

Investigação da isoenzima α -esterase em *Aedes aegypti* de dois municípios de Mato Grosso

Cristina Márcia de Menezes Butakka*
Leiliane dos Santos Novais Siqueira*
Fabiana Aparecida Caldart Rodrigues**
Rosina Djunko Miyazaki***
Sandra Mariotto****
Lenicy Lucas de Miranda Cerqueira***
Walkiria Shimoya Bittencourt*

986



O Mundo da Saúde, São Paulo - 2019;43(4): 976-995
Investigação da isoenzima α -esterase em *Aedes aegypti*...

Resumo

As esterases são grupos de enzimas que aumentam o mecanismo de ação dos insetos vetores em sua atividade metabólica frente à pressão ambiental. O objetivo deste trabalho foi analisar o nível de expressão da α -esterase em populações de *Aedes aegypti* nos municípios de Cuiabá e Várzea Grande/MT como forma de contribuir na investigação vetorial. As coletas foram realizadas através de ovitrampas em cada município e os resultados dos alelos foram analisados pela ANOVA fatorial entre os meses, locais e fase estacional. Os alelos de 385 indivíduos de *Ae. aegypti* apresentaram sua maior expressão no período de vazante, significativos entre os meses ($F_{7,377}=6.89$; $p<0.01$) e entre os locais ($F_{1,383}=11.01$). Alelos expressos e superexpressos reduziram em mar/2016, no período de “pico das águas” e retomaram de mai/2016 a nov/2016. Em relação à frequência, alelos expressos incrementaram em Várzea Grande, durante o período de cheia com a maior precipitação. Houve uma tendência de incremento dos alelos expressos com a precipitação e os valores de frequência entre out/2015 (30%±88) e fev/2016 (89%±55), enquanto que dos alelos superexpressos no período de vazante (42%±91). Espécimes de Várzea Grande alcançaram uma maior frequência de alelos expressos (75%±41,36), porém com uma redução dos alelos superexpressos nos dois municípios ($F_{2,13} = 12.39$; $p<0,01$). Os resultados obtidos neste estudo indicaram que o método de isoenzimas esterásicas foi sensível o suficiente para detectar variações na frequência dos alelos em populações naturais de *Ae. aegypti*, o que conferiu incremento de suas atividades metabólicas com o período.

Palavras-chave: Mosquitos, ovitrampas, esterases.

INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762, mosquito vetor dos vírus causadores do Zika, chikungunya, febre amarela urbana e dengue, é hoje um dos principais problemas de saúde pública em muitas regiões¹, pois há dificuldades para seu controle pertinente ao movimento de pessoas em diferentes pontos do mundo, que acaba contribuindo para a dispersão de arbovíroses,

espalhadas por diferentes países^{2,3,4,5}.

Há uma suposição de que esta espécie foi introduzida no Brasil no período colonial, entre os séculos XVI e XIX, durante o tráfico de escravos. Embora a espécie não seja normalmente encontrada em zonas acima de 1.000 metros de altitude, sua presença já foi detectada a alturas de mais de 2.000 metros, na Índia e na Colômbia⁶.

DOI: 10.15343/0104-7809.20194304976995

*Universidade de Cuiabá – UNIC. Cuiabá/ MT, Brasil.

**Universidade do Estado do Mato Grosso - UNEMAT. CELBE – Cáceres/MT, Brasil.

***Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT. Cuiabá, MT, Brasil.

****Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso. Cuiabá – MT, Brasil.

E-mail: cristinabutakka@yahoo.com.br





Epidemias de chikungunya têm sido relatadas desde os anos 1960⁷ e o vírus Zika foi isolado pela primeira vez no ano de 1947, em um macaco (*Macaca mulatta*) habitante da floresta do Uganda, utilizado como “sentinela” num estudo sobre febre amarela⁶. O surgimento do Zika ocorreu em 2014 no Brasil, e têm sido objeto de estudos epidemiológicos que buscam compreender a dinâmica dos vírus no organismo humano⁸. No Brasil, nos últimos anos, estes já causaram epidemias graves em um grande número de municípios brasileiros³.

A investigação científica das populações de *Ae. aegypti* permite um conhecimento da prevenção de problemas que afetam diretamente a saúde da população humana. Tal fato mostra a necessidade de se estabelecer redes de monitoramento para controlar o vetor por meio de estratégias de manejo ambiental ou mecânico, as quais são as mais utilizadas pelos municípios⁴. Estas buscam eliminar o mosquito com o monitoramento de espaços e ambientes para que não sejam gerados pontos favoráveis à sua reprodução. Outra prática é usar recipientes apropriados, muitas vezes na forma de armadilhas⁵, cuja presença, em condições de campo, identificam a presença do vetor e reduzem os ovos que seriam depositados nos criadouros⁹.

O conhecimento da expressão de grupos de enzimas como as esterases não específicas¹⁰, geneticamente distintas, classificadas como carboxilesterases e colinesterases^{11,12,3} torna possível identificar o mecanismo de ação dos vetores em aumentar sua atividade metabólica, tornando-os resistentes^{13,14} ao controle químico. No organismo do *Ae. aegypti*, as esterases desempenham um papel no sistema nervoso central, pois desenvolvem sua maior capacidade para desintoxicar seu corpo diante das moléculas de compostos químicos (como por exemplo, os inseticidas), que resultam na não ação destas moléculas. Em consequência, as próximas gerações do inseto tornar-se-ão mais resistentes a estes compostos¹⁴. *Ae. aegypti* realiza o processo de desintoxicação utilizando-se de esterases (α - e β -) ou glutatona S-transferases (GSTs) presentes em seu organismo¹⁵.

No Brasil, os estudos de Braga e Valle⁶ sobre o monitoramento e vigilância de *Ae. aegypti*, e de Guirado e Bicudo¹⁶, contribuíram para elucidar alguns destes mecanismos biológicos de como os insetos agem na sua proliferação e nesta resistência.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as populações de *Aedes aegypti* a partir do biomonitoramento como forma de contribuir para a investigação vetorial em Cuiabá e Várzea Grande/MT, e seu estado atual. A variabilidade enzimática de adultos e sua distribuição espacial e sazonal foram analisadas para identificar as expressões da enzima esterase e sua frequência em municípios distintos e períodos de amostragem. Foi levantada a hipótese de que: 1) as bandas de esterase (claras e escuras) diferem em sua expressão entre os locais de amostragem e entre os períodos sazonais; 2) Existe uma diferença no grau de expressão e frequência dos alelos em diferentes populações e na variabilidade da precipitação (período chuvoso) nos ambientes.

MATERIAL E MÉTODOS

O município de Cuiabá está localizado na margem esquerda do rio Cuiabá e forma uma rede urbana com o município de Várzea Grande, ambos situados na região Centro-Oeste do Brasil, ao centro-sul do estado de Mato Grosso. As informações das coordenadas geográficas dos pontos de amostragem, altitude, número estimado de habitantes e densidade demográfica estão em acordo com as informações do IBGE^{17,18} e listadas na Tabela 1.

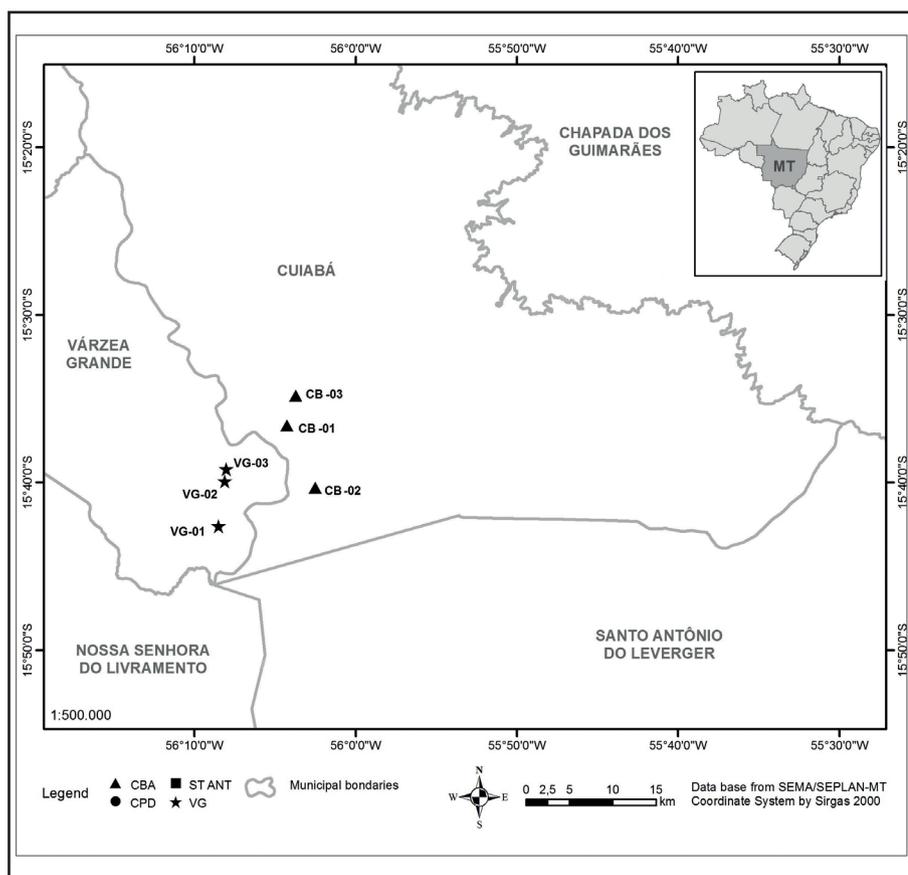
As coletas foram realizadas nos dois municípios por um período de 08 meses, de outubro de 2015 a novembro de 2016. As amostragens foram estabelecidas em 3 pontos em Cuiabá (CB-01, CB-02 e CB-03) e Várzea Grande (VG-01, VG-02 e VG-03), como apresentado na Figura 1. Dados climáticos de precipitação (mm), umidade relativa (%) e temperaturas máximas e mínimas foram obtidos através do Instituto de Meteorologia.



Tabela 1– Coordenadas geográficas, altitude (m), número estimado de habitantes e densidade demográfica (hab/km²) dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande (IBGE, 2017), estado de Mato Grosso.

Código	Coordenadas	Altitude (m)	Número estimado de habitantes	Densidade Demográfica (hab/km ²)
CBA-01	15°36'36" S 56°03'76" W			
CBA-02	15°40'18" S 56°02'30" W	176	590.118	157,66
CBA-03	15°34'48" S 56°03'42" W			
VG-01	15°42'36" S 56°08'30" W			
VG-02	15°39'56" S 56°08'06" W	198	274.013	240,98
VG-03	15°39'12" S 56°08'01" W			

Subtitle: CBA-01; CBA-02; CBA-03 (Cuiabá); VG-01; VG-02; VG-03 (Várzea Grande).



Legenda - CB-01, CB-02, CB-03 (Cuiabá), VG-01, VG-02, VG-03 (Várzea Grande).

Figura 1– Representação gráfica e sítios da Área de Estudo Monitorado nos municípios de Cuiabá e Várzea Grande do Estado do Mato Grosso. Escala 1: 400.000.

Para a coleta e biomonitoramento de *Ae. aegypti*, o método de investigação entomológica foi a forma de captura por meio da ovitrampa (Figura 2), uma armadilha de oviposição idealizada por Fay e Perry¹⁹ e tem revelado ser um método mais sensível, barato e rápido para monitoramento de colonizadores de *Aedes*

em criadouros artificiais^{3,20,21}. Consiste em um recipiente de plástico preto de 9x12 cm de 580 mL, com uma palheta de Eucatex de 13,5 x 2,5 cm, cuja parte áspera é voltada para fora para a oviposição. Coloca-se 270 mL de solução aquosa e adição de 30 mL de infusão de feno, para a atração e posterior oviposição pela

fêmea²².

As ovitrampas foram instaladas a cada 15 dias a 1,5 m de altura com 3 armadilhas em cada ponto de amostragem (com um total de nove armadilhas para cada município), em locais estratégicos de grande circulação de pessoas. A estimativa da população de insetos foi determinada pelo número de ovos depositados nas palhetas.

Cinco dias após a instalação, as armadilhas foram coletadas e o material foi levado ao laboratório para análise. Os ovos coletados nestas armadilhas permitiram estimar a abundância de adultos após a emergência e, posteriormente, a expressão e frequência dos alelos em áreas infestadas.



Figura 2– Modelo de ovitrapa provido de palheta de Eucatex e infusão de feno para oviposição dos espécimes do *Aedes aegypti*. Fonte: Foto de Rodrigues, 2019.

O trabalho no laboratório consistiu primeiramente na contagem dos ovos realizada na palheta através de um microscópio estereoscópio. Para certificar a presença de *Ae. aegypti*, a criação foi feita em pequenos aquários (500 mL de água), com uma quantidade de 5 a 100 larvas em cada um. As palhetas foram imersas nestes aquários, cobertos por um filó e devidamente identificados. A identificação taxonômica das larvas foi feita para quantificar sua abundância em cada ovitrapa. Foi colocado 100 mg de ração de peixe como alimento até desenvolverem-se as pupas. Após passarem pelos quatro estádios de desenvolvimento, pupação e posterior emergência dos adultos,

estes foram identificados e acondicionados em tubos de polipropileno, rotulados e congelados em freezer a uma temperatura de aproximadamente -20°C .

O uso da técnica de eletroforese objetiva investigar a expressão da esterase nas amostras biológicas, da avaliação de extrato total de mosquitos macerados. Esta técnica consiste na exposição de proteínas a uma corrente elétrica, por migração das moléculas através do gel em direção ao polo menos anódico, de acordo com seu peso molecular e/ou carga elétrica²³. O gel de poliácridamida permite visualizar a esterase a partir da eletroforese, por meio da separação da isoenzima, método este aplicável no modelo adaptado por Paiva *et al.*¹⁴.

A preparação de gel de poliácridamida consistiu em uma composição de 10% de Gel associado a 29% de acrilamida, 1% de bisacrilamida e tampão de tris gel, a pH alcalino de 8,8. Foi adicionado TEMED (N, N, N, N, tetrametil-etilenodiamina) e 10% de persulfato de amônia para polimerizar, obtendo um volume final de 25 mL de gel. Após a colocação das placas com o gel de poliácridamida nos módulos tub, foram adicionadas amostras de 8 a 12 locos em cada placa de eletroforese¹⁰.

Para verificar a expressão (banda clara) ou superexpressão (banda escura) da isoenzima, utilizou-se o seguinte procedimento: 1) após a corrida os géis foram imersos em solução corante pré-incubada por 30 minutos em 100 mL de tampão fosfato (NaH_2PO_4 0,2 M e Na_2HPO_4 0,2 M) a pH 6,0 e com adição de 4 mL de acetato de h-naftilo e 15 mL de álcool isopropílico; 2) em seguida adicionou-se 600 mg de corante (RR- Salt) dissolvido em 30 mL de álcool isopropílico e 50 mL de tampão fosfato; 3) 30 minutos de agitação para revelar o gel de poliácridamida; 4) disponibilizou-se em uma estufa a temperatura de 37°C por uma hora para revelar a expressão ou superexpressão da isoenzima.

Os resultados de 8 meses de amostragem foram analisados para formatação e estatística nos dois locais de amostragem (Cuiabá e Várzea



Grande). Os dados da expressão da enzima esterase e 2) e frequência de alelos em locais e períodos (e sua relação com a precipitação) foram analisados pelo Programa Statistic 7.0 usando a ANOVA – Análise fatorial de Variância. A partir do número de exemplares de *Ae. aegypti* (n) identificado durante os meses e locais de amostragem (municípios), considerouse o fator “meses” ou “locais” como variável preditora independente e o fator esterase como variável dependente.

Para utilizar a ANOVA, os dados foram logaritmizados para logx. Posteriormente, foi testada sua normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk como fator significativo para $p < 0,05$. O teste de Levene confirmou que as variâncias foram homogêneas após logaritmização.

Os resultados dos “alelos expressos” e a variável climatológica precipitação foram importantes descritores nas variáveis dependentes: 1. Alelos expressos e 2. Alelos superexpressos, que são unidades arbitrariamente definidas para estimar as mudanças alélicas ao longo dos períodos e ambientes analisados.

RESULTADOS

Os valores médios de precipitação estão disponíveis no gráfico *box plots* da Figura 3, de out/2015 a nov/2016. A ANOVA fatorial identificou diferenças significativas entre os períodos de amostragem (Figura 3a; $F_{13, 14} = 11,31$; $p < 0,01$) e as fases estacionais (Figura 3b; $F_{3, 24} = 11,48$; $p < 0,01$) para esta variável. O pico da enchente foi registrado em fev/2016, com a maior precipitação (297 mm \pm 56) e umidade relativa do ar (83% \pm 4). Os períodos com pouca ou nenhuma chuva estiveram registrados entre jun/2016 (5 mm \pm 4) e ago/2016 (0 mm \pm 0), pertinente à forte

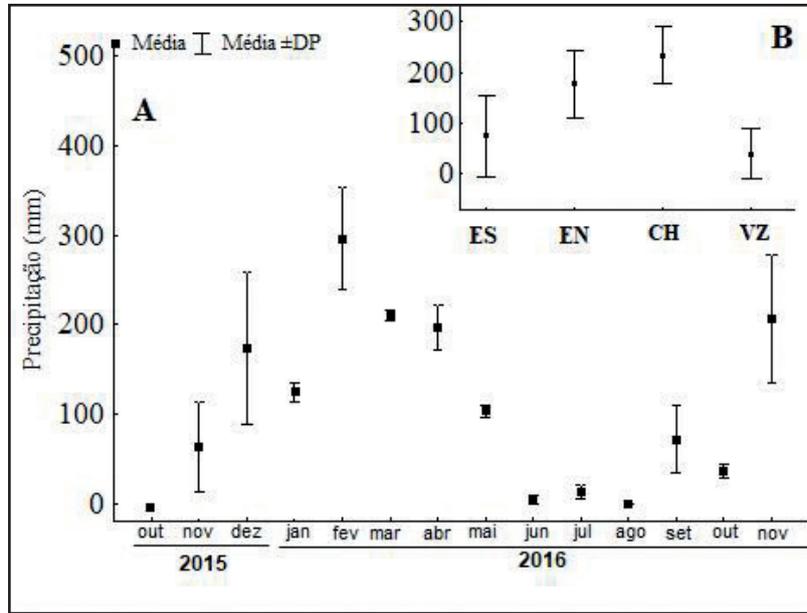
estiagem. Os valores médios da temperatura máxima ocorreram em out/2015 (35,79°C \pm 0,65) e os menores valores em jun/2016 (29,21°C \pm 0,97), enquanto que a temperatura mínima alcançou os menores valores em jul/2016 (15,52 \pm C \pm 1,18).

Um total de 385 espécimes de *Ae. aegypti* foi analisado para a expressão diferencial (mínimo =1, alelos expressos-bandas claras; máximo =2, alelos superexpressos-bandas escuras), nos dois locais de amostragem (Cuiabá: n = 191; Várzea Grande: n = 194).

Na Figura 4, observa-se a distinção na intensidade dos alelos expressos e superexpressos com uma característica expressão das bandas mais claras e bandas escuras da isoenzima, respectivamente. O grau de coloração das bandas, nos géis, refletiu o grau da síntese ou atividade das esterases (α -esterases), tendo para cada indivíduo de *Ae. aegypti* analisado em cada *locus*.

A ANOVA fatorial identificou diferenças altamente significativas na frequência dos alelos expressos e superexpressos entre os períodos considerados (Figura 5A; $F_{7,377} = 6,89$; $p < 0,01$) e entre as fases sazonais (Figura 5B, $F_{3, 381} = 14,74$; $p < 0,01$). Ambos diminuíram em mar/2016 (Figura 5a), no período de “pico das águas” e retomaram um aumento de maio a novembro de 2016. Uma tendência de aumento na frequência dos alelos expressos entre out/2015 (30% \pm 88) e fev/2016 (89% \pm 55) foi registrada, enquanto que alelos superexpressos apresentaram populações com maiores atividades metabólicas em jun/2016 (42% \pm 91), em período de vazante (Figura 5b).

Os valores médios da frequência dos alelos expressos e superexpressos variaram também entre os municípios. Alelos expressos aumentaram ligeiramente nos espécimes de Várzea Grande (75% \pm 41,36) e os alelos superexpressos reduziram nos dois municípios (Figura 6), com uma leve tendência de aumento em Cuiabá (46% \pm 24), significativo entre os locais de amostragem ($F_{2, 13} = 12,39$; $p < 0,01$).



Número de exemplares analisados: Estiagem (n=68); Enchente (n=161); Cheia (n=161); vazante (n=38).

Figura 3- Valores médios de precipitação (mm) entre os períodos de amostragem (A) e entre as fases sazonais (B), no período de out/2015 a nov/2016 dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, estado de Mato Grosso.

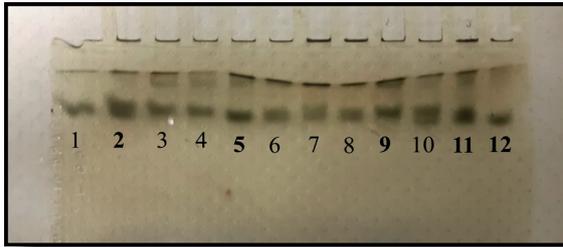
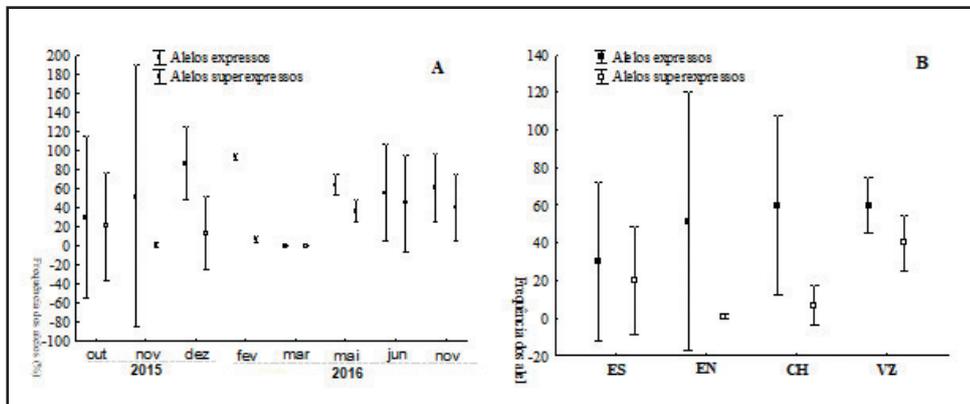
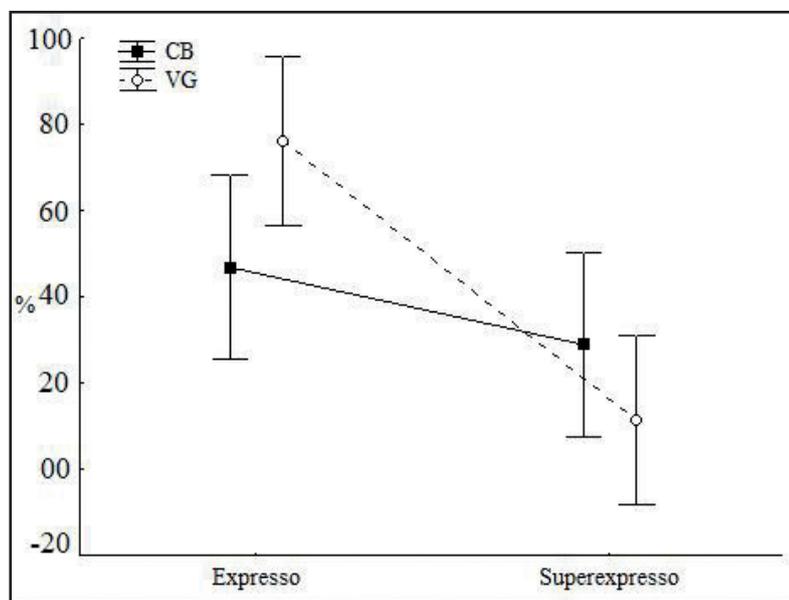


Figura 4- Gel poliacrilamida com as bandas esterásicas de *Ae. Aegypti* que mostram os resultados dos alelos expressos (1, 3, 4, 6, 7, 8, 10) e superexpressos (2, 5, 9, 11, 12), em cada locus.



Número de exemplares analisados: ES-Estiagem (n=68); EN-Enchente (n=161); CH-Cheia (n=161); VZ-Vazante (n=38).

Figura 5- Valores médios dos alelos expressos entre os períodos de amostragem (A) e entre as fases sazonais (B), no período de out/2015 a nov/2016 dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, estado de Mato Grosso.



Legenda - CB: Cuiabá; VG: Várzea Grande.

Figura 6– Valores médios da frequência de alelos entre os locais de amostragem (municípios de Cuiabá e Várzea Grande) - período de out/2015 a nov/2016.

A figura 7 representa a variação dos valores médios da precipitação (mm) e da frequência dos alelos expressos significativos entre os períodos (F14, 14=4.22; $p < 0.01$). Com a ausência de chuvas em out/2015, os valores médios de precipitação e da frequência dos alelos expressos estiveram reduzidos (63 mm \pm

50; 30% \pm 42, respectivamente) e a partir de nov/2015 ((174 mm \pm 86; 52% \pm 68; enchente) a fev/2016 (185 mm \pm 48; cheia), houve um incremento dos alelos com a precipitação. Peculiarmente, o oposto foi registrado em mar/2016 (197 mm \pm 26), com redução da frequência alélica (0% \pm 0).

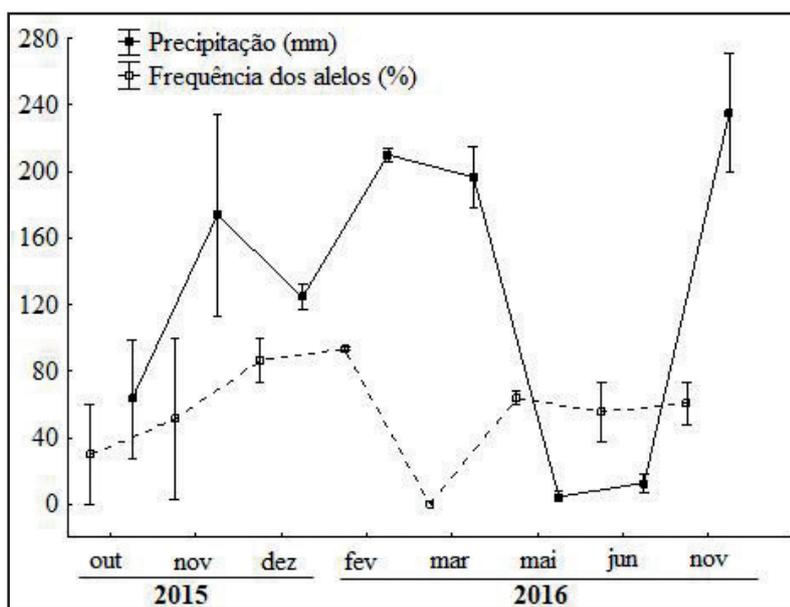


Figura 7– Valores médios de Precipitação (mm) e frequência de alelos expressos, no período de out/2015 a nov/2016 dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, estado de Mato Grosso.



DISCUSSÃO

As diferenças altamente significativas dos valores da frequência dos alelos expressos nas populações estudadas entre os períodos e as fases sazonais mostraram a complexidade envolvida nas peculiaridades do vetor e revelaram a dificuldade de manter um único modelo de controle que é utilizado ao longo do ano.

A redução da expressão alélica durante a cheia de mar/2016 provavelmente esteve relacionada à disponibilidade de um maior número de criadouros às áreas adjacentes ao local de amostragem, ou a presença de outros substratos nos microhabitats que atraem as fêmeas para oviposição extrínseca às armadilhas, com uma consequente redução da abundância dos vetores nas ovitrampas. Entretanto, observou-se que nos períodos antecedentes, mesmo durante a cheia (fev/2016), as ovitrampas mostraram-se sensíveis para captura de adultos e detecção da presença dos ovos dos mosquitos após sua oviposição nas palhetas. Desta forma, a frequência alélica aumentou em 89% para aquele período. O seu registro nas áreas biomonitoradas nos dois municípios mostrou que estas armadilhas foram importantes ferramentas^{24,21} para vigilância e detecção em áreas de risco com a presença de *Ae. aegypti*, mesmo que a abundância tenha sido reduzida esporadicamente em alguns locais e períodos.

A variabilidade na expressão das bandas de esterases entre os locais de amostragem e entre os períodos foi verificada em acordo com a primeira hipótese, com alta significância, principalmente em relação à precipitação sazonal. Houve, portanto, diferenças significativas de frequência nas bandas esterásicas, cujos resultados demonstraram que, em geral, a variabilidade da expressão alélica respondeu ao regime de chuva em determinado período de incremento da precipitação (fev/2016), e consequente aumento dos alelos expressos. O regime de chuvas determina o crescimento populacional de *Ae. aegypti*², como registrado para a expressão dos alelos nos resultados desta pesquisa. De outra sorte, a influência de fatores ambientais, principalmente a precipitação e temperatura, foi marcante na dinâmica populacional da espécie em questão²⁵.

A análise das isoenzimas esterásicas fornece

dados importantes a respeito das populações estudadas. Os resultados dos géis com alelos superexpressos denotaram aumento de mecanismos metabólicos de alguns exemplares de *Ae. aegypti*, provavelmente pertinente à redução do emprego de inseticidas em período de estiagem/vazante, ou resultantes de populações mais antigas que deixaram poucos indivíduos com a maior expressão alélica²³. O incremento da esterase nos períodos de seca (jun/2016) e os maiores valores médios de expressão da enzima em Várzea Grande (75%±41,36) pode estar relacionado a algumas características biológicas dos mosquitos, e mesmo seu fitness reprodutivo diante da pressão ambiental com o uso de inseticidas pelos órgãos públicos ou particularmente pelas pessoas residentes próximo aos locais dos criadouros. Muitos organismos vetores favorecem o desenvolvimento de sua resistência frente a essa pressão via compostos químicos, incorporando a maior concentração das esterases¹⁴ em seus organismos nas próximas gerações como forma de adaptação, cujos descendentes poderão sustentar o maior número de alelos expressos¹⁵ para este fator (resistência)³. Assim, compostos químicos não produzirão o efeito tóxico esperado em seu organismo²⁶. Os resultados do *box plot* mostraram que alelos “superexpressos” alcançaram em torno de 30% nas populações analisadas em sua frequência no município de Cuiabá, e os vetores deixaram uma maior expressão alélica à seus descendentes adaptados às áreas de risco²³.

Diferenciação genética de populações foram observados nos primeiros estudos de estrutura genética realizados em *Ae. aegypti* no Brasil²⁷. A segunda hipótese mostrou-se pertinente à variabilidade do grau de expressão e frequência dos alelos nas diferentes populações vetoriais. Quando as chuvas diminuíram no período de vazante, houve um ligeiro aumento nos alelos superexpressos ou em resposta a processos que possam gerar adaptabilidade ambiental ou que a maioria dessas variações seja pertinente ao acaso. Souza-Polezzi e Bicudo¹² sugeriram que a substituição de alelos decorrente da pressão ambiental ou mesmo na oscilação genética seria



um fator para essa incerteza.

Zara *et al.*¹³ afirmaram que a quiescência dos ovos permite a manutenção do ciclo na natureza durante as variações climáticas sazonais, uma vez que a viabilidade dos ovos de *Ae. aegypti* chega até cerca de 492 dias na seca, eclodindo após contato com a água. A falta de sustentabilidade no combate ao mosquito acaba por favorecer a espécie, que atravessa a fase mais crítica na forma de ovos resistentes²⁵.

Os resultados da presente pesquisa com a variabilidade da α -esterase observada em populações adultas através dos valores médios de frequência entre os municípios e entre as fases sazonais, a razão de frequência dos alelos expressos e superexpressos nos locais revelou a necessidade de programas e intervenções cada vez mais pontuais e temporais, já que a quantidade de insetos, distribuição periódica e características metabólicas mudam muito de um espaço para outro, o que pode denotar o tipo de biomonitoramento mais apropriado no manejo de sua resistência¹⁶.

Muthusamy e Shivakumar²⁸ mostraram que uma população de *Ae. aegypti* de Namakkal (Índia) teve uma alteração no seu estado de susceptibilidade, enquanto as outras populações foram moderadamente suscetíveis aos inseticidas e mostraram aumento da atividade da α - β -esterase local, bem como evidências de insensibilidade da acetilcolinesterase. Entretanto, Alvarez *et al.*²⁹, encontraram populações larvais

do oeste da Venezuela suscetíveis, com baixas taxas de resistência e sem superexpressão de enzimas. A maioria dos trabalhos com *Ae. aegypti* voltados à análise dos perfis esterásicos refere-se à quantificação de esterase total, avaliada no extrato de mosquitos macerados inteiros^{11,23}, cujas informações auxiliam na obtenção de recursos para seu gerenciamento voltado ao emprego de inseticidas. Esta pesquisa com as ovitampas auxiliou na captação e vigilância de vetores nos dois municípios biomonitorados e permitiu a utilização das amostras coletadas através da identificação da presença/ausência de enzimas específicas, como investigação de sua atividade metabólica local e temporalmente.

O registro e o aumento da variabilidade das esterases nas amostras analisadas comprovou que as populações mostraram-se metabolicamente ativas aos mecanismos primariamente utilizados. Como destacado por Vasconcelos³⁰, é consenso entre os pesquisadores que o combate ao vetor requer um esforço crescente da comunidade científica pertinente à verificação dos processos de mutação e adaptação, bem como a rápida disseminação de novos vírus, como ocorreu no Brasil no final de 2015, quando foi registrado um grande número de casos de microcefalia causada pelo vírus Zika³¹. Todo o esforço necessário deve ser empreendido para o combate a esta arbovirose, e os diversos setores de saúde pública são responsáveis por executar as ações de vigilância no Brasil.

CONCLUSÃO

A investigação do mecanismo de resistência das populações de *Ae. aegypti* nos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, exibido pelos resultados dos alelos expressos e superexpressos, consistiu na obtenção dos níveis de esterases. Os resultados registrados neste estudo indicaram que o método de uso de ovitampas e os marcadores de isoenzimas

esterásicas foi sensível o suficiente para detectar variações na frequência dos alelos expressos, em populações naturais deste vetor nos dois municípios. De uma maneira geral, a frequência do alelo de resistência foi diferente entre os dois municípios estudados, o que pode indicar um efeito de seleção de distintos ambientes sobre os alelos, até como a presença de criadouros.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem à equipe do Laboratório de Entomologia e Genética da Universidade Federal de Mato Grosso pelo espaço concedido para análise laboratorial e à Universidade de Cuiabá. Este trabalho foi financiado pelo FAPEMAT (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso) de acordo com o Edital de Convocação Universal FAPEMAT nº 005-2015. 222796/2015 em parceria com a UNEMAT (Universidade do Estado de Mato Grosso) and IFMT (Instituto Federal de Mato Grosso).

REFERÊNCIAS

1. Souza KR, Santos MLR, Guimarães ICS, Ribeiro, GS, Silva LK. Saberes e práticas sobre controle do *Aedes aegypti* por diferentes sujeitos sociais na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. 2018; 34(5):e00078017
2. Lima-Camara TN. Arbovírus emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. *Revista de Saúde Pública* 2016. 50:36.
3. Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: histórico de controle no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. Brasília, 2007a. 16: 113-118.
4. Cesarino MB, Dibo MR, Zöllner Ianni AM, Vicentini ME, Ferraz AA, Chiaravalloti-Neto F. The difficult interface between vector control and primary care: insertion of dengue fever vector control agents into health teams at the primary health centers in São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. *Saúde Soc*. São Paulo, 2014; v.23, n.3, p.1018-1032.
5. Miyazaki RD, Ribeiro ALM, Pignatti MG, Campelo Júnior JH e Pignati M. 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*. 2009 jul-ago; 42(4):392-397.
6. Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, Brasília, 2007a; 16: 179-293.
7. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AG. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1952; 46:509-20.
8. Forattini OP. *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia* [Internet]. São Paulo: EDUSP; 2002. 864 p.
9. Depoli PAC, Zequi JAC, Nascimento KLC, Lopes J. Eficácia de Ovitrapas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *EntomoBrasilis* (Vassouras), 2016; v. 9, p. 51-54.
10. Rodrigues, FAC. *Ecogenotoxicologia dos agrotóxicos: avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e área de proteção ambiental*. 97 f. Tese (Doutorado em Patologia Molecular) - Universidade de Brasília. 2006.
11. Lima-Catelani ARA, Ceron CR, Bicudo HEMC. Genetic variation during development, revealed by esterase patterns of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Biochemical Genetics*, New York, 2004; 42: 69-84.
12. Souza-Polezzi RC, Bicudo HEMC. Genetic variation along time in a Brazilian population of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), detected by changes in the esterase patterns. *Genetica*, Dordrecht, 2005; 125 (1): 43-53.
13. Zara ALSA, Santos SM, Carvalho R G, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. Brasília, 2016; 25 (2):391-404.
14. Paiva, MHS, Lovin DD, Mori, A, Melo-Santos MAV, Severson DW, Ayres CFJ. Identification of a major Quantitative Trait Locus determining resistance to the organophosphate temephos in the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. *Genomics*. Bethesda, 2016; 107: 40-48.
15. Gambarra WPT, Martins WFS, Lucena FML, Albuquerque IMC, Apolinário OKS, Beserra EB. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2013; 46(2):178-184.
16. Guirado MM, Bicudo, HEMC. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Boletim Epidemiológico Paulista*, São Paulo, 2009; 6(64):5-14.
17. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Áreas territoriais. Rio de Janeiro. 2017a. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/area.shtm>>.
18. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Cidades. Rio de Janeiro: IBGE, 2017b. Disponível em <<https://cidades.ibge.gov.br/v4>>.
19. Fay RW, Perry S. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News*. 1965; 25:276-281.
20. Alarcon E P., Segura AM, Rúa-Urbe G, Parra-Henao G. Ovitrapas evaluation for surveillance and control of *Aedes aegypti* in two urban settlements of Uraba, Antioquia. *Biomedica*. 2014; 34(3): 409-424.
21. Depoli PAC, Zequi JAC, Nascimento KLC, Lopes J. Eficácia de Ovitrapas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *EntomoBrasilis* (Vassouras), 2016; v. 9, p. 51-54.
22. Tilak R, Gupta V, Suryam V, Yadav JD, Dutta Gupta KK. Laboratory investigation into oviposition responses of *Aedes aegypti* to some common household substances and water from conspecific larvae. *Medical Journal Armed Forces*, New Delhi, 2005; 61: 227-229.
23. Bisset JA, Roriguez MM, Fernandez D. Selection of insensitive acetylcholinesterase as a resistance mechanism in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) from Santiago de Cuba. *Journal of Medical Entomology*. Lanham, 2006; 43: 1185-1189.
24. Chadee DD, Ritchie SA. Efficacy of sticky and standard ovitraps for *Aedes aegypti* in Trinidad, West Indies. *Journal of Vector Ecology*, 2010; 35(2):395-400.
25. Natal, D. *Bioecologia do Aedes aegypti*. *Biológico*, São Paulo, 2002 jul/dez; 64(2): 205-207.
26. Belinato TA, Martins AJ. Insecticide resistance and fitness cost. In: TRDAN, S. (Ed.). *Insecticides resistance*. Botswana: InTech, 2016; p. 243-261.
27. Monteiro AM, Shama R, Martins AJ, Gloria-Soria, A, Brown JE, Powell JR. Genetic diversity of Brazilian *Aedes aegypti*: patterns following an eradication program. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, San Francisco, 2014; 8(9): 3167.
28. Muthusamy R, Shivakumar MS. Susceptibility status of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to temephos from three districts of Tamil Nadu, India. *J Vector Borne Dis*. June 2015; 52: 159-165.
29. Alvarez, LC, Ponce G, Oviedo M, Lopez B, Flores AE. Susceptibility status of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to temephos in Venezuela. *Pest Manag Sci*, 2014; 70:1262-1266.
30. Vasconcelos P. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, 2002; 5: 244-258.
31. Zammarchi L, Tappe D, Fortuna C, Remoli ME, Günther S, Venturi G, Bartoloni A, Schmidt-Chanasit J. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. *Euro Surveillance: Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles*, European Communicable Disease Bulletin, v. 20, n. 23, 2015.
32. Donalísio, MR., Glasser, CM. Vigilância entomológica e controle de vetores da Dengue. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 2002; 5(3): 259-272.

Recebido em abril de 2019.
Aceito em outubro de 2019.

