al., 2007); o extrato hidroetanólico das folhas de *Acmella oleracea*, cujo o principal componente do extrato foi o spilanthol (ARAÚJO et al., 2018b).

Devido aos relatos apresentados, sobretudo da dificuldade de controlar *A. aegypti* frente a diversos mecanismos de resistência, considerando ainda a diversidade vegetal presentes no bioma amazônico e a necessidade de ampliar a pesquisa na região, o presente trabalho buscou investigar espécies de plantas presentes na Amazônia Ocidental para avaliar a atividade larvicida contra *A. aegypti*, podendo ser uma alternativa de controlar o vetor e de modo a reduzir casos de arboviroses.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE OVOS DO MOSQUITO

3.1.1 Local de coleta

As coletas de ovos de *A. aegypti* foram realizadas no município de Rio Branco, Acre, em ambiente peridomiciliar nos bairros Loteamento Laélia Alcântara, Vila Betel, Loteamento Joaфра, Mocinha Magalhães, Alto Alegre, Rui Lino, Esperança e Universitário; e ambiente domiciliar na residência dos pesquisadores dessa pesquisa, localizados nos bairros Santa Helena, Santa Cecília e Morada do Sol (Figura 7).

O período de coleta dos ovos incidu entre os meses de junho de 2018 até maio de 2020, para realização dos bioensaios larvicidas que ocorreram no Laboratório Intermediário Fitoterápicos da Universidade Federal do Acre (UFAC).

Figura 7. Bairros de Rio Branco contemplados para a realizadas as coletas de ovos de *A. aegypti*

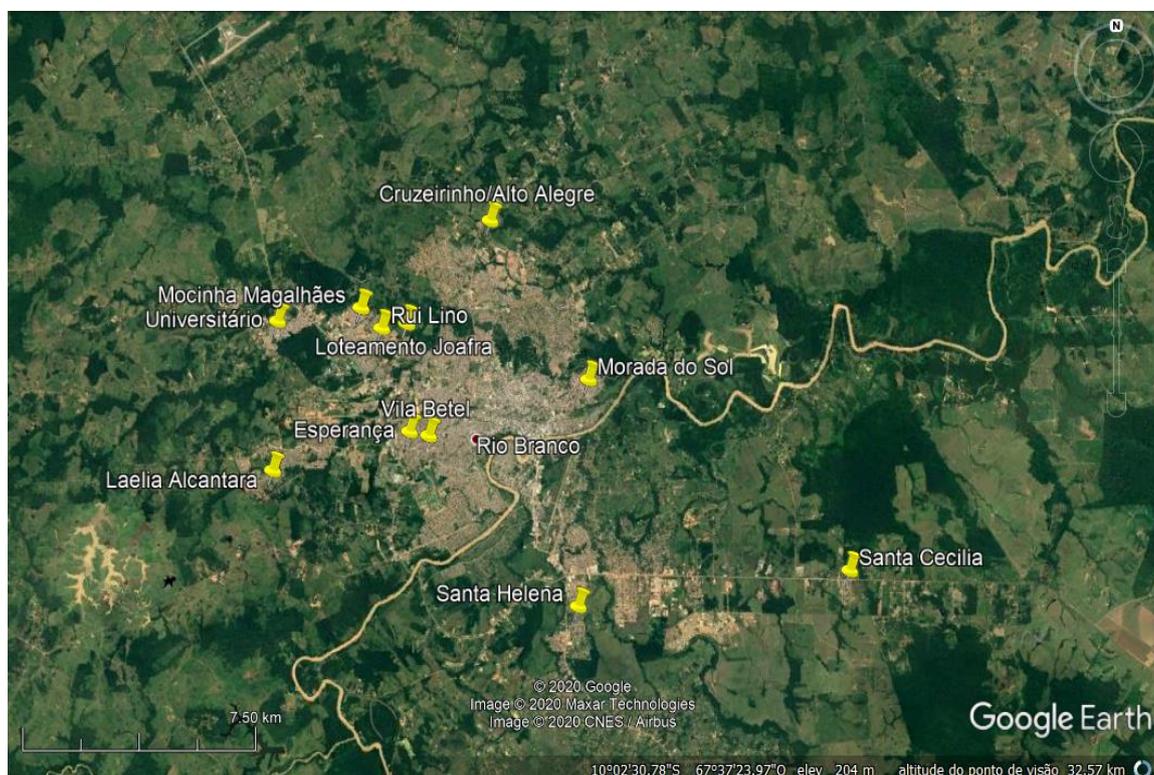


Imagem capturada pelo aplicativo Google Earth Pro.

3.1.2 Instalação das armadilhas

O método utilizado na coleta dos ovos foi por meio de ovitrampas, por ser um método sensível e de pouco custo na detecção de *A. aegypti* (BRASIL, 2001). As ovitrampas foram constituídas de vasos, medindo 8,5x14 cm², de cor preta distribuídos nos bairros selecionados na cidade de Rio Branco. Cada vaso tinha 420 ml de água, atrativo a base de levedo de cerveja em solução a 0,04%, duas palhetas de eucatex (2 x 12 cm²) fixadas verticalmente por cliques no interior do vaso e devidamente identificadas para as fêmeas realizarem suas oviposição (NUNES; TRINDADE; SOUTO, 2011; COSTA et al., 2018), como mostra a figura 8.A.

A instalação ocorreu da seguinte forma:

- a) Foram realizadas visitas nos locais de coleta e instaladas as ovitrampas próximas as residências;
- b) após 5 dias, houve retornos nos locais para retiradas e substituições das paletas, sempre tendo cuidado para não agitar a água, para impedir a eclosão dos ovos do mosquito;
- c) retirada das ovitrampas usando os mesmos métodos aplicados no item *b*, porém sem a substituição de paletas.

Após estas etapas, as paletas foram encaminhadas ao laboratório para identificação e contagem dos ovos de *A. aegypti* por meio de lupa estereoscópica. Em cada paleta foi contabilizado o número de ovos e registrado em formulário específico utilizado pela Secretaria Municipal de Saúde com adaptações (Anexo A). Após a contagem, foram verificados os índices relativos ao ovo: índice de positividade de ovitrampas (IPO) e índice de densidade de ovos (IDO), que verificam a porcentagem de ovitrampas positivas e a média de ovos por ovitrampa, respectivamente (GOMES, 1998). Sendo que a IPO se refere a infestação de mosquito em determinado local e o IDO, tempo de maior ou menor reprodução da fêmea (ZEIDLER, et al., 2008).

$$\text{IPO} = \frac{\text{Número de armadilhas positivas}}{\text{Número de armadilhas examinadas}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{IDO} = \frac{\text{Número de ovos}}{\text{Número de armadilhas positivas}} \dots\dots\dots(2)$$

3.2 OBTENÇÃO DE LARVA DE *A. aegypti*

Seguindo as recomendações de Consoli e Oliveira (1994), as paletas de ovos de *A. aegypti* foram colocados em recipiente de plástico contendo água para eclosão dos ovos e liberações das larvas. Posteriormente, as larvas foram analisadas utilizando chaves de identificação, cuja a cabeça da larva de *A. aegypti* possuísem cerdas 5-7 simples, no segmento VIII possui o espinho longo com dentes bilaterais e pécten característico no sifão (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; BRASIL, 2001), onde foi visualizado por meio de microscópio trinocular Olympus CX41RF, utilizando objetivas de 10X e 40X, registrado pelo programa de imagens ToupView.

Para a nutrição das larvas, foram adicionados aproximadamente 0,141g de ração de peixe Alcon Basic® e verificado diariamente quanto à evolução até o estágio de pupa, sendo transferidas para gaiolas, medindo 40x40 cm², para a criação de mosquitos, a fim de obter a geração F1 para realização do teste larvicida (Figura 8.B). A alimentação dos mosquitos foi por meio de algodão umedecido com açúcar a 10% e para alimentação das (mosquitos) fêmeas foi utilizado o alimentador artificial, denominado Glytube, utilizando o sangue venoso, coletado da própria pesquisadora (COSTA-DA-SILVA et al., 2013).

Figura 8. Ovitrapas e gaiolas para criação dos mosquitos *A. aegypti*



(A) Ovitampa e (B) gaiolas para criação dos mosquitos *A. aegypti*.

3.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS

Para a realização da coleta de plantas, foi obtido um comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico pelo SISBIO (Número 69618-1) e SISGEN (A505DA1) contendo as 26 plantas selecionadas, das quais somente 17 plantas foram coletadas, como mostra a Quadro 2.

Quadro 2. Plantas coletadas para avaliação de atividade larvicida contra *A. aegypti*

Nome científico	Família	Parte usada	Nome popular	Número de Identificação
<i>Alternanthera brasiliana</i>	Amaranthaceae	Folha	Penicilina	UFACPZ: 20740
<i>Kalanchoe pinnata</i>	Crassulaceae	Folha	Corama, Folha da Fortuna	UFACPZ: 20741
<i>Calycophyllum spruceanum</i>	Rubiaceae	Folha	Mulateiro	*
<i>Senna alata</i>	Fabaceae	Folha	Mangerioba	UFACPZ: 20739
<i>Euphorbia tirucalli</i>	Euphorbiaceae	Parte aérea	Avelós	UFACPZ20440
<i>Fridericia chica</i>	Bignoniaceae	Folha	Crajiru	UFACPZ: 20562
<i>Handroanthus impetiginosa</i>	Bignoniaceae	Folha	Ipê-roxo	*
<i>Handroanthus chrysanthus</i>	Bignoniaceae	Folha	Ipê Amarelo	*
<i>Jatropha gossypifolia</i>	Euphorbiaceae	Folha	Pinhão Roxo	UFACPZ20558
<i>Lippia alba</i>	Verbenaceae	Folha	Erva Cidreira	*
<i>Momordica charantia</i>	Cucurbitaceae	Folha	Melão São Caetano	UFACPZ20561
<i>Morinda citrifolia</i>	Rubiaceae	Folha	Noni	UFACPZ20557
<i>Plectranthus barbatus</i>	Lamiaceae	Folha	Boldo da Terra	UFACPZ20560
<i>Protium heptaphyllum</i>	Burseraceae	Folha	Breu	*
<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	Folha	Goiabeira	*
<i>Tagetes patula</i>	Asteraceae	Parte aérea	Cravo de Defunto	UFACPZ20445
<i>Uncaria tomentosa</i>	Rubiaceae	Folha	Unha de Gato	*

* exsicatas confeccionadas para registro de identificação

Para aquisição dos extratos etanólicos brutos as plantas foram coletadas, selecionadas, separadas e incubadas em estufa a 40°C para secagem, até obterem o aspecto quebradiço, para então serem trituradas em liquidificador, para obtenção de aproximadamente 50g de material (MACIEL; PINTO; JR. VIEGA, 2002; SILVA, 2004b).

O material triturado foi submetido à maceração exaustiva com etanol absoluto (99%) em temperatura ambiente, depois foi filtrado e levado ao evaporador rotativo da marca Quimis®, a temperatura de 55°C, para obtenção do extrato etanólico (MACIEL; PINTO; JR. VIEGA, 2002; MURUGAN et al., 2012). Esse procedimento de maceração exaustiva foi repetido cinco vezes em intervalos de 1 a 3 dias. Após esta etapa, o extrato obtido foi secado em estufa a 40°C e liofilizado (Liofilizador Enterprise II da marca Terroni®).

Os rendimentos dos extratos foram calculados por meio da fórmula (RODRIGUES et al., 2017):

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Peso do extrato seco (g)}}{\text{Peso das folhas secas ou frescas (g)}} \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

Os extratos foram transferidos para eppendorfs de 2 ml, onde foram armazenados 250 mg de extrato etanólicos.

O extrato etanólicos que apresentaram atividade larvicida foram submetidos a partição líquido-líquido com a solução inicial de 1:10 de metanol e água destilada, posteriormente particionado com os solventes hexano, diclorometano e acetato de etila.

3.4 BIOENSAIO LARVICIDA

O bioensaio larvicida seguiu as recomendações de *World Health Organization* (2005) e Consoli e Oliveira (1994) com adaptações. Primeiro, foi realizada a solubilização do extrato em dimetilsulfóxido (DMSO) e, em seguida, o extrato foi submetido ao homogeneizador durante 24 horas.

Inicialmente, foi realizada a triagem inicial, para identificação dos extratos etanólicos com biopotencial larvicida na concentração de 100 ppm. Uma vez que, cada extrato etanólico solubilizado em DMSO, possuía 10 ml de água destilada e 20 larvas de *A. aegypti* no terceiro estágio, para avaliação da letalidade em 24 e 48 horas. O bioensaio foi realizado em triplicada, sendo que cada teste era composto por controles negativos, contendo água destilada e DMSO, numa concentração final a 0,04%. E como controle positivo, o extrato etanólico de *T. patula*, reconhecido pelas suas atividades inseticidas contra *A. aegypti* (MÂCEDO et al., 1997; VIDAL et al., 2009). Estes testes ocorreram em temperatura entre 25 a 28°C.

Após a triagem inicial, as plantas com atividade larvicida acima de 30% foram particionadas para o semi-isolamento do princípio ativo. As partições foram solubilizadas em uma concentração de 125 mg/mL e foram submetidas a triagem em 300 ppm, em triplicatas, nas mesmas condições da triagem. No entanto, o controle negativo estava na concentração de 0,24% de DMSO.

As larvas foram analisadas em 24 e 48 horas para contagem e registro da taxa de mortalidade. Foram consideradas larvas mortas, as que não apresentaram movimentos quando estimuladas com pipeta de Pauster, inaptidão de estar na superfície da água ou quando

perturbada a água, não houve a reação de mergulho. Se durante o bioensaio, as larvas atingissem mais de 10% do estágio de pupa no teste controle, o teste era invalidado.

Os dados obtidos de todos os testes foram analisados pelo programa estatístico Sigma Plot versão 14.0, na qual foram realizados as médias e seus desvios padrões, assim como, a construção dos gráficos apresentados nesta pesquisa.

3.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A análise fitoquímica seguiu as recomendações descritas por Matos (2009) com adaptações para identificação das classes dos metabólitos, como descrito a seguir:

3.5.1 Taninos e fenóis

Em 5 μL dos particionados solubilizados, foram adicionados 195 μL de solução alcoólica de FeCl_3 (cloreto de ferro III) a 1%. Após a agitação, foi avaliado se ocorreu o aparecimento da coloração entre azul e vermelho, podendo indicar a presença de fenóis, e se o precipitado apresenta a cor verde ou azul, indicando a presença de taninos flobafênicos (taninos condensados ou taninos catéquicos) ou taninos hidrolisáveis (taninos pirogálicos), respectivamente.

3.5.2 Leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

Foram diluídos 10 μL dos particionados em duas soluções contendo 390 μL de HCl a 1 mol/L^{-1} (pH 3) e 390 μL de NaOH a 1 mol/L^{-1} (pH 11), em tubo de ensaios de vidro para posterior aquecimento na lâmpada de álcool, por aproximadamente 2 minutos, para verificação da mudança de cor e identificadas, conforme disposto no quadro 3. Para indicar o pH correspondente de cada reação, foi utilizado como controle o extrato de repolho roxo.

Quadro 3. Indicação de cores para leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas

Metabólitos	Meio ácido	Meio alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas (taninos catéquicos)	Pardo-amarelado	-
Flavanonas	-	Vermelho-laranja

Fonte: Matos (2009)

3.5.3 Antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Foram diluídos 5 μL dos particionados em duas soluções contendo 195 μL de HCl a 1 mol/L^{-1} (pH 3) e 195 μL de NaOH a 1 mol/L^{-1} (pH 11), para posterior verificação da mudança de cor e comparação conforme com o quadro 4:

Quadro 4. Indicação de cores para antocianinas, antocianidinas e flavonoides

Metabólitos	Cor	
	Meio ácido (pH 3)	Meio alcalino (pH 11)
Antocianinas e antocianidinas	Vermelho	Azul-púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	Amarelo
Cholconas e auronas	Vermelho	Vermelho-púrpura
Flavanonóis	-	Vermelho-laranja

Fonte: Matos (2009)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OVOS COLETADOS DE *A. aegypti*

Antes de iniciar os bioensaios larvicidas, foram realizadas instalações de armadilhas, as ovitrampas, em diferentes bairros de Rio Branco e em períodos distintos. As instalações ocorreram em áreas urbanas, próximos de residências, borracharias, oficinas mecânicas e de plantas ornamentais, assim podendo obter grande número de ovos de *A. aegypti* e possibilitando uma variabilidade genética da espécie (SUN et al., 2006).

Foram instaladas 337 ovitrampas com 17.692 ovos de *A. aegypti* coletados, cujo o índice de positividade de ovitrampas (IPO) geral registrou 64,39% (Tabela 1). Os bairros de Rio Branco analisados que obtiveram maiores índices de positividade foram: Loteamento Joaфра (92,85%), Laélia Alcantara (85,71%), Morada do Sol (83,72%), Mocinha Magalhães (67,85%) e Santa Helena (66,24%).

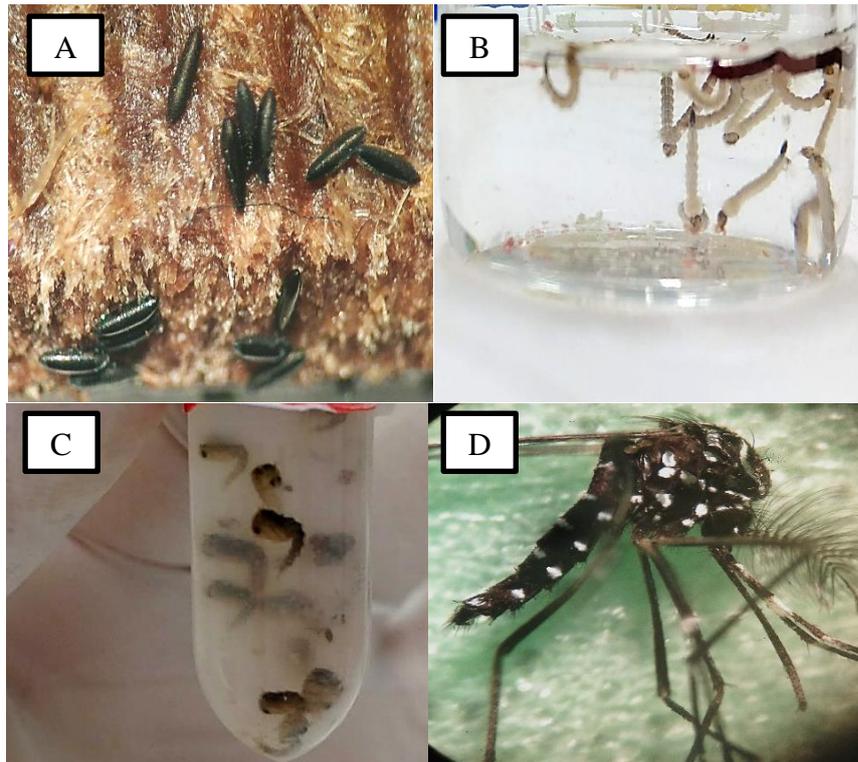
Tabela 1. Coleta de ovos de *A. aegypti* nos bairros de Rio Branco, Acre

Bairros	Total de ovitrampas instaladas	Total de ovitrampas positivas	Total de ovos coletados	IPO (%)
Esperança	11	3	279	27,27
Alto Alegre/Cruzeirinho	14	6	155	42,85
Laélia Alcantara	14	12	647	85,71
Loteamento Joaфра	14	13	1511	92,85
Mocinha Magalhães	28	19	2610	67,85
Morada do Sol	43	36	3085	83,72
Rui Lino	14	4	71	28,57
Santa Helena	157	104	7745	66,24
Universitário	14	6	622	42,85
Vila Betel	14	6	406	42,85
Santa Cecília	14	8	561	57,14
TOTAL	337	217	17692	64,39

Fonte: arquivo pessoal

Os ovos coletados foram postos em bacias contendo água para que ocorresse a sua eclosão e o desenvolvimento das suas fases evolutivas (larva, pupa e mosquito adulto) (Figura 9), a fim de identificar a espécie e criá-los em ambiente laboratorial.

Figura 9. Fases de desenvolvimento de *Aedes aegypti* em laboratório

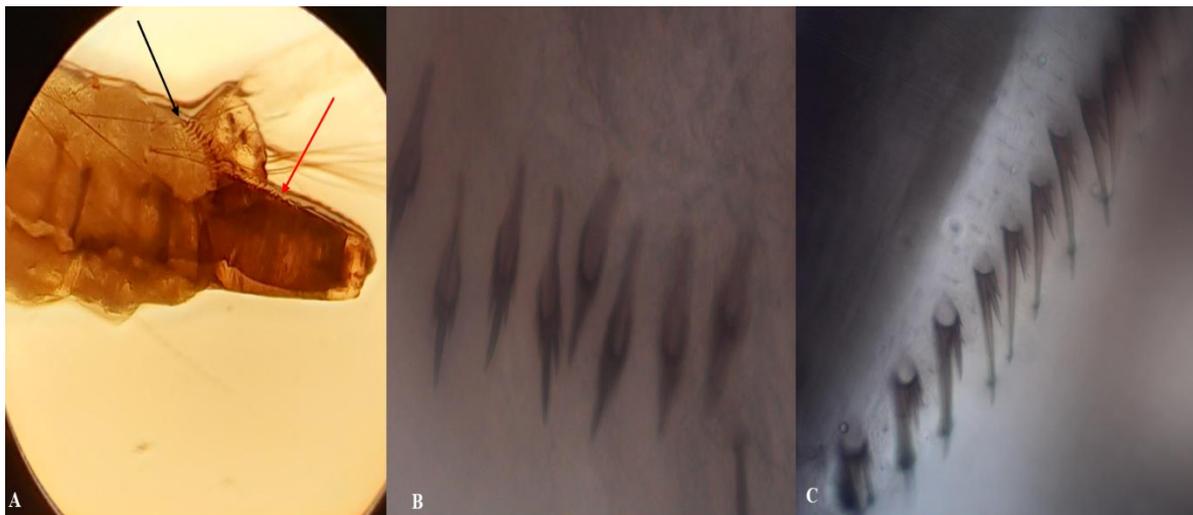


(A) Ovos. (B) Larvas no terceiro estágio. (C) Pupa. (D) Mosquito adulto

Figura capturada pelos membros desta pesquisa

Durante o processo de identificação, foram examinadas as larvas e identificadas como pertencentes a espécie *A. aegypti*, de acordo com as chaves de identificação das larvas (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; BRASIL, 2001) (Figura 10). É importante destacar que durante a identificação não foi detectado *A. albopictus*, vetor de arboviroses como dengue e chikungunya, (PAUPY et al., 2009). O que enfatiza o que está descrito na literatura, onde o Acre é o único estado brasileiro da região norte que não foi detectado o mosquito (FERREIRA-DE-LIMA et al., 2020).

Figura 10. Identificação de larvas de *A. aegypti*



A: escamas do pente no oitavo segmento (seta preta) e pécten do sifão (seta vermelha); ampliação dos detalhes da escama pente do oitavo segmento, espinho longo mediano e com dentes bilaterais (B); e ampliação dos detalhes do pécten do sifão.

A proliferação do mosquito *A. aegypti* está relacionado ao estilo de vida da população, as condições domiciliares e saneamento básico (TAUIL, 2002; BEZERRA et al., 2009). Os dados obtidos das coletas de ovos revelam que todos os bairros apresentaram infestação de *A. aegypti*, onde alguns dos bairros analisados apresentam deficiência sanitária, o que representa a realidade de uma parte da população rio-branquense, uma vez que na cidade de Rio Branco, de acordo com o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), somente 56,7% das moradias possui saneamento sanitário adequado (BRASIL, 2020b). Além do modo de vida da população, que podem contribuir para proliferação do mosquito, onde se têm os conhecimentos básicos para prevenção e controle de infestação de *A. aegypti*, porém não os praticam (TAUIL, 2002).

Entretanto, pode-se observar que alguns bairros apresentaram IPO baixos em comparação a outros bairros, como o Esperança (27,7%) e Rui Lino (28,57%), que são locais urbanizados que possuem saneamento básico. Porém, esses dados podem não refletir a realidade de infestação do mosquito nesses bairros, pois o local de instalação da armadilha poderia estar com baixa taxa de infestação do mosquito, quando comparado com outros bairros que poderiam apresentar alta taxa de infestação. Ou seja, os mosquitos podem estar mais disseminados em determinados dos bairros analisados, visto que sua dispersão está relacionada à disponibilidade de alimento, reprodução e meios adequados para oviposição, com estudos mostrando que o mosquito de *A. aegypti* podem se dispersar até 800 metros em 6 dias (HONÓRIO et al., 2003; MACIEL-DE-FREITAS; CODEÇO; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 2007).

Além dos fatores humanos, o clima pode atuar na proliferação de *A. aegypti*, pois a infestação do mosquito está associada à presença de chuva, ocorrendo o aumento da população do mosquito (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

A região norte do Brasil é caracterizada pelo clima tropical equatorial, tendo o estado do Acre duas estações: chuvosa e seca (ABREU; MAIER, 1992; DUARTE; MARCARENHAS, 2007). Em Rio Branco, a estação chuvosa abrange os meses de outubro a abril, com a precipitação de chuvas na cidade variando entre 167 a 286 mm (DUARTE, 2005; DUARTE; MARCARENHAS, 2007; CLIMATE-DATA.ORG, 2020). Entre junho e agosto, se configura a estação seca, onde pode ocorrer precipitação entre 39 a 46 mm (DUARTE, 2005; DUARTE; MARCARENHAS, 2007; CLIMATE-DATA.ORG, 2020). Setembro é o mês de transição entre a estação seca para chuvosa, enquanto que o mês de maio é da estação chuvosa para seca, onde a precipitação é de 95 e 103 mm, respectivamente (DUARTE, 2005; DUARTE; MARCARENHAS, 2007; CLIMATE-DATA.ORG, 2020).

De posse dessas informações, foi realizada a análise por sazonalidade das coletas. Os resultados indicam que no período chuvoso, 2018-2019 e 2019-2020 (Tabela 2), houve maior IPO (70%), o que corrobora com dados da literatura, onde na estação chuvosa ocorre um aumento da população do mosquito, devido aumento da disponibilidade de criadouros (ZEIDLER et al., 2008; MIYAZAKI et al., 2009).

Tabela 2. Coleta de ovos de *A. aegypti* de acordo com estação no estado do Acre

Estação	Mês/ano	Total de ovitrampas instaladas	Total de ovitrampas positivas	Total de ovos coletados	IPO (%)	IDO
Seca	junho de 2018	28	19	2610	67,85	137,37
Chuvosa	outubro/2018 - abril/2019	121	66	4853	54,54	73,53
Transição	maio de 2019	14	9	495	64,28	55
Seca	junho/2019 - agosto/2019	42	13	860	30,95	66,15
Transição	setembro de 2019	12	9	859	75	95,44
Chuvosa	outubro/2019 - abril/2020	96	86	7545	89,58	87,73
Transição	Maio de 2020	24	15	470	62,5	31,33
TOTAL		337	217	17692	64,39	
AGRUPAMENTO DAS ESTAÇÕES						
Estação	Mês/ano	Total de ovitrampas instaladas	Total de ovitrampas positivas	Total de ovos coletados	IPO (%)	IDO
Chuvosa	outubro/2018 - abril/2020	217	152	12398	70,04	81,56
Transição	maio/2019 - maio/2020	50	33	1824	66	55,27
Seca	junho/2018 - agosto/2019	70	32	3470	45,71	108,43

Fonte: arquivo pessoal

Interessante destacar que, em dezembro de 2018, o Ministério da Saúde alertou que os 18 municípios do Acre estavam em estado de alerta ou de risco para ocorrência de arboviroses, devido ao aumento de infestação de *A. aegypti* (BRASIL, 2020c). Inclusive, Rio Branco se encontrava em situação de risco (BRASIL, 2020c). No mesmo período chuvoso no ano seguinte (2019), até 30 de março, houve crescimento de 219% de casos de dengue no estado em comparação com o ano anterior, além do aumento considerável de zika e chikunhunya (BRASIL, 2020d). Neste ano (2020), até o dia 02 de maio, o Acre apresentou incidência de dengue elevada (460 casos por 100 mil habitantes) em comparação com a incidência do Brasil (322,2 casos por 100 mil habitantes) (BRASIL, 2020e). Isso indica que nesses períodos chuvosos houve grande infestação de *A. aegypti*.

No entanto, pode-se observar que IPO na estação seca foi 1,53 vezes inferior a estação chuvosa, mas o índice de densidade de ovos (IDO) foi 1,32 vezes maior no período seco do que no período chuvoso. Isso pode ser explicado, como apresentado no Apêndice B, pela inferioridade de criadouros nesses bairros no período de seca, assim potencializando a captura de ovos nas ovitrampas (MICIELI; CAMPOS, 2003) ou possuem criadouros artificiais na região que possibilita a infestação do mosquito nos locais analisados nesse período.

Apesar do número de ovos coletados nos períodos de chuvas serem superiores aos períodos de secas, os índices de densidades de ovos (IDO) demonstram que no período de seca de 2018 e na transição da estação seca para estação chuvosa, em 2019, houve maior número de reprodução. Vale ressaltar que no período de seca de 2018 só foi possível analisar o mês de junho, indicando que o IDO pode não representar a realidade da estação seca de 2018. Em relação ao período de transição, da estação seca para estação chuvosa, ocorre o aumento de chuvas na cidade, possibilita, assim, o aumento de criadouros, elevando o ambiente apropriado para reprodução e desenvolvimento do mosquito (DUARTE, 2006; MONTEIRO; CARVALHO; SOUTO, 2014).

4.2 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS ETANÓLICOS

Para analisar a atividade larvicida de plantas medicinais cultivadas na Amazônia, especialmente no estado Acre, foram obtidos 17 extratos etanólicos, como mostra a Tabela 3. No entanto, as espécies que obtiveram maiores rendimentos foram *Calycophyllum spruceanum* com 11,79% e *Senna alata* com 7,99%, seguidos por *Uncaria tomentosa* (7,98%) e *Plectranthus barbatus* (7,49%).

Tabela 3. Rendimento dos extratos

Espécie	%
<i>Alternanthera brasiliana</i>	3,17
<i>Kalanchoe pinnata</i>	1,01
<i>Calycophyllum spruceanum</i>	11,79
<i>Senna alata</i>	7,99
<i>Euphorbia tirucalli</i>	3,06
<i>Fridericia chica</i>	4,33
<i>Handroanthus impetiginosa</i>	3,52
<i>Handroanthus chrysanthus</i>	2,22
<i>Jatropha gossypifolia</i>	3,92
<i>Lippia alba</i>	4,39
<i>Momordica charantia</i>	3,08
<i>Morinda citrifolia</i>	5,25
<i>Plectranthus barbatus</i>	7,49
<i>Protium heptaphyllum</i>	2,77
<i>Psidium guajava</i>	3,40
<i>Tagetes patula</i>	2,57
<i>Uncaria tomentosa</i>	7,98

Fonte: arquivo pessoal

Esses resultados divergem com os dados encontrados na literatura, principalmente associado ao método de extração e solventes. Por exemplo, a extração de *Calycophyllum spruceanum* por meio do banho de ultrassom adotado por Magrini (2016), utilizando 10 g de triturado de folhas, obteve a massa de 2,8503 g de seu extrato hidroetanólico, ou seja, o rendimento foi de 28,5%.

Em relação ao extrato bruto etanólico de *Senna alata*, o rendimento foi superior quando comparado ao realizado com solução etanólica a 50% que obteve o rendimento de 6,17%, utilizando o método de maceração no período de 72 horas (EDWIN et al., 2013). Outro artigo relata o rendimento superior com diferentes solventes utilizados para extrações de metabólitos, com rendimento de 16,6% para éter de petróleo, 26,6% para metanol e 27% para etanol (OWOYALE; OLATUNJI; OGUNTOYE, 2005).

O método de extração e os solventes adotados influenciam o rendimento dos extratos de plantas, além da temperatura, solvente, bem como a sua concentração e polaridade, influência na quantidade de metabólitos extraídos (PANDEY; TRIPATHI, 2014).

4.3 TESTE LARVICIDA SELETIVO

Para realização dos testes larvicidas, é indispensável a realização da solubilização dos extratos etanólicos, que são constituídos de compostos de diferentes naturezas, como hidrofóbicos e hidrofílicos (ANDRADE, 2005). Para que ocorra essa solubilização, o solvente escolhido foi o DMSO, tendo sua eficácia associada à sua propriedade anfifílica (KIM et al., 2007). No entanto, esse solvente, dependendo da concentração, pode ocasionar a morte dos insetos quando combinado com os extratos ou óleos (GUARIDO, 2009). Por esse motivo, foi realizado teste de tolerância em diferentes concentrações (0.01%, 0.05%, 0.2%, 0.5% e 1%), com 20 larvas no terceiro estágio larvário em cada concentração e analisados em 24, 48 e 72 horas, para verificar o potencial de toxicidade em *A. aegypti* (Tabela 4).

Pode-se observar que a partir de 72 horas ocorreu a presença de larvas mortas na concentração de 0,05% e 1%, onde foram registradas 3 (15%) e 14 larvas mortas (70%), respectivamente. Isso implica dizer que a partir de 1% de DMSO, o solvente se torna inviável para realização dos bioensaios larvicidas, pois além das mortes das larvas, foi verificada a morte de 4 pupas. Na concentração de 0,05%, a mortalidade pode ter ocorrido devido à fragilidade dessas larvas, pois em concentrações mais altas não houve observação de mortalidade, exceto na concentração máxima adotada.

Tabela 4. Teste de toxicidade de DMSO em larvas de *A. aegypti*

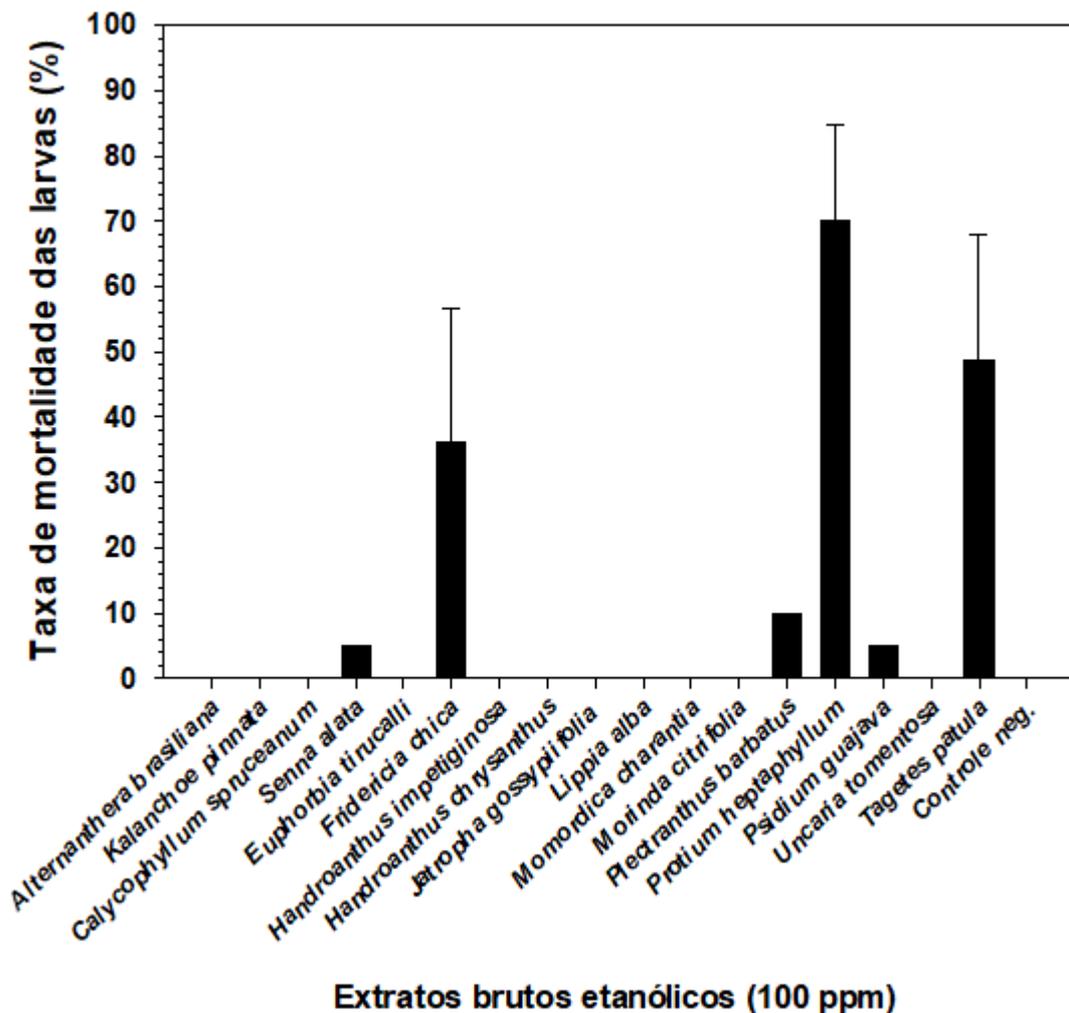
Concentração (%)	Mortalidade (n)		
	24h	48h	72 h
0,01	0	0	0
0,05	0	0	3
0,2	0	0	0
0,5	0	0	0
1	0	0	14

Fonte: arquivo pessoal

Nas rações que foram utilizadas para alimentação das larvas, também foram realizados ensaios de tolerância, analisando a ração em floculada da Alcon Basic® e uma ração granulada (empresa não será destacada nesse estudo). Observamos que durante os testes, com cerca de 0,008 g de ração de peixe em 10 mL de água destilada, a marca Alcon Basic® registrou uma morte larvária em 24 horas e as larvas vivas estavam bastante ativas. Enquanto a ração granulada, no mesmo período de tempo, registrou uma taxa de mortalidade de 56,25%, porém, as larvas vivas apresentavam lentidão. E na leitura das 48 horas, foram observadas mais 37,5% de morte larvária. Esses resultados indicam que a ração floculada era ideal para utilização dos bioensaios, apesar de registrar uma morte larvária, que pode ter ocorrido por já estar debilitada, pois as larvas vivas estavam bastante ativas.

Assim, após a padronização, foram analisados 17 extratos etanólicos em 100 ppm, cujo o controle negativo estava na concentração de 0,04% de DMSO. Entre os extratos analisados, duas plantas foram promissoras para atividade larvicida, cujas as taxas de mortalidades foram superiores a 30% em 100ppm: *Protium heptaphyllum* (70%) e *Fridericia chica* (36,25%). Enquanto *Senna alata*, *Plectranthus barbatus* e *Psidium guajava* apresentaram atividade larvicida inferior a 25% (Figura 11). Já o controle positivo, o extrato etanólico de *Tagetes patula*, registrou 48,75% de mortalidade larvária e o controle negativo não apresentou morte das larvas.

Figura 11. Atividade larvicida de extratos brutos etanólicos contra *A. aegypti* em 100 ppm



O gênero *Tagetes* é reconhecido pela variedade de atividades biológicas, inclusive atividade inseticida em diversas espécies, como *Anopheles gambiae*, *A. stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, *Cimex lectularius*, *Tribolium castaneum* e *A. aegypti* (PERICH et al., 1994; PERICH et al., 1995; NIKKON et al., 2011; KYARIMPA et al., 2014; POLITI et al., 2017; MA et al., 2018). Porém, nesse presente estudo *T. patula*, o controle positivo, apresentou baixa atividade em comparações as outras pesquisas, como um estudo utilizando diversas plantas contra larvas de *Aedes fluviatilis*, reportando uma taxa de mortalidade de 65,6% em 24 horas na concentração de 100 ppm (MÂCEDO et al., 1997). Em outro experimento, utilizando os extratos etanólicos das folhas, verificou que em 153,6 mg/L (153,6 ppm) a mortalidade das larvas de *A. aegypti* em 48 horas alcançou 92% (VIDAL et al., 2009). O que contrasta com os

resultados obtidos, onde média da taxa de mortalidade foi menor que 50%, apesar que esse último estudo a concentração foi maior.

No estudo realizado por Krzyzaniak et al. (2017), observou-se que o extrato bruto de acetona da inflorescência de *T. patula*, na concentração de 300 mg/L (300 ppm), demonstrou ausência de atividade larvicida em 24 horas, mas a partir das 48 horas registrou uma taxa de mortalidade de 4,4%, 22%, 26,7% e 31% em 48 horas, 72 horas e 120 horas, respectivamente. Essas diferenças de taxas de mortalidade das larvas de *A. aegypti* em estudos distintos utilizando *T. patula*, deve ser pelo solvente utilizado, a localização da planta de estudo e a parte vegetal coletada que interferem na quantidade e os tipos de metabólitos extraídos da planta (GLOBO-NETO; LOPES, 2007; GHOSH; CHOWDHURY; CHANDRA, 2012).

Algumas plantas deste estudo apresentaram baixa ou ausência de atividade larvicida contra *A. aegypti*. Porém, na literatura científica há ocorrência de atividade dessas plantas em diferentes solventes utilizados ou métodos de extração dos metabólitos das folhas, como apresentado no Quadro 5.

Quadro 5. Plantas que apresentaram atividade larvicida em pesquisas científicas

Planta	Extratos ou óleo essencial	Referência
<i>Morinda citrifolia</i>	Hexânico, clorofórmio, acetona, metanol e aquoso	KOVENDAN et al., 2012.
<i>Psidium guajava</i>	Acetona e óleo essencial	KAUSHIK; SAINI, 2009; LIMA et al., 2011; MENDES et al., 2017.
<i>Lippia alba</i>	Óleo essencial	SANTIAGO et al., 2006; VERA et al., 2014; RÍOS; STASHENKO; DUQUE, 2017.
<i>Senna alata</i>	Hidroetanólico e aquoso	EDWIN et al., 2013.
<i>Euphorbia turicalli</i>	Éter de petróleo	RAHUMAN et al., 2008.
<i>Momordica charantia</i>	Metanólico e éter de petróleo	RAHUMAN; VENKATESAN, 2008; SAKTHIVADIVEL; DANIEL, 2008.
<i>Plectranthus barbatus</i>	Aquoso e hexânico	MUSAU et al., 2016.

Esta análise demonstra a importância da escolha do solvente para extração de metabólitos secundários, devido à polaridade de cada solvente. A escolha do solvente, bem como o modo de extração e a parte da planta, interferem na extração de metabólitos secundários (NCUBE; AFOLAYAN; OKON, 2008). Além da origem e natureza do material vegetal, teor de umidade, tamanho da partícula e o grau de processamento influencia o efeito dos metabólitos das plantas (PANDEY; TRIPATHI, 2014).

Dois estudos foram realizados avaliando atividade larvicida contra *A. aegypti* com extratos etanólicos de folhas de *P. heptaphyllum*, porém os autores relataram que a mortalidade foi inferior a 75% ou ausência de atividade em diferentes concentrações, sendo que um deles estudos, a concentração mais alta avaliada foi de 500 µg/mL (500 ppm) (RODRIGUES et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2010). Além disso, o extrato etanólico da casca também apresentou baixa mortalidade larvária, até 72 horas, em uma concentração de 50 ml/L (50.000 ppm), onde a taxa de mortalidade alcançou 63,9% (AZEVEDO et al., 2019). Isso indica a maior eficácia larvicida de *P. heptaphyllum* contra *A. aegypti* na presente pesquisa, que obteve a média de mortalidade de 70% em 100 ppm nas 48 horas.

Um trabalho realizado com óleo essencial de resina de *P. heptaphyllum*, registrou 100% de morte larvária de *A. aegypti*, em 24 horas, na concentração de 100 ppm (FAUSTINO, 2018). Da mesma forma ocorreu com o óleo essencial das folhas de *T. patula* (DHARMAGADDA et al., 2005). Isso revela a maior eficácia do óleo essencial em comparação com os extratos etanólicos, porém pode ser devido às diferenças de constituintes químicos presente nos óleos essenciais e extratos, pois o óleo essencial é composto principalmente por terpenos, enquanto o extrato bruto é constituído de diferentes classes de metabólitos secundários (AZWANIDA, 2015; PANDEY; TRIPATHI, 2014; KOUL; WALIA; DHALIWAL, 2008).

A espécie *F. chica* é conhecida pela medicina popular por possuir diversas atividades biológicas, tais como: anti-inflamatória, tratamento de cólicas intestinais, anemia e hemorragia, hemorroidas, hepatites, cicatrizante, protetor solar, repelente de insetos, corante para rituais de índios brasileiros (BARBOSA et al., 2008; JORGE et al., 2008). Essas atividades foram comprovadas em estudos científicos, como ação anti-inflamatório, antibacteriana, antioxidante, leishmanicida, cicatrizante, antifúngica e tripanocida (BARBOSA et al., 2008; JORGE et al., 2008; TORRES et al., 2018; LIMA et al., 2020; VIOLANTE et al., 2020). Contudo, esse é o primeiro relato de atividade larvicida contra *A. aegypti*, segundo os bancos de dados PubMed, Scielo, Wiley Online Library, Google Acadêmico e ScienceDirect.

4.4 AVALIAÇÃO DOS PARTICIONADOS CONTRA LARVAS DE *A. aegypti* E A PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE *F. chica* e *P. heptaphyllum*

Para avaliação dos particionados contra larvas de *A. aegypti*, foi empregado o método partição líquido-líquido para isolamento de classes de compostos presentes nos extratos etanólicos por meio da polaridade dos solventes (FILHO; YUNES, 1998). Foi solubilizado o

extrato em metanol e água destilada (1:10), em seguida, utilizado os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila para obter os particionados (Tabela 5) com seus rendimentos a partir dos extratos etanólicos.

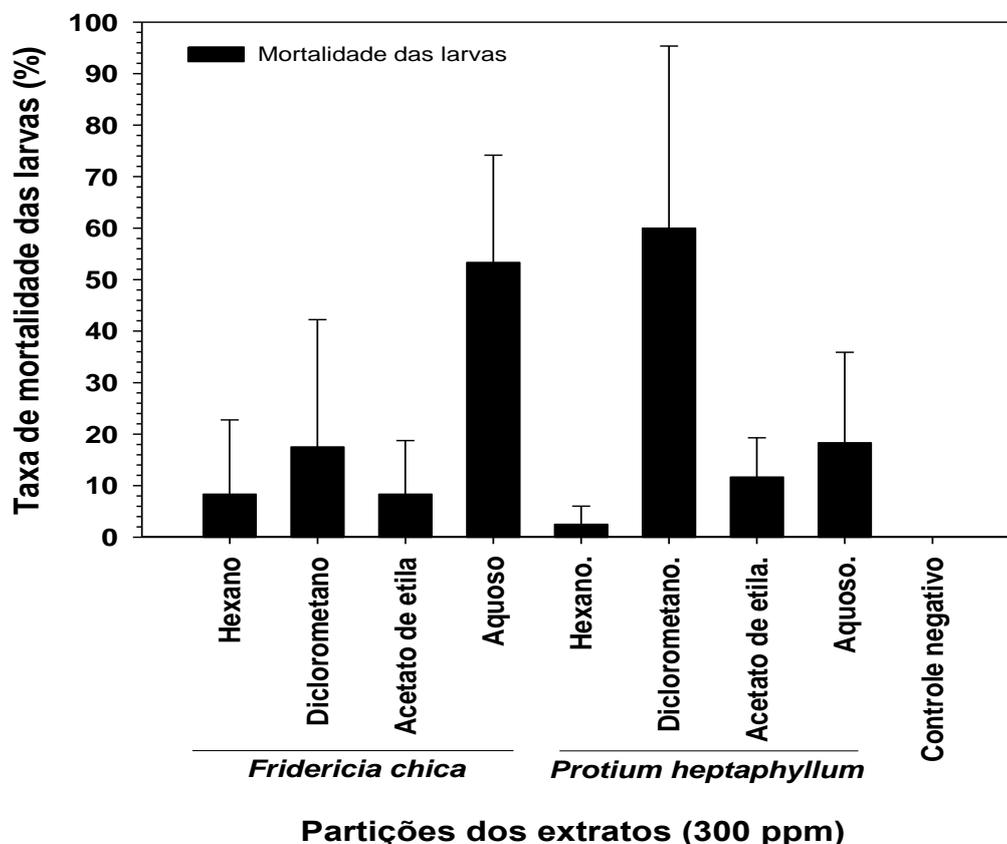
Tabela 5. Rendimento das partições de *F. chica* e *P. heptaphyllum*

Partições de <i>F. chica</i>	
Solvente	Rendimento (%)
Hexano	10,73
Diclorometano	1,66
Acetato de etila	1,81
Aquoso	27,44
Partições de <i>P. heptaphyllum</i>	
Solvente	Rendimento (%)
Hexano	5,15
Diclorometano	1,98
Acetato de etila	1,29
Aquoso	24,55

Arquivo pessoal

Em seguida, foram analisadas as partições de hexano, diclorometano, acetato de etila e aquoso de *P. heptaphyllum* e *F. chica* em 300 ppm, apresentando uma taxa de mortalidade de 60% (DP = $\pm 35,3$) na partição de diclorometano da *P. heptaphyllum* e 53,3% (DP = $\pm 20,8$) na partição aquoso da *F. chica* (Figura 12).

Figura 12. Bioensaio dos particionados de *Fridericia chica* e *Protium heptaphyllum* contra *A. aegypti* em 300 ppm



No entanto, as partições que não foram promissoras de *F. chica* e *P. heptaphyllum*, apresentaram taxa de mortalidade inferior a 20%, o que pode estar relacionado ao isolamento das classes dos compostos, na qual metabolitos podem perder sua atividade quando é adotado o método de separação, pois existem sinergismo entre os compostos que ocasiona atividade inseticida (SHAALAN et al., 2005).

Pode-se também observar a falta de estabilidade da atividade larvicida da partição de diclorometano de *P. heptaphyllum* com desvio padrão superior a 25%, que pode ser devido a perda da viabilidade dos compostos, que é uma das características das plantas inseticidas, a sua rápida degradação dos compostos (POTENZA, 2004). Visto que, após a solubilização em DMSO da partição de diclorometano de *P. heptaphyllum*, verificou que durante as realizações dos bioensaios que perdurou por 13 dias, desde a eclosão dos ovos ao registro da taxa de mortalidade das larvas nas 48 horas, houve decréscimo da taxa de mortalidade nas suas triplicatas. Como foi observado em um estudo do extrato de *Piper retrofractum* solubilizado em água destilada e acetona, armazenado até 8 dias em uma temperatura de 4°C e 25°C, verificou que houve perda de atividade larvicida (CHANSANG et al., 2005).

Na prospecção fitoquímica das partições de hexano, diclorometano, acetato de etila e aquosa, foram detectados diversos metabólitos secundários: fenóis, grupo flavonas, flavonóis e xantonas, flavanonóis, catequinas e taninos condensados (Quadro 6 e Figura 13).

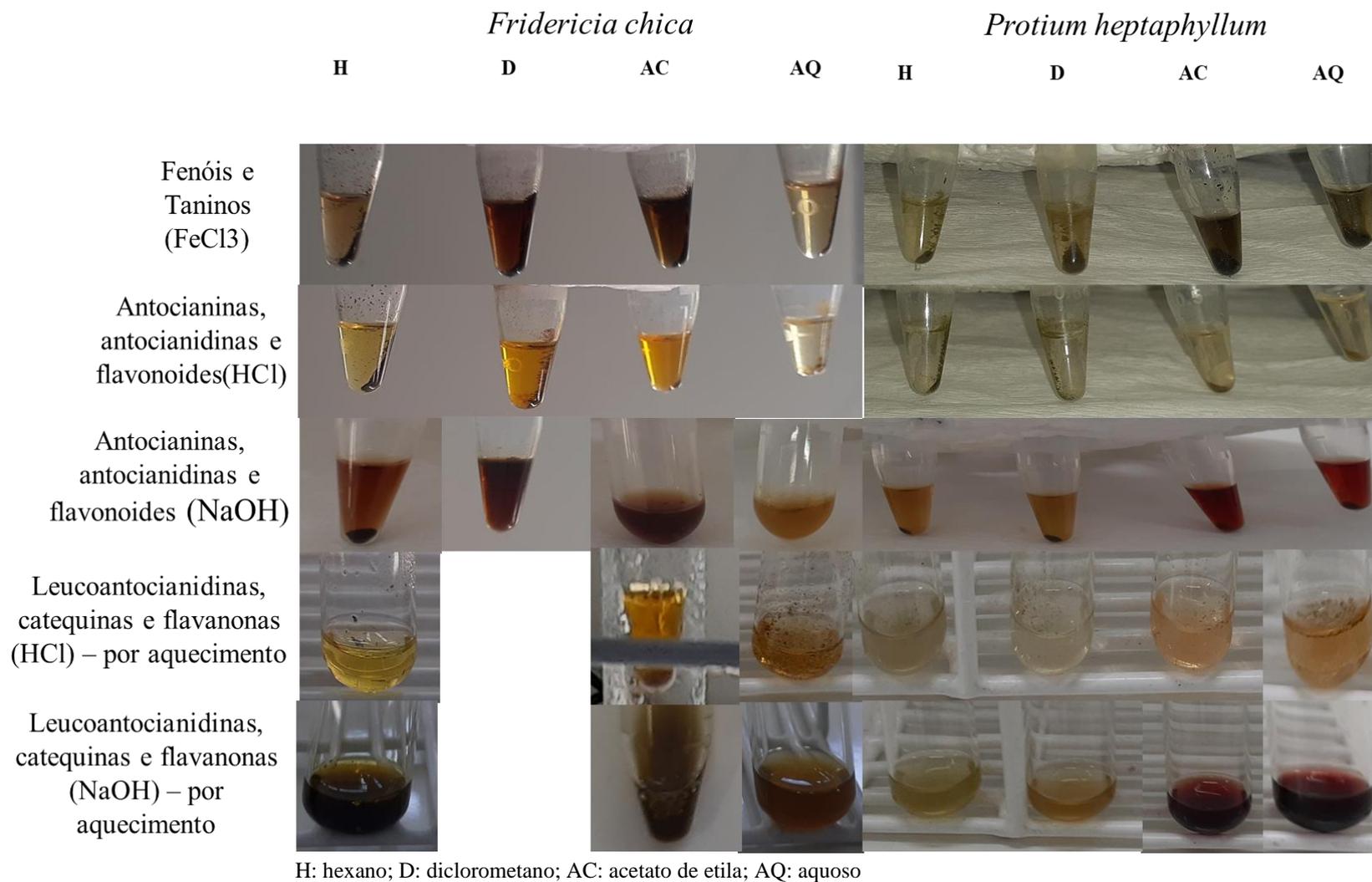
Quadro 6. Prospecção fitoquímica de *Fridericia chica* e *Protium heptaphyllum*

Metabólitos	<i>Fridericia chica</i>				<i>Protium heptaphyllum</i>			
	H	D	AC	AQ	H	D	AC	AQ
Fenóis	-	+	-	-	-	-	-	-
Antocianinas e Antocianidinas	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	-	+	+	+	-	-
Chalconas e auronas	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavanonóis	+	-	-	-	-	-	+	+
Leucoantocianidinas	-		-	-	-	-	-	-
Flavanonas	-		-	-	-	-	-	-
Catequinas	-		-	+	-	-	+	+
Taninos hidrolisáveis	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos condensados	+		+	+	+	+	+	+

H: partição hexânica; D: partição de diclorometano; AC: partição de acetato de etila; AQ: partição aquosa.

(+) positivo e (-) negativo

Figura 13. Análise fitoquímica das partições de *Fridericia chica* e *Protium heptaphyllum*



Durante os ensaios fitoquímicos, foram realizados testes para saponinas e açúcares redutores (reagente de Benedict), nas quais os particionados de ambas espécies foram negativos (dados não demonstrados). É importante enfatizar que alguns compostos não foram detectados durante os testes fitoquímicos, o que podem ter ocorrido o mascaramento de alguns constituintes que pode ocasionar a não revelação da cor indicativa (MATOS, 2009). O que pode ter ocorrido com as antocianidinas de *F. chica*, um constituinte característico da espécie devido a cor vermelha das folhas, e que não foi detectado em nossos ensaios (ZORN et al., 2001; DEVIA et al., 2002; SCHIOZER et al., 2008; ALVES et al., 2010; SÁ et al., 2010).

No tocante a prospecção fitoquímica dos particionados promissores, a partição aquosa de *F. chica*, indicou presença de catequinas, taninos condensados e o grupo das flavonas, flavonóis e xantonas; e na partição de diclorometano de *P. heptaphyllum* demonstrou a cor indicativa para taninos condensados e o grupo das flavonas, flavonóis, xantonas.

Entre as classes de metabólitos detectadas nas partições promissoras contra *A. aegypti*, há na literatura descrição desses constituintes manifestando atividade inseticida. Como os taninos que são reconhecidos como pesticidas, inclusive contra larvas de *A. aegypti* (SILVA et al., 2004). Estudos apontam que os taninos atuam na oxidação no intestino dos insetos e consequentemente originando radicais de semiquinona e quinonas, que podem ser absorvidas pelos tecidos intestinais ocasionando danos celulares (SILVA et al., 2004; BARBEHENN; MABEN; KNOESTER, 2008; BARBEHENN; CONSTABEL, 2011). Como foi verificado nos taninos condensados (ou taninos catéquicos) da *Magonia pubescens* contra larvas de *A. aegypti*, onde foi observado mudanças morfológicas e histológicas nas larvas, tais como, a expulsão do tubo digestório e da matriz peritrófica, destruição celular e presença de vacúolos citoplasmáticos (VALOTTO et al., 2010). Porém, mais pesquisas devem ser realizadas para identificar os mecanismos de ação desse metabólito nas larvas de *A. aegypti*.

Alguns metabólitos do grupo das flavonas, flavonóis e xantonas identificados na análise fitoquímica de *F. chica* e *P. heptaphyllum* apresentaram atividade inseticida na literatura. A flavona 7,4'-di-O-metil-8-O-sulfato extraído de *Helicteres velutina* apresentou atividade larvicida contra *A. aegypti*, na qual o estudo propõe que o grupo O-sulfato na posição C-8, por intermédio da ligação de hidrogênio, pode atuar contra a proteína transportadora de esterol-2 localizada no intestino das larvas (FERNANDES et al., 2019). Em outro estudo analisando esse mesmo composto, demonstrou aumento de produção de óxido nítrico nas larvas de *A. aegypti*, devido ao recrutamento de hemócitos (FERNANDES et al., 2020). Uma vez que os hemócitos elevam a produção de óxido nítrico quando as larvas sofrem lesões, ocasionado a sua citotoxicidade (FARALDO et al., 2005; NUNES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016).

As xantonas possuem atividade larvicida contra larvas de *A. aegypti*, como dulxantonas e alfa-mangostin extraídos de *Garcinia mangostana*, cuja a concentração letal em 50% foram de 8,81ppm e 23,3ppm, respectivamente (KANDASAMY; GHOSH, 2017). Um estudo avaliando alfa-mangostin contra larvas de *A. aegypti*, os autores acreditam que essa xantona diminui a ingestão de alimentos e o metabolismo lipídico, pois as larvas expostas a esse composto tinham baixa massa corporal quando comparado com o controle (LARSON et al., 2010).

No que se refere aos flavonóis, estudo associa que essa classe de metabólito possui atividade contra *A. aegypti*, na qual pressupõe que a patuletina, extraído da inflorescência de *T. patula*, esteja associada a atividade larvicida, pois a fração que apresentou maior atividade tinha maior concentração desse composto em comparação com outras frações (KRZYZANIAK et al., 2017). Há também registro de atividade larvicida das catequinas, extraído de *Leucas aspera*, contra larvas de *A. aegypti*, *Anopheles stephensi* e *C. quinquefasciatus*, em que foi observada, além das mortes larvárias, alterações morfológicas e histológicas, como alteração nas papilas anais e injúrias no tecido epitelial do intestino médio (ELUMALAI et al., 2015).

Apesar de todas essas informações de atividade larvicidas desses metabólitos, no entanto, não podemos afirmar que as diversas classes de metabólitos detectados nas partições de *P. heptaphyllum* e *F. chica* apresentam os mesmos princípios ativos responsáveis pela atividade larvicida contra *A. aegypti*, descritos na literatura. Entretanto, ao analisarmos os demais particionados, de ambas as plantas, podemos observar que todas as partições apresentaram baixa atividade larvicida, sugerindo assim um sinergismo entre os constituintes, potencializando a ação larvicida no extrato etanólico bruto. Portanto, estudos devem ser realizados para isolamento e identificação desses compostos ativos.

6. CONCLUSÃO

Nesse estudo foram coletados 17.692 ovos de *A. aegypti* nos bairros de Rio Branco, onde maior número de ovos capturados foram nos períodos chuvosos. O que enfatiza a importância do controle do mosquito, pois no mesmo período, o Acre registrava aumento de casos de dengue.

No tocante aos ensaios larvicidas, dentre os 17 extratos etanólicos analisados, somente 2 plantas foram promissoras para atividade larvicida contra *A. aegypti*, sendo que o *P. heptaphyllum* apresentou maior atividade, enquanto a *F. chica* é o primeiro relato de atividade larvicida contra *A. aegypti*.

Entre os particionados das plantas promissoras, a partição aquosa de *F. chica* e diclorometano de *P. heptaphyllum* apresentaram melhor atividade larvicida contra *A. aegypti*, cujas as suas prospecções fitoquímicas identificaram diversas classes de metabólitos vegetais, na qual a literatura as descrevem contendo atividade larvicida. Portanto, *F. chica* e *P. heptaphyllum* podem ser potenciais larvicidas contra *A. aegypti*, porém, estudos devem ser realizados para identificação do composto ativo e seu mecanismo de ação.

REFERÊNCIAS

ABEDI, Z. H.; DUFFY, J. R.; BROWN, A. W. A. Dehydrochlorination and DDT-Resistance in *Aedes aegypti*. **Journal of Economic Entomology**, V. 56, n. 4, p. 511–517, 1963.

ABREU, R. M. M.; MAIER, M. H. Acre River BASin (67° - 71° W, 09° - 11° S, Acre - Brazil) – ecologic aspects: limnology, physiography and climate. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 19, n. único, p. 39-47, 1992.

ACIOLE, S. D. G. et al. Insecticidal activity of three species of *Guatteria* (Annonaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 37, n. 2, p. 262-268, 2011.

AGUIAR, R. W. S. et al. Insecticidal and Repellent Activity of *Siparuna guianensis* Aubl. (Negramina) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Plos One**, v. 10, n. 2, p. 1-14, 2015.

ALI, A. et al. Insecticidal and biting deterrent activity of rose-scented geranium (*Pelargonium* spp.) essential oils and individual compounds against *Stephanitis pyrioides* and *Aedes aegypti*. **Pest Management Science**, v. 69, n.12, p. 1385-1392, 2013.

ALMEIDA, R. R. P. de et al. Chemical Variation in *Piper aduncum* and Biological Properties of Its Dillapiole-Rich Essential Oil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, n. 9, p. 1427-1434, 2009.

ALVES, M. S. M. et al. Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 215-221, 2010.

ANDRADE, Gláucia Aparecida. **Propriedades Herbicidas de Metabólitos Secundários Presentes nos Extratos de Caule e Raiz de *Caryocar brasiliense* (Pequi)**. 2005. 75f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

APPEL, H. M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 7, p. 1521-1552, 1993.

ARAÚJO, Amanda Bezerra de. **Uma Análise das Políticas de Controle e Combate à Dengue no Brasil**. 2018. 157f. Dissertação (Mestrado em Gestão e Economia da Saúde) – Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

ARAÚJO, I. F. de et al. Larvicidal effect of hidroethanolic extract from the leaves of *Acmella oleracea* L. R. K. Jansen in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **South African Journal of Botany**, v. 117, p. 134-140, 2018b.

ARMENGOL, G. et al. Long-Lasting Effects of a *Bacillus thuringiensis* Serovar *israelensis* Experimental Tablet Formulation for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, n. 5, p. 1590–1595, 2006.

AZEVEDO, S. G. et al. Bioactivity of *Licaria puchury-major* Essential Oil Against *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 3, p. 229-238, 2018.

AZEVEDO, F. R. et al. Larvicidal Activity of Native Plant Extracts From the Araripe National Forest on *Aedes aegypti*. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 7, p. 105-114, 2019.

AZWANIDA, N. N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 4, n. 3, p. 1-6, 2015.

BALANDRIN, M. F. et al. Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials. **Science**, v. 228, p. 1154-1160, 1985.

BARBEHENN, R. V.; MABEN, R. E.; KNOESTER, J. J. Linking Phenolic Oxidation in the Midgut Lumen with Oxidative Stress in the Midgut Tissues of a Tree-Feeding Caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). **Entomological Society of America**, v. 37, n. 5, p. 1113-1118, 2008.

BARBEHENN, R. V.; CONSTABEL, C. P. Tannins in plant-herbivore interactions. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1551-1565, 2011.

BARBOSA, J. D. F. et al. Structure-activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest Management Science**, v. 68, n. 11, p. 1478-1483, 2012.

BARBOSA, M. G. V. et al. *Aedes aegypti* e fauna associada em área rural de Manaus, na Amazônia brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 213-216, 2009.

BARBOSA, W. L. R. et al. *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 544-548, 2008.

BARRET, A. D. T. The reemergence of yellow fever. **Science**, v. 361, n. 6405, p. 847-848, 2018.

BEASLEY, D. W. C.; MCAULEY, A. J.; BENTE, D. A. Yellow fever virus: Genetic and phenotypic diversity and implications for detection, prevention and therapy. **Antiviral Research**, v. 115, p. 48-70, 2015.

BELINATO, T. A. et al. Effect of the chitin synthesis inhibitor triflumuron on the development, viability and reproduction of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 43-47, 2009.

BELLINATO, D. F. et al. Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* Populations. **Biomed Research International**, v. 2016, p. 1-12, 2016.

- BELTRÃO, H. de B. M.; SILVA-FILHA, M. H. N. L. Interaction of *Bacillus thuringiensis* svar. *israelensis* Cry toxins with binding sites from *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae midgut. **FEMS Microbiology Letters**, v. 266, p. 163-169, 2007.
- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617-633, 1994.
- BEZERRA, E. B. et al. Ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 99, n. 3, p. 281-285, 2009.
- BONAT, W. H. et al. Investigando Fatores Associados a Contagens de Ovos de *Aedes aegypti* Coletados em Ovitampas em Recife/PE. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 27, n. 4, p. 519-537, 2009.
- BORNMAN, M. et al. Alterations in male reproductive hormones in relation to environmental DDT exposure. **Environment Research**, v. 113, p. 281-189, 2018.
- BOURGAUD, F. et al. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839-851, 2001.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.
- BRAGA, I. A. et al. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2004.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. Brasília, Ministério da Saúde, 3. ed., 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria de Consolidação nº. 4, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre os sistemas e os subsistemas do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 de outubro de 2017, p. 288.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015. **Ministério da Saúde**, v. 47, n. 03, p. 1-10, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos Casos de Dengue, Febre de Chikungunya e Febre pelo Vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016. **Ministério da Saúde**, v. 48, n. 03, p. 1-11, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2017. **Ministério da Saúde**, v. 42, n. 03, p. 1-13, 2018.
- BRASIL. Secretária de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2018. **Ministério da Saúde**, v. 50, n. 04, p. 1-14, 2019a.

BRASIL. Secretária de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes* (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52. **Ministério da Saúde**, v. 51, 02, p. 1-16, 2020a.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **ZEE Amazônia Legal**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/estudos-ambientais/15844-zee-amazonia-legal.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 07 de novembro de 2019b.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Rio Branco: panorama**. Disponível: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ac/rio-branco/panorama>>. Acesso em: 08 de julho de 2020b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **AC: 18 municípios em situação de alerta ou risco para dengue, zika e Chikungunya**. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/44946-ac-18-municipios-em-situacao-de-alerta-ou-risco-para-dengue-zika-e-chikungunya-3>>. Acesso em: 12 de julho de 2020c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Cresce em 219% o número de casos de dengue no Acre**. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45371-cresce-em-219-o-numero-de-casos-de-dengue-no-acre>>. Acesso em: 12 de julho de 2020d.

BRANDÃO-DE-REZENDE, C. et al. Characterization of Retinopathy Among Patients With Yellow Fever During 2 Outbreaks in Southeastern Brazil. **JAMA Ophthalmology**, p. E1-E7, 2019.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

BRIZZI, K. Neurologic Manifestation of Chikungunya Virus. **Current Infectious Disease Reports**, v. 19, p. 1-6, 2017.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000.

BURDMANN, E. A. Flaviviruses and Kidney Diseases. **Advances in Chronic Kidney Disease**, v. 26, n. 3, p. 198-206, 2019.

CAGLIOTI, C. et al. Chikungunya Virus Infection: an Overview. **New Microbiologica**, v. 36, p. 211-227, 2013.

CAMPOS, J. M. et al. Arboviroses de importância epidemiológica no Brasil. **Revista de Ciências da Saúde Básica e Aplicada**, v. 1, n. 1, p. 36-48, 2018.

CAO-LORMEAU, Van-Mai et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1531-1539, 2016.

CARDOSO, D. et al. Amazon plant diversity revealed by a taxonomically verified species list. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 40, p. 10695-10700, 2017.

CARVALHO, FD; MOREIRA, LA. Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so Successful as a Species? Brasil, **Neotropical Entomology**, v. 46, n. 3, p. 243-255, 2017.

CARVALHO, M. do S. L. de et al. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, p. 623-629, 2004.

CARVALHO, G. H. F. de et al. Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 6, p. 5514-5523, 2019.

CAVALCANTI, E. S. B. et al. Larvicidal Activity of Essential Oils from Brazilian Plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 541-544, 2004.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention); Harry, D. P. **Life Cycle of the *Aedes aegypti* Mosquito**. 1966. Disponível em: <<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=20204>>. Acesso em: 07 de outubro de 2020.

CHANDAK, N. H. et al. Neurological complications of Chikungunya virus infection. **Neurology India**, v. 57, n. 02, p. 177-180, 2009.

CHANSANG, U. et al. Mosquito larvicidal activity of aqueous extracts of long pepper (*Piper retrofractum* Vahl) from Thailand. **Journal of Vector Ecology**, v. 30, n.2, p. 195-200, 2005.

CHAPAGAIN, B. P.; SAHARAN, V.; WIESMAN, Z. Larvicidal activity of saponins from *Balanites aegyptiaca* callus against *Aedes aegypti* mosquito. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1165–1168, 2008.

CHATEL-CHAIX, L.; BARTENSCHLAGER, R. Dengue Virus- and Hepatitis C Virus-Induced Replication and Assembly Compartments: the Enemy Inside—Caught in the Web. **Journal of Virology**, v. 88, n. 11, p. 5907-5911, 2014.

CHANTRAINE, Jean-Marie et al. Insecticidal Activity of Essential Oils on *Aedes aegypti* Larvae. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 350-354, 1998.

CHEN, Yen-Liang et al. Activation of Peripheral Blood Mononuclear Cells by Dengue Virus Infection Depotentiates Balapiravir. **Journal of Virology**, v. 88, n. 03, p. 1740-1747, 2014.

CHEN, M. et al. Molecular evidence of sequential evolution of DDT- and pyrethroid-resistant sodium channel in *Aedes aegypti*. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 6, p. 1-21, 2019.

CHENG, Ai-Xia et al. Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, n. 2, p. 179–186, 2007.

CHENG, Sen-Sung et al. Insecticidal activities of leaf and twig essential oils from *Clausena excavata* against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. **Pest Management Science**, v. 65, n. 3, p. 339-343, 2009.

CICCIA, G.; COUSSIO, J.; MONGELLI, E. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 185-189, 2000.

CLIMATE-DATA.ORG. **Rio Branco Clima (Brasil)**. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/acre/rio-branco-4000/#:~:text=A%20classifica%C3%A7%C3%A3o%20do%20clima%20%C3%A9,pluviosidade%20%C3%A9%20de%201935%20mm.>>. Acesso em: 12 de outubro de 2020.

COCCO, P. et al. Reproductive outcomes in DDT applicators. **Environmental Research**, v. 98, n. 1, p. 120-126, 2005.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. de. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. Rio de Janeiro, **Editora Fiocruz**, 1 ed., p. 228, 1994.

COSTA, C. F. da et al. Evidence of vertical transmission of Zika virus in field-collected eggs of *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon. **Plos Neglected Tropical Disease**, v. 12, n. 7, p. 1-12, 2018.

COSTA-DA-SILVA, A. L. et al. Glytube: A Conical Tube and Parafilm M-Based Method as a Simplified Device to Artificially Blood-Feed the Dengue Vector Mosquito, *Aedes aegypti*. **Plos One**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2013.

CROSBY, L. et al. Severe Manifestations of Chikungunya Virus in Critically ill Patients During the 2013–2014 Caribbean outbreak. **International Journal of Infectious Disease**, v. 48, p. 78-80, 2016.

CUNHA, M. P. da et al. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 4, p. 441-444, 2005.

DHARMAGADDA, V. S. S. et al. Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 11, p. 1235-1240, 2005.

DAVID, Jean-Philippe et al. Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. 368, n. 1612, p. 1-12, 2013.

DAVID, M. R.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FREITAS, R. M. de. Container productivity, daily survival rates and dispersal of *Aedes aegypti* mosquitoes in a high income dengue epidemic neighbourhood of Rio de Janeiro: presumed influence of differential urban structure on mosquito biology. Rio de Janeiro, **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 06, p. 927-932, 2009.

DAVIES, T. G. E. et al. DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. **IUBMB Life**, v. 59, n. 3, p. 151 – 162, 2007.

DEEBA, F. et al. Chikungunya Virus: Recent Advances in Epidemiology, Host Pathogen Interaction and Vaccine Strategies. **Pathoges and Disease**, v. 74, n. 03, p. 1-10, 2016.

DEVIA, B. et al. New 3-Deoxyanthocyanidins from Leaves of *Arrabidaea chica*. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 114-120, 2002.

DIAS, C. N. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oils Extracted from Brazilian Legal Amazon Plants against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, n. 480765, p. 1-8, 2015.

DIAS, L. P. et al. A trypsin inhibitor purified from *Cassia leiandra* seeds has insectidal activity against *Aedes aegypti*. *Process Biochemistry*, v. 57, p. 228-238, 2017.

DING, F. et al. Mapping the spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Acta Tropica**, v. 178, p. 155-162, 2018.

DOMPIERI, R. C. et al. Unilateral acute idiopathic maculopathy secondary to yellow fever disease: a case report. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, v. 15, p. 1-3, 2019.

DONALÍSIO, M. R.; FREITAS, A. R. R. Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 1, p. 283-285, 2015.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância Entomológica e Controle de Vetores do Dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259-272, 2002.

DONNELLY, M. J. et al. Does kdr genotype predict insecticide-resistance phenotype in mosquitoes?. **Cell Press**, v. 25, n. 5, p. 213-219, 2005.

DOUAM, F.; PLOSS, A. Yellow Fever Virus: Knowledge Gaps Impeding the Fight Against an Old Foe. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 11, p. 913-928, 2018.

DUARTE, A. F. Variabilidade e Tendência das Chuvas em Rio Branco, Acre, Brasil. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 20, n. 1, p. 37-42, 2005.

DUARTE, A. F.; MARCARENHAS, M. D., M. Manifestação do Bioclima do Acre Sobre a Saúde Humana no Contexto Socioeconômico da Amazônia. **Amazônia: Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n. 5, p. 149-162, 2007.

DUARTE, A. F. Aspectos da Climatologia do Acre, Brasil, com Base no Intervalo 1971-2000. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 21, n. 3b, p. 308-317, 2006.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of Plant Volatiles. **Plant Physiology**, v. 135, n. 4, p. 1893-1902, 2004.

EDWIN, U. P. M. et al. Larvicidal effect of aqueous and ethanolic extracts of *Senna alata* on *Anopheles gambiae*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 3, p. 561-566, 2013.

ELUMALAI, D. et al. Larvicidal activity of catechin isolated from *Leucas aspera* against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 115, n. 3, p. 1203-1212, 2016.

ESTRUCH, J. J. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, p. 5389-5394, 1996.

FANG, C.; FERNIE, A. R.; LUO, J. Exploring the Diversity of Plant Metabolism. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 1, p. 83-98, 2019.

FARALDO, A C. et al. Nitric oxide production in blowfly hemolymph after yeast inoculation. **Nitric Oxide**, v. 13, n. 4, p. 240-246, 2005.

FARIAS, D. F. et al. Water extracts of Brazilian leguminous seeds as rich sources of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 3, p. 585-594, 2010.

FARNESI, L. C. et al. Physiological and Morphological Aspects of *Aedes aegypti* Developing Larvae: Effects of the Chitin Synthesis Inhibitor Novaluron. **Plos One**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2012.

FAUCON, F. et al. Identifying genomic changes associated with insecticide resistance in the dengue mosquito *Aedes aegypti* by deep targeted sequencing. **Genome Research**, v. 25, p. 1347-1359, 2015.

FAUSTINO, Cleidjane Gomes. **Estudo Químico e da Atividade Larvicida e Repelente do Óleo Essencial da Resina de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand Frente ao *Aedes (stegomyia) aegypti* Linneu**. 2018. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde) – Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2018.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERNANDES, D. A. et al. Larvicidal Compounds Extracted from *Helicteres velutina* K. Schum (Sterculiaceae) Evaluated against *Aedes aegypti* L. **Molecules**, v. 24, n. 12, 2019.

FERNANDES, D. A. et al. Insights on the Larvicidal Mechanism of Action of Fractions and Compounds from Aerial Parts of *Helicteres velutina* K. Schum against *Aedes aegypti* L. **Molecules**, v. 25, n. 13, 2020.

FERREIRA, T. P. et al. Prolonged mosquitocidal activity of *Siparuna guianensis* essential oil encapsulated in chitosan nanoparticles. **Plos Neglected Tropical Disease**, v. 13, n. 8, p. 1-23, 2019.

FERREIRA, R. M. dos A. Nano-emulsification Enhances the Larvicidal Potential of the Essential Oil of *Siparuna guianensis* (Laurales:Siparunaceae) Against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal od Medical Entomology**, p. 1-9, 2019.

FERREIRA-DE-LIMA, V. H. et al. The Asian Tiger Mosquito in Brazil: observations on biology and ecological interactions since its first detection in 1986. **Acta Tropica**, v. 205, 2020.

FESTER, K. Plant Alkaloids. In: **Encyclopedia of Life Sciences**, John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, 2010.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias Para a Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Plantas Medicinais. Conceitos Sobre Modificação Estrutural Para Otimização da Atividade *. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

FONTOURA, N. G. et al. The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 387-395, 2012.

FORATTINI, Oswaldo Paulo. **Entomologia Médica. 1º volume. Parte Geral, Diptera, Anophelini**. Faculdade de Higiene e Saúde Pública, 1962.

FORATTINI, Oswaldo Paulo. **Culicidologia Médica**. Editora da Universidade de São Paulo, v. 2, p. 1-549, 2002.

FOURNET, F. et al. Effects of Two Insect Growth Regulators on Ecdysteroid Production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 5, p. 588–593, 1995.

FRIDERICI, B. A. The future of microbial insecticides as vector control agentes. **Journal of American Mosquito Control Association**, v. 11, n. 2, p. 260-268, 1995.

FUKUTO, T. R. Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245-254, 1990.

FURTADO, R. F. et al. Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 05, p. 843-847, 2005.

GARCEZ, W. S. et al. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013.

GARCEZ, W. S. et al. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of some plants native to the West-Central region of Brazil. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6647-6650, 2009.

GEORGHIOU, G. P. et al. Potential for Organophosphate Resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean Area and Neighboring Countries. **Journal of Medical Entomology**, v. 24, n. 3, p. 290–294, 1987.

GHOSH, A.; CHOWDHURY, N.; CHANDRA; G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian Journal of Medical Research**, v. 135, n. 5, p. 581-598, 2012.

GHOSH, A; DAR, L. Dengue Vaccines: Challenges, Development, Current Status and Prospects. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 33, n. 01, p. 1-15, 2015.

GLOBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, A. de C. Medidas dos níveis de infestação urbana para aedes (stegomyia) aegypti e aedes (stegomyia) albopictus em Programa de Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 7, n. 3, p. 49-57, 1998.

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunopathological Mechanisms in Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 19, n. 05, p. 429-436, 2006.

GRISALES, N. et al. Temephos Resistance in *Aedes aegypti* in Colombia Compromises Dengue Vector Control. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 9, p. 1-10, 2013.

GUARIDO, Milehna Mara. **Atividade inseticida de extratos de *Annona foetida* Mart. (Annonaceae) sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, 2009.

GULZAR, T. et al. New constituents from the dried fruit of *Piper nigrum* Linn., and their larvicidal potential against the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. **Phytochemistry Letters**, v. 6, n. 2, p. 219-223, 2013.

GUPTA, R. C. **Veterinary Toxicology**. In: ENSLEY, Steve. **Chapter 41 - Pyrethrins and pyrethroids**. Veterinary Toxicology. Basic and Clinical Principles. Academic Press, p. 494-498, 2007.

GUSMÃO, D. S. et al. *Derris (Lonchocarpus) urucu* (Leguminosae) Extract Modifies the Peritrophic Matrix Structure of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 3, p. 371-375, 2002.

HALSTEAD, S. B. Dengue. **Lancet**, v. 370, p. 1644-1652, 2007.

HAN, Y. et al. The relationship of 3-PBA pyrethroids metabolite and male reproductive hormones among non-occupational exposure males. **Chemosphere**, v. 72, n. 5, p. 785-790, 2008.

HARRIS, A. F.; RAJATILEKA, S.; RANSON, H. Pyrethroid Resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 2, p. 277-284, 2010.

HEMINGWAY, J. et al. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 653–665, 2004.

HIDALGO, P. de S. P. et al. Larvicidal Activities against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* of Some Extracts from Amazon Edible Fruits. **Journal of Mosquito Research**, v. 6, n. 28, p. 1-5, 2016.

HIGUERA; A.; RAMÍREZ, J. D. Molecular epidemiology of dengue, yellow fever, Zika and Chikungunya arboviruses: An update. **Acta Tropica**, v. 190, p. 99-111, 2019.

HO, S. H. et al. Meliternatin: a feeding deterrent and larvicidal polyoxygenated flavone from *Melicope subunifoliolata*. **Phytochemistry**, v. 62, n. 7, p. 1121-1124, 2003.

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**, v. 98, n. 2, p. 191-198, 2003.

HORCADA, M. L.; DÍAS-CALDERON, C.; GARRIDO, L. Fiebre Chikungunya. Manifestaciones Reumáticas de una Infección Emergente en Europa. **Reumatología Clínica**, v. 11, n. 03, p. 161-164, 2015.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JOHN, D. V.; LIN, Yee-Shin; PERNG, G. C. Biomarkers of Severe Dengue Disease – a Review. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, p. 1-7, 2015.

JOODE, B. V. W. de et al. Chronic nervous-system effects of long-term occupational exposure to DDT. **The Lancet**, v. 357, n. 9261, p. 1014-1016, 2001.

JORGE, M. P. et al. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 38, n. 3, p. 361-366, 2008.

JÚNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

KABERA, J. N. et al. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 7, p. 377-392, 2014.

KAKARLA, S. G. et al. Temperature Dependent Transmission Potential Model for Chikungunya in India. **Science of The Total Environment**, v. 647, n. 10, p. 66-74, 2019.

KALAYANAROOJ, S. et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 176, p. 313-321, 1997.

KANDASAMY, S.; GHOSH, A. R. Larvicidal activity of prenyl xanthenes from *Garcinia mangostana* against dengue vector. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 3, p. 281-283, 2017.

KANG, S. et al. Toward mosquito control with a green alga: Expression of Cry toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (*Bti*) in the chloroplast of *Chlamydomonas*. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 3, p. 1377-1289, 2017.

KANNATHASAN, K.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Mosquito larvicidal activity of methyl-p-hydroxybenzoate isolated from the leaves of *Vitex trifolia* Linn. **Acta Tropica**, v. 120, p. 115-118, 2011.

KANTOR, I. N. Dengue, Zika y Chikungunya. **Medicina**, v. 76, n. 02, p. 1-5, 2016.

KASAI, S. et al. Mechanisms of Pyrethroid Resistance in the Dengue Mosquito Vector, *Aedes aegypti*: Target Site Insensitivity, Penetration, and Metabolism. **Plos Neglected Tropical Disease**, v. 8, n. 6, p. 1-23, 2014.

KAUFMAN, P. E.; MANN, R. S.; BUTLER, J. Evaluation of semiochemical toxicity to *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* and *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science**, v. 66, n. 5, p. 497-504, 2010.

KAUSHIK, R.; SAINI, P. Screening of some semi-arid region plants for larvicidal activity against *Aedes aegypti* mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 46, p. 244-246, 2009.

KIM, S. J. et al. Comparative effects of dimethylsulfoxide on metabolism and toxicity of carbon tetrachloride and dichloromethane. **Journal of Applied Toxicology**, v. 27, p. 25-31, 2007.

KONGMEE, M. et al. Behavioral Responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Exposed to Deltamethrin and Possible Implications for Disease Control. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 1055–1063, 2004.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. **Biopesticides International**, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.

KOVENDAN, K. et al. Larvicidal activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni) (Family: Rubiaceae) leaf extract against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, and *Aedes aegypti*. **Parasitology Research**, v. 111, n. 4, p. 1481-1490, 2012.

KRZYZANIAH, L. M. et al. Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* and Chemical Characterization of the Inflorescences of *Tagetes patula*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1-8, 2017.

KYARIMPA, C. M. et al. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 400–404, 2014.

LAN, N. T. P. et al. Protective and Enhancing HLA Alleles, HLA-DRB1*0901 and HLA-A*24, for Severe Forms of Dengue Virus Infection, Dengue Hemorrhagic Fever and Dengue Shock Syndrome. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 10, p.1-10, 2008.

LANCEY, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for Mosquito Control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23, p.133-163, 2007.

LARSON, R. T. et al. The Biological Activity of α -Mangostin, a Larvicidal Botanic Mosquito Sterol Carrier Protein-2 Inhibitor. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 2, p. 249-257.

LEVIN, D. A. Alkaloid-Bearing Plants: An Ecogeographic Perspective. **The American Naturalist**, v. 110, n. 972, p. 261-284, 1976.

LEYVA, M. et al. Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. Estado actual de la temática en la región de las Americas. **Revista Biomédica**, v. 28, p. 137-178, 2017.

LIM, S. P. et al. Ten Years of Dengue Drug Discovery: Progress and Prospects. **Antiviral Research**, v. 100, p. 500-519, 2013.

LIM, S. P. Dengue Drug Discovery: Progress, Challenges and Outlook. **Antiviral Research**, v. 163, p. 156-178, 2019.

LIMA, J. B. P.; MELO, N. V. de; VALLE, D. Residual effect of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products assayed against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in laboratory and outdoors at Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 3, p. 125-130, 2005.

LIMA, M. A. A. et al. Evaluation of larvicidal activity of the essential oils of plants species from Brazil against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 55, p. 11716-11720, 2011.

LIMA, J.C.S et al. Anti-inflammatory activity of 4',6,7-trihydroxy-5-methoxyflavone from *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann. **Natural Product Research**, v. 34, n. 5, p. 726-730.

LIU, N. Insecticide Resistance in Mosquitoes: Impact, Mechanisms, and Research Directions. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 537-554, 2015.

LOPES, R. L. et al. Kidney involvement in yellow fever: a review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, p. 1-11, 2019.

LUO, J. Metabolite-based genome-wide association studies in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 24, p. 31-38, 2015.

MA, Chih-Ming et al. Antioxidant capacity, insecticidal ability and heat-oxidation stability of *Tagetes lemmonii* leaf extract. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 151, p. 68-75, 2018.

MÂCEDO, M. E et al. Screening of Asteraceae (Compositae) Plant Extracts for Larvicidal Activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 4, p. 565-570, 1997.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; JR. VEIGA, A. F. Plantas Mediciniais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinar. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MACIEL-DE-FREITAS, R.; CODEÇO, C. T.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Daily Survival Rates and Dispersal of *Aedes aegypti* Females in Rio De Janeiro, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 17, n. 4, p. 659-665.

MAGRINI, Viviane. **Estudo fitoquímico dos extratos de folhas, galhos e cascas do caule de *Calycophyllum spruceanum* Benth para testes de potencial de cosmético funcional**. 2016. 147 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

MAMIDALA, P.; JONES, S. C.; MITTAPALLI, O. Metabolic Resistance in Bed Bugs. **Insects**, v. 2, n. 1, p. 36-48, 2011.

MAGALHÃES, L. A. M. et al. Chemical Composition and Larvicidal Activity against *Aedes aegypti* Larvae of Essential Oils from Four *Guarea* Species. **Molecules**, v. 15, n. 8, p. 5734-5741, 2010.

- MAR, J. M. et al. *Lippia origanoides* essential oil: Na eficiente alternative to control *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. *Industrial Crops & Products*, v. 111, p. 292-297, 2018.
- MARCOMBE, S. et al. Exploring the molecular basis of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti*: a case study in Martinique Island (French West Indies). **BMC Genomics**, v. 10, n. 494, p. 1-14, 2009.
- MARTINEZ, J. D.; GARZA, J. A. C. de la; CUELLAR-BARBOZA, A. Going Viral 2019: Zika, Chikungunya, and Dengue. **Dermatologic Clinics**, v. 37, n. 01, p. 95-105, 2019.
- MARTINS, A. J. et al. Chitin synthesis inhibitor effect on *Aedes aegypti* populations susceptible and resistant to organophosphate temephos. **Pest Management Science**, v. 64, n. 6, p. 676-680, 2008.
- MATEO, L.; ROURE, S. Chronic Arthritis in Chikungunya Virus Infection. **Reumatología Clínica**, v. 15, n. 02, p. 113-116, 2019.
- MATOS, F. J. Abreu. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009.
- McGARVEY, D. J.; CROTEAU, R. Terpenoid Metabolism. **The Plant Cell**, v. 7, p. 1015-1026, 1995.
- McGLYNN, K. A. et al. Serum Concentrations of 1,1,1-Trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane (DDT) and 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) and Risk of Primary Liver Cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 98, n. 14, p. 1005-1010, 2006.
- MEDEIROS, E. da S. et al. Larvicidal activity of clove (*Eugenia caryophyllata*) extracts and eugenol against *Aedes aegypti* and *Anopheles darlingi*. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 8, p. 836-840, 2013.
- MELO-SANTOS, M. A. V. et al. Evaluation of a New Tablet Formulation Based on *Bacillus thuringiensis* sorovar. *israelensis* for Larvicidal Control of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 6, p. 859-860, 2001.
- MENDES, L. A. et al. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 684-689, 2017.
- MENDONÇA, F. A. C. de et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 629-636, 2005.
- METCALF, R. L.; HOROWITZ, Abraham Rami. Insect Control, 2. Individual Insecticides. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, p. 1-94, 2014.
- MICIELI, M. V.; CAMPOS, R. E. Oviposition Activity and Seasonal Pattern of a Population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Subtropical Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 659-663, 2003.

- MIYAZAKI, R. D. et al. Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 392-397, 2009.
- MOLTINI-CONCLOIS, I. et al. Larval Exposure to the Bacterial Insecticide Bti Enhances Dengue Virus Susceptibility of Adult *Aedes aegypti* Mosquitoes. **Insects**, v. 9, n. 4, p. 1-8, 2018.
- MONATH, T. P.; VASCONCELOS, P. F. C. Yellow Fever. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 160-173, 2015.
- MONATH, T. P. Yellow Fever. **Viral Tropical infections**, v. 33, n. 7, p. 21-23, 2005.
- MONATH, T. P. Yellow fever: an update. **The Lancet Infectious Disease**, v. 1, n. 1, p. 11-20, 2001.
- MONDAL, K.A.M.S.H.; PARWEEN, S. Insect growth regulators and their potential in the management of stored-product insect pests. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, p. 255–295, 2000.
- MONGELLI, E.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Investigation of the Larvicidal Activity of *Pothomorphe peltata* and Isolation of the Active **Constituent**. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. S71-S72, 2002.
- MONTEIRO, F. J. C.; CARVALHO, J. C. T.; SOUTO, R. N. P. Distribuição da Oviposição e Dinâmica Temporal do *Aedes aegypti* (Linnaeus) por Meio de Ovitrapas. **EntomoBrasilis**, v. 7, n. 3, p. 188-192, 2014.
- MORAIS, S. M. de et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 670-675, 2007.
- MORRISON, A. C. et al. Defining Challenges and Proposing Solutions for Control of the Virus Vector *Aedes aegypti*. **Plos Medicine**, v. 5, n. 3, p. 362-366, 2008.
- MUNUSAMY, R. G. et al. Ovicidal and larvicidal activities of some plant extracts against *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 6, n. 6, p. 468-471, 2016.
- MURHEKAR, M. et al. Epidemiology of Dengue Fever in India, Based on Laboratory Surveillance Data, 2014–2017. **International Journal of Infectious Diseases**, p. 1-5, 2019.
- MURUGAN, K. et al. Larvicidal, pupicidal, repellent and adulticidal activity of *Citrus sinensis* orange peel extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 111, p. 1757-1769, 2012.
- MUSAU, J. K. et al. Phytochemical composition and larvicidal properties of plants used for mosquito control in Kwale County, Kenya. **International Journal of Mosquito Research**, v. 3, n. 3, p. 12-17, 2016.

NARAHASHI, T. et al. Sodium and GABA-activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. **Toxicology Letters**, v. 64-65, p. 429-436, 1992.

NARCISO, J. O. A. et al. Burchellin: study of bioactivity against *Aedes aegypti*. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 172, p. 1-10, 2014.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 6557, Isoprene**. Disponível: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Isoprene>. Acesso em: 11 de outubro de 2020a.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 129010093**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/129010093>>. Acesso em: 11 de outubro 2020b.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 122173182, Proanthocyanidins**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Proanthocyanidins>>. Acesso em: 11 de outubro de 2020c.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 89594, Nicotine**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine>>. Acessado em: 11 de outubro de 2020d.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 3034034, Quinine**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chinin>>. Acesso em: 11 de outubro de 2020e.

NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKON, A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, p. 1797-1806, 2008.

NHI, D. M. et al. A Proteomic Approach Identifies Candidate Early Biomarkers to Predict Severe Dengue in Children. **Plos Neglected Tropical Diseases**, p. 1-15, 2016.

NIKKON, F. et al. *Tagetes erecta* Linn. and its mosquitocidal potency against *Culex quinquefasciatus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, p. 186-188, 2011.

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, p. 407-416, 2013.

NORIEGA, F. G. Nutritional regulation of JH synthesis: a mechanism to control reproductive maturation in mosquitoes?. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, p. 687-693, 2004.

NUNES, F. C. et al. The larvicidal activity of *Agave sisalana* against L4 larvae of *Aedes aegypti* is mediated by internal necrosis and inhibition of nitric oxide production. **Parasitology Research**, v. 114, p. 543-549, 2015.

NUNES, M. R. T. et al. Evaluation of two molecular methods for the detection of Yellow fever virus genome. **Journal of Virological Methods**, v. 174, n. 1-2, p. 29-34, 2011.

NUNES, L. dos S.; TRINDADE, R. B. R.; SOUTO, R. N. P. Avaliação da atratividade de ovitrampas a *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linneus (Diptera: Culicidae) no bairro Hospitalidade, Santana, Amapá. **Biota Amazônica**, v. 1, n. 1, p. 26-31, 2011.

OLIVEIRA, J. A. de et al. Toxicity of Hexanic And Methanolic Fractions from *Copaifera Reticulata* Ducke (Leguminosae –Caesalpinoidea) Against *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera – Culicidae), In Field Assays. **Revista de Patologia Tropical**, v. 45, n. 2, p. 77-85, 2016.

OLIVEIRA, P. V. et al. Larvicidal activity of 94 extracts from ten plant species of northeastern of Brazil against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 107, n. 2, p. 403-407, 2010.

OLIVEIRA, L. H. de et al. *Agave sisalana* extract induces cell death in *Aedes aegypti* hemocytes increasing nitric oxide production. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 396-399, 2016.

OMS. Resistencia de los Vectores de Enfermedades a los Plaguicidas. **Organización Mundial de la Salud**, p. 1-72, 1992.

OWOYALE, J. A.; OLATUNJI, G. A.; OGUNTOYE, S. O. Antifungal and Antibacterial Activities of na Alcoholic Extract of *Senna alata* Leaves. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 9, n. 3, p. 105-107, 2005.

PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 5, p. 115-119, 2014.

PAIXÃO, G. M. M. et al. Cardiac Involvement by Yellow Fever (from the PROVAR+ Study). **The American Journal of Cardiology**, v. 123, n. 5, p. 833-838, 2019.

PARIS, M.; DAVID, Jean-Philippe; DESPRES, L. Fitness costs of resistance to *Bti* toxins in the dengue vector *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 6, p. 1184-1194, 2011.

PARK, Il-Kwon et al. Larvicidal Activity of Isobutylamides Identified in *Piper nigrum* Fruits against Three Mosquito Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 7, p. 1866-1870, 2002.

PAUPY, C. et al. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 14-15, p. 1177-1185, 2009.

PAVELA, R. History, Presence and Perspective of Using Plant Extracts as Commercial Botanical Insecticides and Farm Products for Protection against Insects – a Review. **Plant Protection Science**, v. 52, n. 4, p. 229-241, 2016.

PERICH, M. J. et al. Toxicity of Extracts from Three *Tagetes* Against Adults and Larvae of Yellow fever Mosquito and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 31, n. 6, p. 833–837, 1994.

PERICH, M. J. et al. Isolation of the insecticidal components of *Tagetes minuta* (compositae) against mosquito larvae and adults. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 11, n. 3, p. 307-310, 1995.

PINTO, A. C. da S. et al. Adulticidal Activity of Dillapiol and Semi-synthetic Derivatives of Dillapiol against *Aedes aegypti* (L.) (Culicidae). *Journal of Mosquito Research*, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2012.

POLSON, K. A. et al. Characterization of insecticide resistance in Trinidadian strains of *Aedes aegypti* mosquitoes. **Acta Tropica**, v. 117, n. 1, p. 31-38, 2011.

POHLIT, A. M. et al. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae. **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1p. 97-105, 2004.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. de O.; ALVES, S. B. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 6, p. 813-816, 2003.

POLITI, F. A. S. et al. Insecticidal activity of an essential oil of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) on common bed bug *Cimex lectularius* L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of ClAChE1. **Parasitology Research**, v. 116, n. 1, p. 415-424, 2017.

POTENZA, M. R. Produtos Naturais Para o Controle de Pragas. In: X REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2004. Mococa. **Anais da X Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico – Café**. Mococa: Instituto Biológico, 2004, p. 89-100.

POWELL, J. R. Genetic Variation in Insect Vectors: Death of Typology? **Insects**, v. 09, nº. 04, p. 1-15, 2018.

QUEIROZ, M. L. S.; FERNANDES, M. D.; VALADARES, M. C. Neutrophil function in workers exposed to organophosphate and carbamate insecticides. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 21, n. 4, p. 263-270, 1999.

RAFAEL, M. S. et al. Potential control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 3, p. 772-781, 2008.

RAHUMAN, A. A. et al. Larvicidal activity of some Euphorbiaceae plant extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 102, p. 867-873, 2008.

RAHUMAN, A. A.; VENKATESAN, P. Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. **Parasitology Research**, v. 203, p. 133-139, 2008.

RAIHAN, S. M. A. Effect of Plant Flavonoids on Mosquito Larvae. **National University Journal of Science**, v. 1, n. 2, p. 27-30, 2014.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913-920, 2010.

REED, W. et al. The etiology of yellow fever - a preliminar note. **Public Health Papers And Reports**, v. 26, p. 37-53, 1900.

REIS, C. A. dos et al. An Approach of the Exact Linearization Techniques to Analysis of Population Dynamics of the Mosquito *Aedes aegypti*. **Mathematical Biosciences**, v. 299, p. 51-57, 2018.

RIAZ, M. A. et al. Molecular mechanisms associated with increased tolerance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the dengue vector *Aedes aegypti*. **Aquatic Toxicology**, v. 126, p. 326-337, 2013.

RIBEIRO, M.; ANTUNES, C. M. de F. Febre Amarela: estudo de um surto. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 5, p. 523-531, 2009.

RIGAU-PÉREZ, J. et al. Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. **The Lancet**, v. 352, n. 9132, p. 991-997, 1998.

RÍOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 61, p. 307-311, 2017.

RITCHIE, S. A.; RAPLEY, L. A.; BENJAMIN, S. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) Provides Residual Control of *Aedes aegypti* in Small Containers. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 6, p. 1053-1059, 2010.

RIVERO, A. et al. Insecticide Control of Vector-Borne Diseases: When Is Insecticide Resistance a Problem?. **Plos Pathogens**, v. 6, n. 8, p. 1-9, 2010.

ROBINSON, M. C. An Epidemic of Virus Disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 01, p. 28-32, 1955.

RODRIGUES, A. M. S. et al. Larvicidal Activity Of Some Cerrado Plant Extracts Against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 2, p. 314-317, 2006.

RODRIGUES, T. S. et al. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 587-590, 2017.

RODRIGUÉZ, M. M.; BISSET, J. A.; FERNÁNDEZ, D. Levels Of Insecticide Resistance And Resistance Mechanisms In *Aedes aegypti* From Some Latin American Countries. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23, n. 4, p. 420-429, 2007.

ROMERO, A.; POTTER, M. F.; HAYNES, K. F. Behavioral Responses of the Bed Bug to Insecticide Residues. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 1, p. 51-57, 2009.

ROSE, A.; SEKHAR, A. Bioethics of Establishing a CHIM Model for Dengue Vaccine Development. **International Journal of Infectious Diseases**, p. 1-6, 2019.

ROZENDAAL, J. A.; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Vector control: methods for use by individuals and communities. **World Health Organization**, p. 1-409, 1997.

RÜCKERT, C. et al. Impact of simultaneous exposure to arboviroses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. **Nature Communications**, v. 8, p. 1-9, 2017.

SÁ, E. L. R. de et al. Evaluation of insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations connected by roads and rivers: the case of Tocantins state in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, n. 180318, p. 1-10, 2019.

SÁ, J. C. de et al. Leishmanicidal, cytotoxicity and wound healing potential of *Arrabidaea chica* Verlot. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2010.

SAFONI. Sanofi Updates Information on Dengue Vaccine. Disponível em: <https://mediaroom.sanofi.com/en/press-releases/2017/sanofi-updates-information-on-dengue-vaccine/>. Acesso em: 13 de fevereiro de 2019.

SAKTHIVADIVEL, M.; DANIEL, T. Evaluation of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. **Applied Entomology and Zoology**, v. 43, n. 1, p. 57-63, 2008.

SALDA, L. T. D. et al. Molecular Epidemiology of Dengue 2 Viruses in the Philippines: Genotype Shift and Local Evolution. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 04, p. 796-802, 2005.

SANTANA, H. T. et al. Essential oils of leaves of Piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 105-111, 2015.

SANTIAGO, G. M. P. et al. Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) of Essential Oils of *Lippia* Species from Brazil. **Natural Product and Communications**, v. 1, n. 7, p. 573-576, 2006.

SANTOS, A. C. V. et al. Inseticidal Oils From Amazon Plants In Control Of Fall Armyworm. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 3, p. 642-647, 2016.

SATOTO, T. B. T. et al. Insecticide resistance in *Aedes aegypti*: An impact from human urbanization? **Plos One**, v. 19, n. 6, p. 1-13, 2019.

SCALVENZI, L. et al. Larvicidal activity of *Ocimum campechianum*, *Ocotea quixos* and *Piper aduncum* essential oils against *Aedes aegypti*. **Parasite**, v. 26, n. 23, p. 1-8, 2019.

SCHIOZER, A. L. et al. Exploratory Analysis of *Arrabidaea chica* Deoxyanthocyanidins Using Chemometric Methods. **Analytical Letters**, v. 41, n. 9, p. 1592-1602, 2008.

SCHNEPF, E. et al. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 775-806, 1998.

SCHULER-FACCINI, L. et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly — Brazil, 2015. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 3, p. 59-62, 2016.

SECCACINI, E. et al. Effectiveness of Pyriproxyfen and Diflubenzuron Formulations as Larvicides Against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 24, n. 3, p. 398-403, 2008.

SEVERSON, D. W. et al. Molecular Mapping of Insecticide Resistance Genes in the Yellow Fever Mosquito (*Aedes aegypti*). **The Journal of Heredity**, v. 88, n. 6, p. 520-524, 1997.

SHAALAN, E. Abdel-Salam et al. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1149-1166, 2005.

SIHUINCHA, M. et al. Potential Use of Pyriproxyfen for Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Perú. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 4, 1 p. 620–630, 2005.

SILVA, H. H. G. da et al. Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinoideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 3, p. 264-267, 2007.

SILVA, H. H. G. da et al. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 5, p. 396-399, 2004.

SILVA, Heloisa Helena Garcia da Silva. **Atividade larvicida e caracterização molecular dos princípios ativos de *Magonia pubescens* St.Hil. (Sapindaceae) e de *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae), visando ao controle de *Aedes aegypti***. 79f. 2004. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004b.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SIMAS, N. K. et al. Potential use of *Piper nigrum* ethanol extract against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* larvae. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 4, p. 405-407, 2007.

SIMMONS, C. P. et al. Dengue. **The New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 15, p. 1423-1432, 2012.

SINGH, A.; JAIN, R. Neurological Manifestations of Chikungunya in Children. **Indian Pediatrics**, v. 54, p. 249, 2017.

SMITH, L. B.; KASAI, S.; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 1-12, 2016.

SONDERLUND, D. M.; KNIPPLE, D. C. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, p. 563–577, 2003.

SOUTO, R. N. et al. Insecticidal Activity of Piper Essential Oils from the Amazon Against the Fire Ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 510-517, 2012.

SOUZA, K. S. et al. Atividade biológica de extratos, hidrolatos e óleos voláteis de pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) e quantificação do linalol no hidrolato de folhas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 2007.

SPINDOLA, K. C. V. W. et al. *Dendranthema grandiflorum*, a hybrid ornamental plant, is a source of larvicidal compounds against *Aedes aegypti* larvae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, p. 342-346, 2016.

SU, T. et al. Susceptibility Profile of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) from Montclair, California, to Commonly Used Pesticides, With Note on Resistance to Pyriproxyfen. **Journal of Medical Entomology**, v. 56, n. 4, p. 1047–1054, 2019.

SUN, L. et al. Larvicidal Activity of Extracts of *Ginkgo biloba* Exocarp for Three Different Strains of *Culex pipiens pallens*. **Journal of Medical Entomology**, v. 43, n. 2, p. 258-261, 2006.

TAKSHAK, S.; AGRAWAL, S. B. Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 193, p. 51-88, 2019.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867-871, 2002.

TELES, R. de M.; FILHO, V. E. M.; SOUZA, A. G. de et al. Chemical Characterization and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Aniba duckei* Kostermans against *Aedes aegypti*. **International Journal of Life-Sciences Scientific Research**, v. 3, n. 6, p. 1495-1499, 2017.

THEIS, N.; LERDAU, M. The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, n. S3, p. S93-S102, 2003.

THOLL, D. **Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants**. In: Schrader J., Bohlmann J. (eds) *Biotechnology of Isoprenoids. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 46, p. 63-106, 2015.

THOMPSON, M.; SHOTKOSKI, F.; FFRENCH-CONSTANT, R. Cloning and sequencing of the cyclodiene insecticide resistance gene from the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Conservation of the gene and resistance associated mutation with *Drosophila*. **FEBS Letters**, v. 325, n. 3, p. 87-190, 1993.

TORRES, J. R. et al. Congenital and Perinatal Complications of Chikungunya Fever: a Latin American Experience. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 51, p. 85-88, 2016.

TORRES, R. C.; GARBO, A. G.; WALDE, R. Z. M. L. Larvicidal activity of *Persea americana* Mill. against *Aedes aegypti*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, p. S167-S170, 2014.

TORRES, C. A. et al. In vitro antioxidant, antilipoxygenase and antimicrobial activities of extracts from seven climbing plants belonging to the Bignoniaceae. **Journal of Integrative Medicine**, v. 16, n. 4, p. 255-262, 2018.

TRINDADE, F. T. T. et al. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 3, p. 464-470, 2013.

TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 28, p. 377-387, 2004.

URDANETA-MARQUES, L.; FAILLOUX, Anna-Bella. Population genetic structure of *Aedes aegypti*, the principal vector of dengue viroses. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, p. 253-261, 2011.

VACHON, V.; LAPRADE, R.; SCHWARTZ, Jean-Louis. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, p. 1-12, 2012.

VALDEZ, L. D.; SIBONA, G. J.; CONDAT, C. A. Impact of rainfall on *Aedes aegypti* populations. **Ecological Modelling**, v. 385, p. 96-105, 2018.

VALOTTO, C. F. B. et al. Alterações Morfo-Histológicas em Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) Causadas pelos Taninos Catéquicos isolados da Planta do Cerrado *Magonia pubescens* (Sapindaceae). **Revista de Patologia Tropical**, v. 39, n. 4, p. 309-321, 2010.

VANNICE, K. S. et al. Clinical Development and Regulatory Points for Consideration for Second-Generation Live Attenuated Dengue Vaccines. **Vaccine**, v. 36, n. 24, p. 3411-3417, 2018.

VAREJÃO, J. B. M. et al. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na Cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 238-240, 2005.

VASCONCELOS, P. F. da C. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 244-258, 2002.

VASCONCELOS, P. F. da C. Febre Amarela. **Revista da Sociedade de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 275-293, 2003.

VASCONCELOS, P. Yellow Fever. **International Journal of Infectious Disease**, v. 73, p. 79, 2018.

- VELMURUGAN, G. et al. Gut microbial degradation of organophosphate insecticides-induces glucose intolerance via gluconeogenesis. **Genome Biology**, v. 18, n. 8, 2017.
- VERA, S. S. et al. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 113, n. 7, p. 2647-2654, 2014.
- VIANA-MEDEIROS, P. F. et al. Insecticide resistance, associated mechanisms and fitness aspects in two Brazilian *Stegomyia aegypti* (= *Aedes aegypti*) populations. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, p. 340-350, 2017.
- VIDAL, J. et al. Efecto tóxico de *Argemone subfusiformis* Ownb. y *Tagetes patula* Link sobre larvas del IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L. **Revista Peruana de Biología**, v. 15, n. 2, p. 103-109, 2009.
- VIEIRA, V. et al. Liver Transplantation for Acute Liver Failure due to Yellow Fever: A Case Report. **Transplantation Proceedings**, v. 51, n. 5, p. 1625-1628, 2019.
- VIMALADEVI, S. et al. Mosquito larvicidal efficacy of phenolic acids of seaweed *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kuetz. against *Aedes aegypti*. **Biologia**, v. 67, n. 1, p. 212-216, 2012.
- VIOLANTE, I. M. P. et al. Cytotoxicity and antibacterial activity of scutellarein and carajurone-enriched fraction obtained from the hydroethanolic extract of the leaves of *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G. Lohmann. **Natural Product Research**, p. 1-7, 2020.
- VONTAS, J. et al. Insecticide resistance in the major dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 22, p. 126-131, 2012.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue guidelines treatment, prevention and control. Geneva, **World Health Organization**, p. 1-147, 2009.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue Vaccine: WHO Position Paper – July 2016. **Weekly Epidemiological Record**, n. 30, p. 349-364, 2016.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines For Laboratory And Field Testing Of Mosquito Larvicides. **World Health Organization**, p. 1-39, 2005.
- WILDER-SMITH, A. et al. Dengue. **The Lancet**, v. 393, n. 10169, p. 350-363, 2019.
- YANG, Young-Cheol et al. A Piperidine Amide Extracted from *Piper longum* L. Fruit Shows Activity against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 3765-3767, 2002.
- ZAYNAB, M. et al. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 198-202, 2018.
- ZEIDLER, J. D. et al. Vírus dengue em larvas de *Aedes aegypti* e sua dinâmica de infestação, Roraima, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. 6, p. 986-991, 2008.

ZORN, B. et al. 3-Desoxianocianidinas de *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, 2001.

APÊNDICE A

Capítulo de livro intitulado “Zika Vírus: dos aspectos epidemiológicos ao tratamento” publicado no livro “Saúde da criança e do adolescente: epidemiologia, doenças infecciosas e parasitárias” pela Editora Stricto Sensu

SANTOS, E. C. N et al. Zika Vírus: dos aspectos epidemiológicos ao tratamento. In: Cesar, D. J. et al. **Saúde da criança e do adolescente: epidemiologia, doenças infecciosas e parasitárias**. Rio Branco: Stricto Sensu, 2019. 88-106 p.

CAPÍTULO 6



ZIKA VÍRUS: DOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS AO TRATAMENTO

Ellen Caroline Nobre Santos¹, Genilda de Andrade Barbosa¹, Polinar Bandeira Rufino², Andson Amorim Lima³, Taynara Lopes de Araújo³, Emmerson Corrêa Brasil da Costa^{1,2,4}

1. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciência Inovação e Tecnologia Para a Amazônia, Rio Branco, Acre, Brasil;
2. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde, Rio Branco, Acre, Brasil;
3. Universidade Federal do Acre (UFAC), Centro de Ciências de Ciências Biológicas e da Natureza (CCBN), Rio Branco, Acre, Brasil.
4. Universidade Federal do Acre (UFAC), Centro de Ciências da Saúde e do Desporto (CCSD), Rio Branco, Acre, Brasil.

RESUMO

Zika é uma arbovirose que se destacou mundialmente pelas ocorrências de síndrome de Guillain-Barré e microcefalias, tornando um grande problema para saúde pública no Brasil e ao redor do mundo. O objetivo desse estudo foi abordar os aspectos epidemiológicos, estrutura do vírus, ciclo viral, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento. A doença teve seu primeiro relato em 1947 em macacos rhesus e em 1954 foi relatado em humanos, e a partir de 2007 obteve notoriedade em surtos acarretando complicações em adultos e recém-nascidos, inclusive no Brasil. A sintomatologia geralmente apresenta erupções cutâneas, febre moderada, cefaleia, mialgia, conjuntivite e artralgia. No entanto, pode acometer anomalias, desde o sistema nervoso central ao sistema reprodutor. O seu diagnóstico se estende aos testes sorológicos e moleculares, mas, pesquisas têm sido realizadas para evitar interferências e diagnósticos errôneos. Não há tratamento específico, entretanto, estudos apontam que determinados medicamentos comerciais para outras patologias poderão ser utilizados para minimizar o quadro clínico, assim como há busca por novos fármacos.

Palavras-chave: Arbovírus, microcefalia e saúde pública.

ABSTRACT

Zika virus is an arbovirus that stood out due to the occurrences of Guillain-Barré syndrome and microcephaly, becoming a major public health problem in Brazil and worldwide. The aim of this review was to evaluate the epidemiological profile, virus structure and cycle, clinical manifestations, diagnosis and treatment. The zika virus was first reported in 1947 in rhesus monkeys, and was reported in humans in 1954. Since 2007, the zika virus has gained

notoriety due to the outbreaks in adults and newborns, including in Brazil. The symptomatology of zika virus infection usually presents as a pruritic rash, low-grade fever, headache, myalgia, conjunctivitis and moderate arthralgia. However, it may cause anomalies in central nervous systems until reproductive system. The zika virus diagnosis is done through serological test and nucleic acid tests, but researches have been carried out to avoid misdiagnosis and other interferences. There is no specific treatment, however, studies demonstrated that commercial drugs for other pathologies may be used to minimize the clinical manifestations and as well as there are searches for new drugs.

Keywords: Arbovirus, microcephaly and public health.

1. INTRODUÇÃO

As principais arboviroses circulantes no Brasil, como Dengue, Zika e Chikungunya são doenças virais transmitidas principalmente pelo *Aedes aegypti*. (FIGUEIREDO, 2007; MUSSO; CAO-LORMEAU; GUBLER, 2015). Além desse artrópode, outras espécies do mesmo gênero já foram relatadas como transmissoras de zika, como *A. africanus*, *A. luteocephalus*, *A. furcifer*, *A. taylori* e *A. albopictus* (WONG et al., 2013; DIALLO et al., 2014).

O zika vírus (ZIKV) por muito tempo não era preocupante para saúde pública, pois os sintomas não eram graves (CHAN et al., 2016). Entretanto, surgiram casos de síndrome de Guillain-Barré na Polinésia Francesa e microcefalias no Brasil (CAO-LORMEAU et al., 2016; SCHULER-FACCINI et al., 2016). E com essas ocorrências, a Organização Mundial de Saúde declarou estado de emergência (WHO, 2019). Para elucidar as características dessa arbovirose, este trabalho tem como objetivo abordar os aspectos epidemiológicos, estrutura do vírus, ciclo viral, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA NO MUNDO

A zika teve seu primeiro relato em 1947, na floresta chamada Zika em Uganda, na qual foi encontrado o vírus em macaco rhesus (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). E em 1954 foi relatado homens infectados pelo vírus (MACNAMARA, 1954). Todavia, ocorrências

da doença eram eventuais no continente africano e asiático (POND, 1963; MOORE et al., 1975; OLSON et al., 1981).

Relatos na literatura, revela que o primeiro surto aconteceu no ano de 2007 em Yap Island, Estados Federados da Micronésia (DUFFY et al., 2009). E o segundo, aconteceu na Polinésia Francesa em 2013 (CAO-LORMEAU et al., 2014), onde verificou ocorrência de síndrome de Guillain-Barré em 42 pacientes após a infecção com o Zika vírus (CAO-LORMEAU et al., 2016). Em New Coledonia foram notificados os primeiros casos da doença em 2013, e no ano seguinte 2014 foi anunciado estado de surto, onde foram confirmados 1.385 casos de infecções por zika vírus (DUPONT-ROUZEYROL et al., 2015).

Na América, o primeiro registro ocorreu no Chile na Ilha de Páscoa em 2014 e propagou para a América Latina (DYER, 2015; TOGNARELLI et al., 2016). Os países americanos que constataram o vírus foram: Brasil (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015), Colômbia e Suriname (ENFISSI et al., 2016), Porto Rico (THOMAS et al., 2016), Equador (ZAMBRANO et al., 2016), Estados Unidos (LIKOS et al., 2016), Haiti (LEDNICKY et al., 2016), México, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá, Cuba, República Dominicana, Guiana Francesa, Guadalupe, Haiti, Martinique, São Bartolomeu, Ilha de São Martinho, Bolívia, Venezuela, Argentina, Peru, Paraguai, Anguilla, Antígua e Barbuda, Aruba, Bahamas, Barbados, Bonaire, Ilhas de Cayman, Curaçao, Dominica, Granada, Guiana, Jamaica, Santa Lúcia, São Vicente e Granadinas, Trindade e Tobago, Turks e Caicos (PAHO, 2016).

No continente europeu, as incidências de zika foram relacionadas pessoas que teriam viajado para áreas endêmicas (TAPPE et al., 2014; ZAMMARCHI et al., 2015).

2.2 EPIDEMIOLOGIA NO BRASIL

Em 2015, houve uma onda de surtos de zika no Brasil, principalmente na região Nordeste, como os estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Maranhão, Paraíba, Piauí, Alagoas e Ceará, mas outras regiões foram afetadas, tais como Norte e Sudeste, como Pará, Roraima e São Paulo (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015; FREITAS et al., 2016; MELO et al., 2016).

Porém, surgiram ocorrência de microcefalia em bebês nascidos onde as mães moravam em territórios atingidos pelo surto ou tinham percorrido para regiões que possuía a presença do vírus (SCHULER-FACCINI et al., 2016). Devido a esse fato, o governo

brasileiro passou a considerar como doença de notificação compulsória de acordo com a Portaria de Consolidação nº. 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019). Como demonstra a **Figura 1**, o número de casos prováveis de febre pelo vírus da zika no país nos últimos três anos (BRASIL, 2018; BRASIL, 2019).

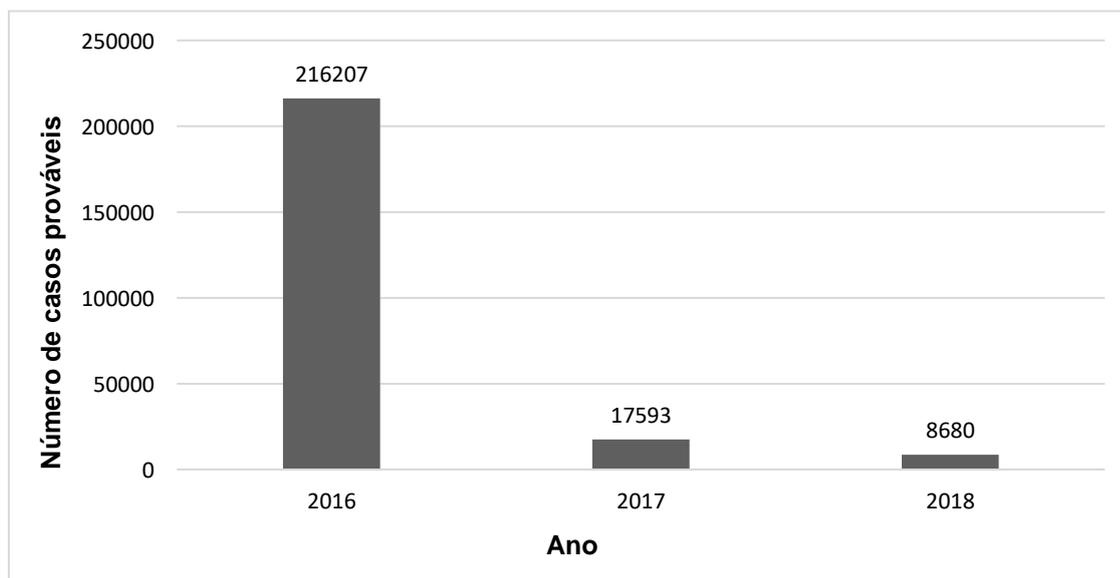


Figura 1. Número de casos prováveis de febre pelo vírus da zika no Brasil segundo o Ministério da Saúde entre 2016 a 2018.

Entretanto, antes de surgir o surto no Brasil, já havia indivíduos contaminados com o vírus da zika, como aponta um estudo ao analisar soros congelados do ano de 2013 de pacientes da cidade de Rio Janeiro, em que verificaram a presença do vírus em 21 amostras (PASSOS et al., 2017).

Existem diversas teorias que abordam a introdução do zika vírus no Brasil, a partir de eventos esportivos, em virtude do aumento de visitantes no país, como no período da Copa do Mundo de 2014 (ZANLUCA et al. 2015), a corrida de canoagem Va'a World Sprint Championship em 2014 no Rio de Janeiro (MUSSO, 2015a) ou na Copa das Confederações em 2013 (FARIA et al., 2013). Porém, a teoria que a entrada do vírus no país seria no período da Copa do Mundo não foi sustentada em razão dos países epidêmicos não participaram do evento (PETERSEN et al., 2016a).

No entanto, a pesquisa realizada sobre a possível trajetória do vírus para entrada na América do Sul, indica que o caminho percorrido foi da Ásia e para Oceania, em seguida, para América Central e Caribe, especificamente Haiti (CAMPOS et al., 2018), na qual foi detectado em 2014 indivíduos infectados pelo zika antes do surto que ocorreu no Brasil

(RAWLINSON et al., 2014; LEDNICKY et al., 2016). Vale ressaltar que na análise filogenética das cepas do zika no Haiti e Brasil apresentaram similaridade, porém, os estudos sugerem que as infecções pelo Zika, em ambos os países, podem ser importadas diretamente da Polinésia Francesa, pois no Haiti não dispunha de alta capacidade viral para introdução do vírus no Brasil em 2014 (MASSAD et al., 2017), além disso, entre maio e dezembro de 2013 coincide com o aumento das viagens de brasileiros para áreas endêmicas e com surtos do vírus da zika no Oceano Pacífico (FARIAS et al., 2016).

2.3 ESTRUTURA DO VÍRUS E CICLO VIRAL

O zika vírus pertencente à família Flaviviridae, é constituído por uma fita simples de RNA de polaridade positiva, possui uma região de leitura aberta (*Open Reading Frame* - ORF) contendo 10.272 nucleotídeos e uma região não codificadora em 5' (5'UTR) composta por uma estrutura cap 5' metilada e na região 3'(UTR) não apresenta cauda poli (A), terminando com CU_{OH} (YUN et al., 2016; GÖERTZ et al., 2018; OESER; LADHANI, 2019).

A região de leitura aberta codifica uma poliproteína em que resulta, a pós-tradução, em três proteínas estruturais (C, prM e E) e sete não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) (YUN et al., 2016; MAY; RELICH, 2016; KHONGWICHIT et al, 2018; MAJEROVÁ et al., 2019).

Por meio do repasto sanguíneo do mosquito, o vírus da Zika infecta as células da pele, como os fibroblastos, queratinócitos e dendríticos imaturos (HAMEL et al, 2015; PLOURDE; BLOCH, 2016), onde penetra por meio de receptores celulares presentes nas superfícies das células, tais como DC-SIGN, AXL, Tyro-3, na qual se ligam com proteína E, resultando na interiorização do vírus na célula do hospedeiro (PERERA-LEICON et al., 2014; HAMEL et al, 2015; RELICH; LOEFFELHOLZ, 2017). A proteína E na sua forma de monômero possui três domínios denominados de DI, DII e DIII. O domínio DI age como ponte entre os domínios DII e DIII, em que DII contém o *loop* de fusão que é inserido na membrana do endossomo da célula do hospedeiro, e DIII possuem sítios de ligação com receptor das células hospedeiras (LIN et al., 2018; BARZON et al., 2016a). As articulações de DI-DIII são importantes para exibição dos *loops* de fusão contidas na DII (KOSTYUCHENKO et al., 2016). Para infecção do vírus na célula, modificações na proteína E são importantes para que a proteína E na forma de dímeros se transforma em trímeros para que tenha estabilidade (STIASNY et al., 2001; ZHANG et al., 2016). Além disso, na

forma de trímeros, o domínio DIII sofre mudanças na sua configuração, dessa forma, ocorre a união do vírus da zika com a membrana do endossomo (ZHANG et al., 2016).

Com a internalização do vírus na célula hospedeira, em seguida, ocorre a liberação do RNA viral no citoplasma da célula, que usará a maquinaria de tradução da célula hospedeira para tradução da poliproteína nos ribossomos do retículo endoplasmático (HODGE et al., 2019; LEE et al., 2019). Essa poliproteína será clivada pelas proteases do hospedeiro e a NS3 protease viral, permitindo a obtenção das proteínas estruturais e as proteínas não estruturais (LEI et al., 2016).

Em relação as proteínas não estruturais, as NS1, NS3 e NS5, são as proteínas que apresentam funções conhecidas bem definidas entre os flavivírus. As proteínas não estruturais estão envolvidas na resposta do sistema imune inato, no processo de replicação, incluindo o encapsulamento (DAVIDSON, 2009; SIROHI et al., 2016). Uma vez que a proteína NS1 está envolvida na replicação viral e na fuga viral do sistema imune do hospedeiro, inclusive células infectadas pelo zika vírus liberam a proteína na conformação de hexâmeros servindo como marcador de diagnóstico (HILGENFELD, 2016). A NS3 é uma proteína multifuncional em que na porção N-terminal possui o domínio protease (NS3Pro) que cliva a poliproteína viral, para formação do complexo de replicação e a estrutura do vírus; e o domínio C-terminal compreende as atividades RNA trifosfatase (NS3RTPase), envolvida no capeamento do RNA viral na 5'cap e da RNA helicase (NS3Hel) atuando na síntese do RNA viral (BOLLATI et al., 2010). Já a proteína NS5 possui no domínio N-terminal a metiltransferase (NS5MTase) que atua promovendo a metilação da 5'cap do RNA viral e o domínio de RNA polimerase dependente de RNA no domínio C-terminal (NS5RdRp) que atua na síntese na nova fita de RNA viral (BOLLATI et al., 2010; ZHAO et al., 2017).

Entretanto, o processo de replicação e as etapas seguintes ocorrem em seções distintas, para que não haja intervenção no ciclo viral (PAUL; BARTENSCHLAGER, 2013). No caso da replicação viral, acontece nos pacotes de vesículas, no retículo endoplasmático, em que são compostas pelas proteínas virais não estruturais e as proteínas do hospedeiro ligados à membrana, denominadas de complexo de replicação (DAVIDSON, 2009; SELISKO et al., 2014; SHAILY; UPADHYA, 2019).

Esse RNA recém-sintetizado será envolvido pela proteína C, que forma o capsídeo viral, e no lúmen do retículo endoplasmático adquirem as proteínas E e prM (BARZON et al., 2016a; SAIZ et al., 2016; HASAN et al., 2018). As proteínas E e prM constituem o envelope do vírus (KOSTYUCHENKO et al., 2016; HU; SU, 2019) e produz os vírus

imaturos, que serão encaminhados, por meios das vias de secreções celulares, para rede de *trans*-Golgi (BARZON et al., 2016a; SAIZ et al., 2016; HEINZ; STIASNY, 2017). Estudos demonstram que na formação do vírus na rede *trans*-Golgi, a prM é clivada em peptídeo pr e proteína M por protease da célula hospedeira. Com essa clivagem o vírus que se encontra na forma imatura na célula, com o peptídeo pr da proteína prM protegendo o *loop* de fusão da proteína E, torna-se num vírus maturo, com a exposição do *loop* de fusão (SIROHI et al., 2016). Já a proteína M fica encoberto pela proteína E, visto que esta última está envolvida na ligação e união com o receptor da célula hospedeiro (KOSTYUCHENKO et al., 2016), e internamente, o vírus é constituído pela proteína C e o material genético (MARTÍN-ACEBES; VÁSQUEZ-CALVO; SAIZ, 2016). No formato icosaédrico, o vírus da zika será liberado para o meio extracelular por meio da via secretora celular (KOSTYUCHENKO et al., 2016; LIU et al., 2018).

Estudos já detectaram presença do vírus ZIKV no líquido amniótico (CALVET et al., 2016), tecido cerebral do feto, placenta, membranas fetais, cordão umbilical (DRIGGERS et al., 2016), urina (GOURINAT et al., 2015; KORHONEN et al., 2016), saliva (MUSSO et al., 2015b), sangue total de doações sanguíneas (MAGNUS et al., 2018), soro (KORHONEN et al., 2016), mucosa anorretal (BÔTTO-MENEZES et al., 2019), secreção vaginal (MURRAY et al., 2017) e sêmen (MUSSO et al., 2015c). E este último, sugerindo que ocorra transmissão do vírus mediante a relação sexual (FOY et al. 2001; MUSSO et al., 2015c; VENTURI et al. 2016).

2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Após a inoculação do vírus por meio da picada do mosquito, o período de incubação varia de 3 a 12 dias para apresentar os primeiros sintomas (LISSAUER; SMIT; KILBY, 2016; OESER; LADHANI, 2019). Porém, a maioria das pessoas não manifestam os sinais clínicos (OESER; LADHANI, 2019), e quando manifesta tem a tendência de ser leve e limitada com curta durabilidade, apresentando erupções cutâneas, febre moderada, cefaleia, mialgia, edema, vômitos, conjuntivite e artralgia (HAYES, 2009; GOURINAT et al., 2015; PETERSEN et al., 2016; DECOCKER, 2019; SHREVE et al., 2019).

No entanto, a infecção pelo vírus da zika pode se complicar ocasionando síndrome de Guillain-Barré e transmissão perinatal (BESNARD et al., 2014; EPPES et al., 2017). No caso da síndrome de Guillain-Barré, os pacientes infectados pela zika apresentam fraqueza

muscular, paralisia facial, incapacidade de andar, diminuição de reflexos e acelerada evolução da síndrome (CAO-LORMEAU et al., 2016).

Já a transmissão perinatal é por meio da via placentária, no momento do parto e possivelmente pela amamentação (BESNARD et al. 2014; DUPONT-ROUZEYROL et al., 2016); podendo apresentar microcefalia, ventriculomegalia, calcificações, anomalias corticais, redução do volume cerebral, problemas de visão e audição e entre outras anomalias, quando a infecção se instala nos primeiros meses de vida, que é o período de desenvolvimento do cérebro (LINDEN et al., 2016; KING; TEIXEIRA; MAHALINGAM, 2017; DECOCKER, 2019).

Pesquisa aponta que a microcefalia pode estar relacionada a infecção do vírus da zika em células progenitoras neuronais ativando caspase-3, ocasionando morte celular por meio de apoptose (TANG et al., 2016). O vírus também estimula os receptores Toll-like-Receptor 3 (TLR3) das células progenitoras a promover apoptose e desajustar a rota celular (DANG et al., 2016). Esse agravamento da doença de acarretar problemas neurológicos, pode estar relacionado a mutação na prM do vírus e contribuir para microcefalia fetal (YUAN et al., 2017).

Recentemente um estudo realizado em filhotes de camundongos infectados por zika que apresentavam fraqueza, estatura menor e paralisia, demonstrou a existência de infecção na porção da substância cinzenta da medula espinhal (ZHANG et al., 2019). O que reflete em achados em bebês infectados pelo vírus zika, em que os exames histológicos mostravam alterações na medula espinhal (RAMALHO et al., 2017).

Além disso, a infecção pelo ZIKV pode acarretar alterações morfológicas e funcionais no sistema reprodutor, como demonstrado na pesquisa realizada em camundongos, que observou modificação na cor do testículo, diminuição do comprimento dos testículos e na vesícula seminal, e diminuição de testosterona (MA et al., 2016). Foi observado a redução no número de espermatozoides móveis, assim como a diminuição de gravidez e fetos inviáveis, onde os camundongos machos estavam infectados pelo vírus no momento do acasalamento (GOVERO et al., 2016).

Há também relato de uma criança de 10 meses infectada pelo vírus, em que foi acometido por infarto da artéria cerebral média, porém, a criança não tinha problemas cardiovasculares (LANDAIS et al., 2017).

2.5 DIAGNÓSTICO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2016) o diagnóstico de infecção pelo vírus da zika, pode ser realizado por intermédio dos líquidos biológicos, como sangue total, soro e urina. Contudo, poderá realizar coleta de outras amostras biológicas a partir de suspeita de transmissão sexual e ocorrências de distúrbios neurológicos (Organização Mundial da Saúde, 2016).

Testes sorológicos podem ser realizados para detecção de IgM anti-ZIKV por meio do método de ensaio imunoenzimático (ELISA) no período de 4 a 7 dias depois de manifestar a sintomatologia, e conferido no teste de neutralização por redução de placa (*Plaque Reduction Neutralization Test* - PRNT), pois pode ocorrer o falso positivo de pacientes infectados com vírus da família Flaviviridae, por exemplo, o vírus da dengue (ABUSHOUK; NEGIDA; AHMED, 2016; RABE et al., 2016; CHEN; HAMER, 2016; LANDRY; GEORGE, 2017; VENTURI et al., 2019; COLLINS, 2019).

A literatura científica indica outros métodos que podem ser utilizados para diagnóstico, como aplicação da quimioluminescência eletrogerada (ECL) para revelar a presença do vírus (ACHARYA et al., 2016), pontos quânticos para captar IgG anti-ZIKV (RIBEIRO et al., 2019), CRISPR-Cas13 baseado pelo método de SHERLOCK e associado ao método de HUDSON (MYHRVOLD et al., 2018), biosensor eletroquímico fundamentado em nanoestruturas de óxido de zinco (ZnO) (FARIA; MAZON, 2019).

A RT-PCR em Tempo Real é o método mais usado ao redor do mundo devido a sua sensibilidade e especificidade, pois detecta e quantifica a presença do RNA viral no material biológico (SHAN et al., 2016a). Entretanto, a detecção do vírus da zika nos líquidos biológicos varia em relação ao tempo, como na urina é detectável até 20 dias (GOURINAT et al., 2015; BINGHAM et al., 2016), no soro até 5 dias (GOURINAT et al., 2015; MOULIN et al., 2016), no sêmen de 27 à 62 dias (ATKINSON et al., 2016), na saliva até 29 dias (BARZON et al., 2016b), sangue total até 81 dias (MURRAY et al., 2017) depois dos primeiros sintomas.

2.6 TRATAMENTO E VACINA

Não existe tratamento específico para zika (SAXENA et al., 2016). É utilizado paracetamol para amenizar os sintomas (SAXENA et al., 2016; SILVA et al., 2018). Contudo, estudos procuram modos de impedir a infecção por meio de

reaproveitamento de fármacos, triagem fenotípica de inibidores fundamentada na replicação viral ou descoberta de drogas (ZOU; SHI, 2019).

Em relação ao reaproveitamento de fármacos, um exemplo é cloroquina, medicamento antimalárico (LEVY et al., 1991; SILVA et al., 2018), na qual apresenta efeito inibitório para infecções em células infectadas pelo ZIKV, incluindo células-tronco neuronais (DELVECCHIO et al., 2016).

Existem diversas pesquisas que indicam fármacos comercializados em farmácias ou restritos para uso hospitalar que podem ser utilizados para tratar a infecção de zika, como ivermectina, ácido micofenólico (MPA), daptomicina, ciclosporina A, bortezomib e sertralina (BARROWS et al., 2016), niclosamida (XU et al., 2016), azitromicina (RETALLACK et al., 2016) e bromocriptina (CHAN et al., 2017).

No tocante da triagem fenotípica de inibidores fundamentada na replicação viral, um dos métodos é o ensaio de infecção pelo vírus, onde capta a instalação da infecção viral na célula para identificar os prováveis inibidores (ZOU; SHI, 2019). Um exemplo é cDNA infeccioso para zika, seria capaz de ser utilizado em estudos para vacinas e esse material genético contendo gene *Renilla* luciferase (Rluc), poderia ser utilizado para testagem de drogas antivirais (SHAN et al., 2016b).

Atualmente não existem vacinas para zika, mas há pesquisas para o seu desenvolvimento (ABBINK; STEPHENSON; BAROUCH, 2018; FERRARIS; YSSEL; MISSÉ, 2019). Essas pesquisas abrangem com uso de cDNA codificando proteínas de ZIKV e vírus inativado (LAROCCA et al., 2016; ABBINK et al., 2016), RNA mensageiro modificado (RICHNER et al., 2017), vírus atenuado (SHAN et al., 2017) e com adenovírus recombinante (ABBINK et al., 2016; XU et al., 2018) .

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Zika vírus é uma arbovirose emergente responsável por epidemias em diversos países, inclusive no Brasil. Por muito tempo essa doença foi negligenciada, mas mediante as graves anomalias provocadas em recém-nascidos, se destacou mundialmente e passou a ser considerada um problema para saúde pública, pela a complexidade do diagnóstico, a falta de tratamento específico, as sequelas que ocasionam nos indivíduos acometido pela infecção e a dificuldade de controlar o vetor.

Muitas pesquisas vêm sendo realizadas para compreender como a doença ocorre e suas manifestações clínicas. Com isso, estudos têm avançado em relação ao diagnóstico,

intervenção médica por meio de reaproveitamento de fármacos e buscas por novos compostos. Também há procura de vacinas eficazes, para que ocorra a prevenção de novos casos de infecções pelo vírus da zika e suas complicações, como microcefalia e síndrome de Guillain-Barré.

4. REFERÊNCIAS

- ABBINK, P.; STEPHENSON, K. E.; BAROUCH, D. H. Zika virus vaccines. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, p. 594-600, 2018.
- ABBINK, P. et al. Protective efficacy of multiple vaccine platforms against Zika virus challenge in rhesus monkeys. **Science**, v. 353, n. 6304, p. 1129-1132, 2016.
- ABUSHOUK, A. I.; NEGIDA, A.; AHMED, H. An updated review of Zika vírus. **Journal of Clinical Virology**, v. 84, p. 53-58, 2016.
- ACHARYA, D. et al. An ultrasensitive electrogenerated chemiluminescence-based immunoassay for specific detection of Zika vírus. **Scientific Reports**, p. 1-11, 2016.
- ATKINSON, B. et al. Detection of Zika virus in sêmen. **Emerging Infectious Disease**, v. 22, n. 5, p. 940, 2016.
- BARROWS, N. J. et al. A screen of FDA-approved drugs for inhibitors of Zika virus infection. **Cell Host & Microbe**, v. 20, n. 2, p. 259-270, 2016.
- BARZON, L. et al. Zika virus: from pathogenesis to disease control. **FEMS Microbiology Letters**, v. 363, n. 8, p. 1-17, 2016.
- BARZON, L. et al. Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 10, p. 1-5, 2016.
- BESNARD, M. et a. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 13, p. 1-4, 2014.
- BINGHAM, A. M. et al. comparison of test results for zika virus RNA in urine, serum, and saliva specimens from persons with travel-associated Zika virus disease — Florida, 2016. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 18, p. 475-478, 2016.
- BOLLATI, M. et al. Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: Perspectives for drug design. **Antiviral Research**, v. 87, n. 2, p. 125-148.
- BÔTOO-MENEZES, C. H. A. et al. Zika virus in rectal swab samples. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 5, p. 951-954, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria de Consolidação nº. 4, de 28 de setembro de 2017. Disponível

em:<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0004_03_10_2017.html>.Acesso em: 27/06/2019.

BRASIL. Secretária de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2017. **Ministério da Saúde**, v. 42, n. 03, p. 1-13, 2018.

BRASIL. Secretária de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2018. **Ministério da Saúde**, v. 50, n. 04, p. 1-14, 2019.

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.

CAMPOS, T. L. et al. Revisiting key entry routes of human epidemic arboviruses into the mainland Americas through large-scale phylogenomics. **Hindawi: International Journal of Genomics**, p. 1-10, 2018.

CAO-LORMEAU, Van-Mai et al. Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 6, p. 1085-1086, 2014.

CAO-LORMEAU, Van-Mai et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1531-1539, 2016.

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

CHAN, J. F. W. et al. Zika fever and congenital Zika syndrome: an unexpected emerging arboviral disease. **Journal of Infection**, v. 72, n. 5, p. 507-524, 2016.

CHAN, J. Fuk-Woo et al. Novel antiviral activity and mechanism of bromocriptine as a Zika virus NS2B-NS3 protease inhibitor. **Antiviral Research**, v. 141, p. 29-37, 2017.

CHEN, L. H.; HAMER, D. H. Zika virus: rapid spread in the western hemisphere. **Annals of Internal Medicine**, v. 169, n. 9, p. 613-615, 2016.

COLLINS, M. H. Serologic Tools and Strategies to Support Intervention Trials to Combat Zika Virus Infection and Disease. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 2, p. 1-23, 2019.

DANG, J. et al. Zika Virus Depletes Neural Progenitors in Human Cerebral Organoids through Activation of the Innate Immune Receptor TLR3. **Cell Stem Cell**, v. 19, n. 2, p. 258-265, 2016.

DAVIDSON, A. D. **Chapter 2 New insights into Flavivirus nonstructural protein 5**. *Advances in Virus Research*, v. 74, p. 41-101, 2009.

- DECOCKER, K. Zika virus and pregnancy concerns. **Nursing Clinics of North America**, v. 54, n. 2, p. 285-295, 2019.
- DELVECCHIO, R. et al. Chloroquine, an endocytosis blocking agent, inhibits Zika virus infection in different cell models. **Viruses**, v. 8, n. 12, p. 1-15, 2016.
- DIALLO, D. et al. Zika virus emergence in mosquitoes in Southeastern Senegal, 2011. **Plos One**, v. 9, n. 10, p. 1-8, 2014.
- 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.
- DRIGGERS, R. W. et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, p. 2142-2151, 2016.
- DUFFY, M. R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, p. 2536-2543, 2009.
- DUPONT-ROUZEYROL, M. et al. Co-infection with Zika and Dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 381-382, 2015.
- DUPONT-ROUZEYROL, M. et al. Infectious Zika viral particles in breastmilk. **The Lancet**, v. 387, n. 10023, p. 1051, 2016.
- DYER, O. Zika virus spreads across Americas as concerns mount over birth defects. **The BMJ**, p. 1-2, 2015.
- ENFISSI, A. et al. Zika virus genome from the Americas. **The Lancet**, v. 387, n. 10015, p. 227-228, 2016.
- EPPEL, C. et al. Testing for Zika virus infection in pregnancy: key concepts to deal with an emerging epidemic. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 216, n. 3, p. 209-225, 2017.
- FARIA, A. M.; MAZON, T. Early diagnosis of Zika infection using a ZnO nanostructures-based rapid electrochemical biosensor. **Talanta**, v. 203, p. 153-160, 2019.
- FARIAS, N. R. et al. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.
- FERNANDEZ-GARCIA, Maria-Dolores et al. Pathogenesis of Flavivirus infections: using and abusing the host cell. **Cell Host & Microbe**, v. 5, n. 4, p. 318-328, 2009.
- FERRARIS, P.; YSSEL, H.; MISSÉ, D. Zika virus infection: an update. **Microbes and Infection**, p. 1-23, 2019.
- FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 224-229, 2007.

- FOY, B. D. et al. Probable non–vector-borne transmission of Zika Virus, Colorado, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 880-882, 2011.
- GÖERTZ, G. P. et al. Functional RNA during Zika virus infection. **Virus Research**, v. 254, p. 41-53, 2018.
- GOURINAT, Ann-Claire et al. Detection of Zika virus in urine. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p 84-86, 2015.
- GOVERO, J. et al Zika virus infection damages the testes in mice. **Nature**, v. 540, p. 438-442, 2016.
- HAMEL, R. et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. **Journal of Virology**, v. 89, n. 17, p. 8880-8896, 2015.
- HASAN, S. S. et al. Structural biology of Zika virus and other flaviviruses. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 25, p. 13-20, 2018.
- HAYES, E. B. Zika virus outside Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 9, p. 1347-1350, 2009.
- HEINZ, F. X.; STIASNY, K. The antigenic structure of Zika virus and its relation to other flaviviruses: implications for infection and immunoprophylaxis. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 81, n. 1, p. 1-27, 2017.
- HILGENFELD, R. Zika virus NS1, a pathogenicity factor with many faces. **The EMBO Journal**, v. 35, n. 24, p. 2631-2633, 2016.
- HODGE, K. et al. Flavours of flaviviral RNA structure: towards an integrated view of RNA function from translation through encapsidation. **Bioassays**, v. 1900003, p. 1-10, 2019.
- HU, Y.; SUN, L. Systematic analysis of structure similarity between Zika virus and other flaviviruses. **Infectious Diseases**, p. A-K, 2019.
- KING, N. J.C; TEIXEIRA, M. M.; MAHALINGAM, S. Zika virus: mechanisms of infection during pregnancy. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 9, p. 701-702, 2017.
- KHONGWICHIT, S. et al. Zika virus in Thailand. **Microbes and Infection**, v. 20, n. 11-12, p. 670-675, 2018.
- KORHONEN, E. M. et al. Zika virus infection in a traveller returning from the Maldives, June 2015. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 2, p. 1-4, 2016.
- KOSTYUCHENKO, V. A et al. Structure of the thermally stable Zika virus. **Nature**, v. 533, p. 425-428, 2016.
- LANDAIS, A. et al. Zika vasculitis: A new cause of stroke in children?. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 383, p. 211-213, 2017.

- LANDRY, M. L.; GEORGE, K. S. Laboratory diagnosis of Zika virus infection. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 141, n. 1, p. 60-67, 2017.
- LAROCCA, R. A. et al. Vaccine protection against Zika virus from Brazil. **Nature**, v. 536, p. 474-478, 2016.
- LEDNICKY, J. et al. Zika virus outbreak in Haiti in 2014: molecular and clinical data. **Plos Neglected Tropical Diseases**, p. 1-11, 2016.
- LEE, J. L. et al. Antiviral activity of pinocembrin against Zika virus replication. **Antiviral Research**, v. 167, p. 13-24, 2019.
- LEI, J. et al. Crystal structure of Zika virus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor. **Science**, v. 353, n. 6298, p. 503-505, 2016.
- LEVY, M. et al. Pregnancy outcome following first trimester exposure to chloroquine. **American Journal of Perinatology**, v. 8, n. 3, p. 174-178, 1991.
- LIKOS, A. et al. Local mosquito-borne transmission of Zika virus — Miami-Dade and Broward counties, Florida, June–August 2016. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 38, p. 1032-1038, 2016.
- LIN, Hsiao-Han et al. Zika virus structural biology and progress in vaccine development. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 1, p. 47-53, 2018.
- LINDEN, V. V. D. et al. Description of 13 infants born during October 2015–January 2016 with congenital Zika virus infection without microcephaly at birth — Brazil. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 47, p. 1343-1348, 2016.
- LISSAUER, D.; SMIT, E.; KILBY, M.D. Zika virus and pregnancy. **An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, p. 1258-1263, 2016.
- LIU, J. et al. A novel sheet-like virus particle array is a hallmark of Zika virus infection. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 69, p. 1-11, 2018.
- MA, W. et al. Zika virus causes testis damage and leads to male infertility in mice. **Cell**, v. 167, n. 6, p. 1511-1524, 2016.
- 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.
- MAGNUS, M. M. et al. Risk of Zika virus transmission by blood donations in Brazil. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 40, n. 3, p. 250-254, 2018.
- MAJEROVÁ, T. et al. Exploiting the unique features of Zika and Dengue proteases for inhibitor design. **Biochimie**, p. 1-33, 2019.

- MARTÍN-ACEBES, M. A.; VÁSQUEZ-CALVO, Á.; SAIZ, Juan-Carlos. Lipids and flaviviruses, present and future perspectives for the control of dengue, Zika, and West Nile viroses. **Progress in Lipid Research**, v. 64, p. 123-137, 2016.
- MASSAD, E. et al. On the origin and timing of Zika virus introduction in Brazil. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 11, p. 1-10, 2017.
- MAY, M.; RELICH, R. F. A Comprehensive Systems biology approach to studying Zika virus. **Plos One**, v. 11, n. 9, p. 1-15, 2016.
- MELO, A. S. O. et al. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg?. **Ultrasound Obstetrics & Gynecology**, v. 47, n.1, p. 6-7, 2016.
- MING, Guo-Li; TANG, H.; SONG, H. Advances in Zika Virus Research: Stem Cell Models, Challenges, and Opportunities. **Cell Stem Cell**, v. 19, n. 6, p. 690-702, 2016.
- MOORE, D. L. et al. Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964–1970. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 69, n. 1, p. 49-64, 1975.
- MOULIN, E. et al. Simultaneous outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections: diagnosis challenge in a returning traveller with nonspecific febrile illness. **New Microbes and New Infections**, v. 11, p. 6-7, 2016.
- MURRAY, K. O. et al. Prolonged detection of Zika virus in vaginal secretions and whole blood. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 99-101, 2017.
- MUSSO, D.; CAO-LORMEAU, V. M.; Gubler, D. J. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya?. **The Lancet**, v. 386, n. 9990, p. 243-244, 2015.
- MUSSO, D. Zika virus transmission from French Polynesia to Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1887, 2015.
- MUSSO, D. et al. Detection of Zika virus in saliva. **Journal of Clinical Virology**, v. 68, p. 53-55, 2015.
- MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 359-361, 2015.
- MYHRVOLD, C. et al. Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. **Science**, v. 360, n. 6387, p. 444-448, 2018.
- OESER, C.; LADHANI, S. An update on Zika virus and Congenital Zika Syndrome. **Paediatrics and Child Health**, v. 29, n. 01, p. 34-37, 2019.
- OLSON, J. G. et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389-393, 1981.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Testes de laboratório para a infecção pelo vírus Zika: Orientações provisórias. **Organização Mundial da Saúde**, p. 1-5, 2016.

PAHO. Zika suspected and confirmed cases reported by countries and territories in the Americas, 2015-2016. Cumulative Cases. **Pan American Health Organization**, 2016.

PASSOS, S. R. L. et al. Detection of Zika virus in april 2013 patient samples, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 12, p. 2120-2121, 2017.

PAUL, D.; BARTENSCHLAGER, R. Architecture and biogenesis of plus-strand RNA virus replication factories. **World Journal of Virology**, v. 2, n. 2, p. 32-48, 2013.

PERERA-LEICON, M. et al. Flavivirus entry receptors: an update. **Viruses**, v. 6, n.1, p. 69-88, 2014.

PETERSEN, E. et al. Rapid spread of Zika virus in the Americas - implications for public health preparedness for mass gatherings at the 2016 Brazil Olympic Games. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 44, p. 11-15, 2016.

PETERSEN, L. R. et al. Zika virus. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, p. 1552-1563, 2016.

PLOURDE, A. R.; BLOCH, E. M. Biology of zika virus infection in human skin cells. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 7, p. 1185-1192, 2016.

POND, W. L. Arthropod-borne virus antibodies in sera from residents of South-East Asia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 57, n. 5, p. 369-371, 1963.

RABE, I. B. et al. Interim guidance for interpretation of Zika virus antibody test results. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 21, p. 543-546, 2016.

RAMALHO, F. S. et al. Congenital Zika virus infection induces severe spinal cord injury. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 4, p. 687-609, 2017.

RELICH, R. F.; LOEFFELHOLZ, M. Zika virus. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 27, n. 2, p. 253-267, 2017.

RETALLACK, H. et al. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 50, p. 14408-14413, 2016.

RIBEIRO, J. F. F. et al. Quantum dots-based fluoroimmunoassay for anti-Zika virus IgG antibodies detection. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 194, p. 135-139, 2019.

RICHNER, J. M. et al. Modified mRNA vaccines protect against Zika virus infection. **Cell**, v. 168, n. 6, p. 1114-1125, 2017.

SAIZ, Juan-Carlos et al. Zika virus: the latest newcomer. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 496, p. 1-19, 2016.

SAXENA, S. K. et al. Zika virus outbreak: an overview of the experimental therapeutics and treatment. **Virus Disease**, v. 27, n. 2, p. 111-115, 2016.

SCHULER-FACCINI, L. et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly — Brazil, 2015. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 3, p. 59-62, 2016.

SELISKO, B. et al. Regulation of Flavivirus RNA synthesis and replication. **Current Opinion in Virology**, v. 9, p. 74-83, 2014.

SHAILY, S.; UPADHYA, A. Zika virus: molecular responses and tissue tropism in the mammalian host. **Reviews in Medical Virology**, p. 1-19, 2019.

SHAN, C. et al. Zika virus: diagnosis, therapeutics, and vaccine. **ACS Infectious Diseases**, v. 2, p. 170-172, 2016.

SHAN, C. et al. An Infectious cDNA Clone of Zika Virus to Study Viral Virulence, Mosquito Transmission, and Antiviral Inhibitors. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 6, p. 891-900, 2016.

SHAN, C. et al. A live-attenuated Zika virus vaccine candidate induces sterilizing immunity in mouse models. **Nature Medicine**, v. 23, n. 6, p. 763-767, 2017.

SHREVE, M. et al. Zika: an unfolding story. **The Journal for Nurse Practitioners**, p. 1-7, 2019.

SILVA, S. D. et al. Uma revisão da pesquisa em andamento sobre o tratamento do vírus zika. **Viruses**, v. 10, n. 5, p. 1-18, 2018.

SIROHI, D. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science**, v. 352, n. 6284, p. 467-470, 2016.

SIROHI, D.; KUHN, R. J. Zika virus structure, maturation, and receptors. **The Journal of Infectious Disease**, v. 216, p. 935-944, 2017.

STIASNY, K. et al. Role of metastability and acidic pH in membrane fusion by tick-borne Encephalitis virus. **Journal of Virology**, v. 75, n. 16, p. 7392-7398, 2001.

TANG, H. et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell Stem Cell**, v. 18, n. 5, p. 587-590, 2016.

TAPPE, D. et al. First case of laboratory-confirmed Zika virus infection imported into Europe, november 2013. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 4, p. 1-4, 2014.

THOMAS, D. L. et al. Local transmission of Zika virus — Puerto Rico, november 23, 2015–january 28, 2016. **Centers for Disease Control and Prevention**, v. 65, n. 6, p. 154-158, 2016.

TOGNARELLI, J. et al. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. **Archives of Virology**, v. 161, n. 3, p. 663-668, 2016.

VENTURI, G. et al. An autochthonous case of Zika due to possible sexual transmission, Florence, Italy, 2014. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 8, p. 1-4, 2016.

VENTURI, J. et al. Epidemiological and clinical suspicion of congenital Zika virusinfection: serological findings in mothers and children from Brazil. **Journal Medical Virology**, p. 1-27, 2019.

WONG, Pei-Sze J. et a. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): A Potential Vector of Zika Virus in Singapore. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 8, p. 1-5, 2013.

WHO. **World Health Organization**. Disponível em: < [https://www.who.int/en/news-room/detail/01-02-2016-who-statement-on-the-first-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-\(ihr-2005\)-emergency-committee-on-zika-virus-and-observed-increase-in-neurological-disorders-and-neonatal-malformations](https://www.who.int/en/news-room/detail/01-02-2016-who-statement-on-the-first-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-(ihr-2005)-emergency-committee-on-zika-virus-and-observed-increase-in-neurological-disorders-and-neonatal-malformations)>. Acessado em: 10/06/2019.

XU, M. et al. Identification of small-molecule inhibitors of Zika virus infection and induced neural cell death via a drug repurposing screen. **Nature Medicine**, v. 22, n. 10, p. 1101-1107, 2016.

XU, K. et al. Recombinant chimpanzee adenovirus vaccine AdC7-M/E protects against Zika virus infection and testis damage. **Journal of Virology**, v. 92, n. 6, p. 1-16, 2018.

YUAN, L. et al. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. **Science**, v. 358, n. 6365, p. 933-936, 2017.

YUN, Sang-Im et al. complete genome sequences of three historically important, spatiotemporally distinct, and genetically divergent strains of Zika virus: MR-766, P6-740, and PRVABC-59. **American Society for Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 1-4, 2016.

YU, I. M. et al. Association of the pr Peptides with Dengue Virus at Acidic pH Blocks Membrane Fusion. **Journal of Virology**, 83, n. 23, p. 12101-12107, 2009.

ZAMBRANO, H. et al. case report: Zika virus and Chikungunya virus coinfections: a series of three cases from a single center in Ecuador. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 4, p. 894-896, 2016.

ZAMMARCHI, L. et al. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, march 2015. **Eurosurveillance**, v. 20, n. 23, p. 1-3, 2015.

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.

ZHANG, S. et al. Neutralization mechanism of a highly potent antibody against Zika virus. **Nature Communications**, v. 7, n. 13679, p. 1-7, 2016.

ZHANG, W. et al. In utero infection of Zika virus leads to abnormal central nervous system development in mice. **Scientific Reports**, p. 1-12, 2019.

ZHAO, B. et al. Structure and function of the Zika virus full-length NS5 protein. **Nature Communications**, p. 1-9, 2017.

ZOU, J.; SHI, Pei-Yong. Strategies for Zika drug discovery. **Current Opinion in Virology**, v. 35, p. 19-26, 2019.

APÊNDICE B - Resumo expandido

SANTOS, E. C. N. et al. Infestação de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em diferentes bairros De Rio Branco, Acre. In: I Simpósio do Programa de Pós-graduação em Ciências, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, 2019, Rio Branco: **SouthAmerican Journal of Basic Education, Technical and Technologica**, 2019. v. 6, supl.n.6, p. 17-18.

INFESTAÇÃO DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EM DIFERENTES BAIROS DE RIO BRANCO, ACRE

Ellen Caroline Nobre Santos^{1*}, Taynara Lopes de Araújo², Janis Lunier de Souza³, Ricardo da Costa Rocha⁴, Emmerson Corrêa Brasil da Costa^{4#}

1. Programa Pós-Graduação Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, Universidade Federal do Acre (UFAC);
2. Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Acre (UFAC);
3. Secretaria Municipal de Saúde – SEMSA;
4. Centro de Ciências da Saúde e do Desporto da Universidade Federal do Acre (UFAC).

* Autor correspondente: ellen.caroline24@hotmail.com

costaemm.biomed@yahoo.com

Introdução:

Cerca de 82% dos indivíduos residem em áreas susceptíveis as doenças transmissíveis por vetores (GOLDING et al., 2015). Entre esses vetores, se encontra *Aedes aegypti*, que é umas das espécies responsáveis pelas transmissões de doenças como dengue, chikungunya e zika (HONÓRIO et al., 2015; LIMA-CAMARA, 2016;).

A. aegypti vive em ambientes urbanos, onde há reservatórios propícios ao seu desenvolvimento e nutrição (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; VAREJÃO et al., 2005; ZARA et al., 2016). Além disso, há uma relação direta do mosquito com a estação chuvosa, devido a eclosões dos ovos de *A. aegypti* ao entrar em contato com a água (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

No Acre, os dados alertam o aumento exacerbado do número de casos de dengue, zika e chikungunya em 2018 em comparação com o ano anterior (Ministério da Saúde, 2018a). Nesse mesmo ano, segundo o Levantamento Rápido de Índices de Infestação pelo *Aedes aegypti* (LIRAA), as cidades que apresentavam risco de surto dessas doenças foram Rodrigues Alves, Brasiléia, Rio Branco, Epitaciolândia, Sena Madureira, Bujari, Acrelândia, Mâncio Lima e Feijó (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018b). Com isso, o objetivo deste estudo foi verificar a infestação de *A. aegypti* em diferentes bairros de Rio Branco, Acre.

Material e Métodos:

Para verificar a presença do mosquito, optou-se pela coleta de ovos de *A. aegypti*. Os bairros submetidos à coleta foram: Laélia Alcântara, Vila Betel, Loteamento Joafra, Mocinha Magalhães, Cruzeiroinho, Rui Lino, Conjunto Esperança e Universitário. O período de coleta ocorreu no mês de junho de 2018 até março de 2019. Porém, em cada bairro, a coleta durou duas semanas.

Para captura dos ovos, o método utilizado foi à instalação de ovitrampas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). As ovitrampas são preparadas em vasos de cores escuras (para atração do mosquito), juntamente com a solução contendo água e levedo de cerveja a 0,04% e paleta de eucatex para oviposição do mosquito adulto fêmea.

Estas ovitrampas foram instaladas próximos de borracharias, marcenarias, oficinas mecânicas e em residências. O material ficava no imóvel durante 10 dias. Neste período, ocorria a substituição do conteúdo do interior dos vasos, para evitar o desenvolvimento do mosquito, caso ocorresse à eclosão dos ovos.

As paletas eram encaminhadas para o Laboratório Intermediários de Fitoterápicos da Universidade Federal do Acre (UFAC), para identificação e contabilização em lupa estereoscópica. Para análise da presença de *A. aegypti*, foi verificado o Índice de Positividade de Ovitrapas (IPO) para indicar nível de infestação do local por *A. aegypti* (GOMES, 1998; SILVA; LIMONGI, 2018).

Resultados e Discussão:

Foram capturados 5.881 ovos somente de *A. aegypti* nos bairros selecionados, com o IPO de 54,21%. Os bairros que possuíram maiores números de oviposições ocorreu no Mocinha Magalhães (2.190 ovos) e Loteamento Joafra (1.511 ovos). Ambos os bairros obteram o IPO de 78,57%. No entanto, a coleta aconteceu em períodos distintos, ou seja, o bairro Mocinha Magalhães ocorreu no

período de seca e o Loteamento Joafra, decorreu no período de chuva.

Sabe-se que a difusão de *A. aegypti* é motivada pelo clima (GLASSER; GOMES, 2002). Como demonstra estudo realizado na cidade de Costa Rica no Mato Grosso, em que número de oviposições aumentavam no período de chuva, devido ao armazenamento de água em recipiente (ALMEIDA et al., 2013).

A detecção de oviposições no período de seca pode estar relacionada à carência de criadouros nos locais, fazendo que haja maior afinidade do mosquito adulto fêmea com as ovitampas (MICIELI; CAMPOS, 2003), como demonstrado no bairro Mocinha Magalhães, na qual os locais instalados não havia criadouros para *A. aegypti*.

Em outros bairros, o número de ovos registrados foi inferior a 700, como no bairro Láelia Alcântra (647 ovos), Universitário (622 ovos), Vila Betel (406 ovos), Conjunto Esperança (279 ovos), Cruzeiroinho (155) e Rui Lino (71 ovos).

Conclusões:

Verificou-se que em todos os bairros investigados foram detectados ovos de *A. aegypti*. Os altos índices apresentados nos bairros analisados mostra a necessidade de uma atenção maior nas condições ambientais e das medidas de controle de vetores.

É preciso que os estudos sejam intensificados, estendendo a todos os bairros da cidade, para avaliar os índices de infestação deste vetor, e que medidas de controles eficazes sejam adotados para diminuir as incidências de arboviroses.

Palavras-chave: Insetos vetores; índice de positividade de ovitampas; ovitampas.

Referências bibliográficas

- ALMEIDA, P. S. et al. Infestação de *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) Determinada por Armadilhas de Oviposição (Ovitampas) no Município De Costa Rica, Estado De Mato Grosso Do Sul. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 3, p. 331-339, 2013.
- CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária do Brasil**. 1ª ed, Fiocruz, 1994.
- HONÓRIO, N. A. et al. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 31, n. 5, p. 906-908, 2015.
- 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**, v. 36, n. 2, p. 166-172, 2002.
- GOLDING, N. et al. Integrating vector control across diseases. **BMC Medicine**, v. 13, p. 1-6, 2015.
- GOMES, A. C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *aedes (stegomyia) aegypti* e *aedes (stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 7n. 3, p. 49-57, 1998.
- LIMA-CAMARA, T. N. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50. p. 1-7, 2016.
- MICIELI, M. V.; CAMPOS, R. E. Oviposition Activity and Seasonal Pattern of a Population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Subtropical Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 659-663, 2003.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 43 de 2018. **Ministério da Saúde**, v. 49, n. 49, p. 1-14, 2018.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. AC: 18 municípios em situação de alerta ou risco para dengue, zika e chikungunya. Disponível em: <<http://portalm.s.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/44946-ac-18-municipios-em-situacao-de-alerta-ou-risco-para-dengue-zika-e-chikungunya-3>>. Acessado em: 14/04/2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. 3ª ed, Ministério da Saúde, , 2001.
- SILVA, C. E.; LIMONGI, J. E. Avaliação comparativa da eficiência de armadilhas para a captura e coleta de *Aedes aegypti* em condições de campo. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 26, n. 3, p. 241-248, 2018.
- VAREJÃO, J. B. M. et al. Criadouros de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na Cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 238-240, 2005.
- ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

