III CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA HUMANA ON-LINE — CONBRAPAH 2023

MUTAÇÕES *KDR* EM *Aedes aegypti* E A PREVALÊNCIA DA DENGUE NO EXTREMO NORTE DO BRASIL PRÉ E PÓS-PANDEMIA DA COVID-19

RAMÃO LUCIANO NOGUEIRA HAYD , JOEL DE MELO LIMA

RESUMO
Este trabalho de revisão tem como objetivo discutir como ocorrem as mutações kdr no *Aedes aegypti* a partir de pesquisas e estudos realizados no Brasil, bem como definir como elas agem nos estados de Roraima no Brasil e na Venezuela, visto que, devido ao grande fluxo gênico e a localização geográfica da fronteira entre os dois países, acaba por torná-la um local propício para a entrada de novos sorotipos de dengue e novas doenças, além de definir quais famílias de enzimas atuam no processo de resistência aos inseticidas piretroides.
Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Inseticidas. Mutação Kdr. Brasil. Venezuela

1 INTRODUÇÃO

O controle químico utilizado nas estratégias de controle e monitoramento de vetores nos últimos anos responde por grande parte da existência de populações de mosquitos resistentes a inseticidas, mas sua maior contribuição vem da base genética (BELINATO, 2016).

Um desses aspectos que se beneficiam da base genética é a resistência a inseticidas piretróides, comumente denominadas mutações kdr, presentes no mosquito *Aedes aegypti* (LINSS, 2014).

Nessa perspectiva, avaliar o impacto dos controles químicos na seleção de populações resistentes, bem como a evolução da resistência presente nessas populações, requer considerar fatores biológicos e ambientais (BELINATO, 2016).

No entanto, observamos que há um grande fluxo gênico na fronteira Brasil/Venezuela, fato que pode aumentar a entrada da espécie no território brasileiro, já que na Venezuela *Ae. aegypti* nunca havia sido erradicado, tornando-se o principal ponto de partida de novos sorotipos do vetor para regiões limítrofes de alto tráfego e imigração (KOTSAKIOZI, 2017; HAYD et al., 2020).

Assim, este trabalho visa proporcionar aos futuros pesquisadores, gestores e profissionais da área da saúde um melhor entendimento sobre o vetor *Ae. aegypti*, e como realmente ocorre a mutação *kdr*, além de auxíliar no gerenciamento de pesquisas e projetos voltados para este conteúdo, como o controle de doenças causadas por este mosquito e conter futuras arboviroses endêmicas. Também evidenciamos a incidência da dengue no período de 5 anos em Roraima compreendendo o período pré e pós-pandemia da Covid-19.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo exploratório de pesquisa bibliográfica e epidemiológica, com abordagem quali-quantitativa. O objetivo é levar o leitor à novas ideias e percepções por meio

DOI: 10.51161/conbrapah2023/18512

da busca pela ampliação do conhecimento a fim de se responder à pergunta específica que é característica deste tipo de estudo.

Este trabalho foi realizado a partir de uma revisão de literatura em busca de artigos científicos de bibliotecas digitais como Scielo e PLOS (Public Library of Science) e foram selecionados a partir de buscas nas plataformas Bireme, Medline e Scholar google. Palavras-chave da pesquisa: *Aedes aegypti*; Dengue; Roraima; Resistência; América latina.

Também utilizamos dados da Secretaria Estadual de Saúde de Roraima através da CGVS Núcleo de Vigilância Epidemiológica.

Após a obtenção dos resultados, os critérios de exclusão adotados foram: títulos que não possuam relação com a temática e artigos que tenham os termos "Aedes" e "resistência" no título. Posteriormente, foi realizada a leitura do resumo de cada artigo separadamente e os que não contemplaram o objetivo geral da pesquisa e fatores correlacionados a este também foram excluídos. Os artigos restantes foram utilizados para o confeccionamento do estudo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As evidências também foram analisadas no estudo desenvolvido com populações naturais brasileiras de *Aedes aegypti*, no qual foi investigada a composição alélica nos sítios de mutação kdr, respectivamente 1016 e 1534 do canal de sódio controlado por voltagem (AaNa V), com a descoberta do mutação no sítio Phe1534Cys (LINSS, 2014).

A mutação *kdr* no *Aedes aegypti*

A resistência a inseticidas pode estar diretamente associada a mutações no sítio alvo do piretróide, que seriam mutações knockdown (kdr) (Martins et al. 2009) ou reações metabólicas, sendo que o aumento dessa atividade compreende as três principais famílias de enzimas carboxilesterases, citocromo p450 monooxigenases e glutationa-S-transferases (GST) (Belinato & Martins, 2016) e são comumente superexpressas.

A resistência aos inseticidas está relacionada à pressão seletiva, ou seja, aqueles que mesmo após a exposição aos inseticidas químicos conseguem sobreviver (BRAGA e VALLE, 2007). Essa exposição não gera alterações genéticas no inseto, porém seleciona os indivíduos menos suscetíveis ao inseticida. Segundo Batista (2012), não é possível calcular ou ter dados completos sobre o uso desse tipo de inseticida em domicílios, embora se acredite que esse meio seja a causa da resistência na população de mosquitos.

Panorama histórico do *Aedes aegypti* em Roraima

Quando criado em 1992, o estado de Roraima apresentava alguns dos melhores indicadores de renda e desenvolvimento humano na Amazônia e até do país. Ao longo dos anos de 1990, esses indicadores evoluíram para melhor em todas as regiões do país, e Roraima seguiu a tendência nacional. Geograficamente Roraima se encontra em local estratégico para a vigilância epidemiológica devido suas fronteiras internacionais. Entre 1981 e 1982, o sorotipo 1 e 4 da dengue causou uma incidência de aproximadamente 11 mil casos na capital Boa Vista, caracterizando a reintrodução da doença no Brasil, provavelmente importada da Venezuela, onde circulavam os 4 sorotipos da dengue (OSANAI, 1984; NAVECA et al., 2011). A tabela 1 demonstra um panorama histórico das arboviroses em Roraima.

DOI: 10.51161/conbrapah2023/18512

Tabela 1: Cronograma histórico da ocorrência de dengue, e outras arboviroses urbanas, e o controle do *Aedes aegypti* em Roraima.

Período	Tipo de ocorrência
1981 – 1982	Ocorrência de epidemia de dengue sorotipos I e IV em Boa Vista, RR (Osanai, 1984).
1982-1986	Campanha intensa de combate ao *Aedes aegypti* (eliminação de criadouros, tratamento de água potável, nebulização espacial e vacinação contra febre amarela em Boa Vista, RR) (Carneiro & Carneiro, 2011).
1992-1996	Precariedades nas informações de monitoramento e controle do *Aedes aegypti*. Falha na gestão do sistema de vigilância entomológica e epidemiológica, levando à dispersão do vetor no Estado. (Carneiro & Carneiro, 2011; Souza, 2012).
1999	Roraima enfrentou uma epidemia de dengue, afetando principalmente Boa Vista, que concentrou 98,3% dos casos de RR. (Sesau-CGVS, 2019).
2001	Os coeficientes de incidência da dengue mostraram que os três bairros mais afetados em 2000 e 2001 foram: São Pedro, Centro e 31 de março (1999); 31 de março, Piscicultura e Bairro dos Estados (2000), Buritis, São Vicente e São Francisco (2001). Taxas de infestação por *Ae. aegypti*, em 2001, mostrou que Santa Luzia, Paraviana e Buritis tiveram as maiores taxas. (Roraima, 2013)
2006/2007	Observou-se uma correlação positiva entre a dispersão e o número de ovos e a precipitação, mostrando que a população de *Ae. aegypti* aumentou durante a estação chuvosa, provavelmente devido ao acúmulo de água em reservatórios naturais e / ou artificiais. (Roraima, 2013).
2007-2009	Ocorrência dos sorotipos 1, 2 e 3 de dengue em Roraima (Carneiro & Carneiro, 2011; Roraima 2014).
2010	Depois de isolados em 1982 e erradicados do Brasil, Roraima sofreu uma grave epidemia de dengue com a reinserção do sorotipo DENV4 (Naveca et al 2011), além dos casos dos sorotipos 1 e 2 da dengue circulando no país. Esse fato levou o governo a intensificar suas ações para combater o vetor, eliminando locais de reprodução, aplicação de larvicida diflubenzuron em possíveis locais permanentes de reprodução e pulverização de piretroide. No entanto, essas medidas não apenas não diminuíram as taxas de infestação de mosquitos, mas estimularam um aumento rápido e considerável nos níveis de resistência aos piretroides. Nesse caso, provavelmente devido à pressão seletiva adicional pelo o uso de inseticidas domésticos. (Carneiro & Carneiro, 2011; Maciel-de-Freitas et al 2014).
2000-2013	74.712 casos de dengue e 37.788 confirmados (50,5% dos casos) nesse período, com coeficiente de incidência variando entre 1.266,04 (4.107 / 324.397) por 100.000 habitantes em 2000 e 183,16 (894 / 488.072) em 2013 (Roraima 2013). Um total de 7.026 casos foi confirmado na epidemia de dengue em 2010 em Roraima. (Roraima, 2015).
2014	A Chikungunya foi registrada pela primeira vez em Roraima em meados de 2014 e em novembro, no bairro de Pricumã, Boa Vista, com 10 pacientes brasileiros, além de seis e dois importados da Venezuela e Guiana, respectivamente (SESAU-CGVS, 2018).
2015	O vírus Zika foi relatado em Roraima em 2015, diagnosticado em 10 recém-nascidos com microcefalia. (SESAU-CGVS, 2018).
2017	Roraima registra sua primeira epidemia de Chikungunya com 3956 casos confirmados (SESAU-CGVS, 2018).
2020	Avaliado impacto econômico das principais arboviroses urbanas transmitidas pelo *Aedes aegypti* em Roraima (Hayd et al., 2020).

Quando verificamos a questão do alelo selvagem em populações de *Aedes aegypti* das localidades de Boa Vista, Pacaraima, Rorainópolis e Bonfim no ano de 2018 evidenciamos a ausência do alelo selvagem. Destacamos aqui as cidades fronteira como Bonfim e Pacaraima onde o R2 prevalece visivelmente superior as demais localidades avaliadas. Hayd et. al., (2020) em seu estudo sobre a resistência ao inseticida piretroide em *Ae. aegypti*, do estado de Roraima, verificou que já era alto em avaliações anteriores. Registros foram feitos em 2007 e 2010, na capital Boa Vista, o *Aedes aegypti* foi detectado a resistência ao inseticida piretroide (Maciel-de-Freitas et al 2014; Belinato, Martins e Valle 2012). Em 2011, estudos realizados com *Ae.*

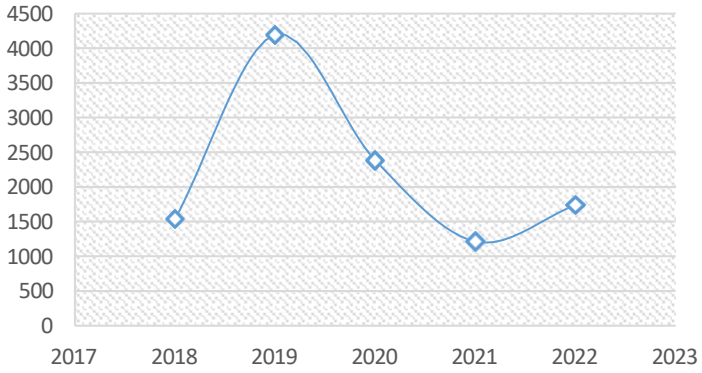
aegypti coletados em Pacaraima, fronteira com a Venezuela, apresentaram a segunda razão de maior resistência (RR 95 = 60,3) detectada naquele ano em todo o país (Valle et. al., 2019).

Hayd et. al., (2020) realizou testes de resistência com doses de 0,05 g/L e 1,2 g/L e em todas as localidades apresentaram resistência. A WHOPES, divisão da OMS que orienta sobre os testes com inseticidas, tinha definido uma dose diagnóstica para piretroide de 0,03 g/L.

Especulamos que o *hadrótipo de kdr* Na_VR2 em populações de *Ae. aegypti* naquela região deveriam ter migrado principalmente da Venezuela, uma vez registrada no estado de Roraima pelo menos desde 2010, quando estava ausente ou em baixa frequência nos vizinhos estados do Amazonas e Pará (Linss et al 2014).

Quando visualizamos a figura 3 podemos avaliar a questão dos casos de dengue em um período de 5 anos, compreendidos entre os anos de 2018 a 2022 em Roraima, Brasil. De acordo com a figura 1 verificamos uma sazonalidade a cada período de estudo onde após um número reduzido de casos no ano seguinte há um aumento significativo com o triplo do número de casos do ano anterior.

Figura 1: Casos de dengue em Roraima nos anos de 2018 a 2022.



Fonte: CGVS-SESAU-RR

A expressão de genes relacionados à resistência metabólica foi detectada em populações de *Ae. aegypti* do Caribe, como a Guiana Francesa e das ilhas das Antilhas Francesas (GOIDIN, et al 2017; DUSFOUR, et al., 2015). Esses mecanismos metabólicos relacionados, no entanto, são difíceis de associar a uma classe específica de inseticida. Por outro lado, os altos níveis de resistência aos piretroides em Roraima poderiam ser parcialmente justificados pela ausência do haplótipo selvagem do gene do canal de sódio regulado por voltagem NaVS, o que já tinha sido observado em populações coletadas em 2010 e 2011 de Boa Vista e Pacaraima (LINSS, et.al., 2014).

No estudo de Hayd et al., (2020) evidenciaram que o alelo NaVS continua ausente nas populações avaliadas, com predominância do duplo *kdr* NaVR2 (1016Ile+ + 1534Cyskdr), exceto em Rorainópolis, onde predomina o NaVR1 (1016Val+ + 1534Cyskdr).

4 CONCLUSÃO

Populações de *Ae. aegypti* do estado de Roraima continuam altamente resistentes a piretroide e mostram-se em desenvolvimento para resistência ao malathion. Alelos kdr, que estão entre os principais mecanismos de resistência piretroides, estão provavelmente fixados nas populações de Roraima, parcialmente justificando os níveis de resistência a estes compostos.

DOI: 10.51161/conbrapah2023/18512

Atenção especial deve ser dada a Roraima por se tratar de um Estado que faz fronteira com dois países (Venezuela e República da Guiana) e podem ser duas portas de entrada de populações resistentes a inseticidas.

Sugerimos um constante monitoramento da resistência nas populações de *Ae. aegypti* e correto manejo do uso de inseticidas no Estado para que se tenha potencial de reverter a resistência à esta classe mais facilmente.

REFERÊNCIAS

Adegas, M. G.; Barroso-Krause, C.; Lima, J. B. P.; Valle, D**. Parâmetros de Biossegurança para Insetários e Infectórios de Vetores.** Ministério da Saúde. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro FIOCRUZ, 2005. 64p.

Alvarez, L.C.; Ponce, G.; Oviedo, M.; Lopez, B.; Flores, A.E. Resistance to Malathion and Deltamethrin in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) From Western Venezuela. **Journal of Medical Entomology,** v. 50, n.5, Sept. 2013. Downloaded from https://academic.oup.com/jme/article-abstract/50/5/1031/904290

Alves Filho, J.P. **Uso de agrotóxicos no Brasil: Controle social e interesses corporativos.** São Paulo. Ed. Annablume. FAPESP, 2002. 188p.

Azevedo, R. S. S,; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. C. Risco do Chikungunya para o Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, n. 58, p. 6, set. 2015.

Belinato TA, Martins AJ. **Insecticide Resistance and Fitness Cost**. In: Trdan S, editor. Insecticides Resistance: InTech; 2016. p. 243-61

Braga IA, San Martin JL. Histórico do Controle de *Aedes aegypti*. In: Fiocruz, editor. **Dengue: Teorias e práticas.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2015.

Brito, L.P., Linss, J.G.B., Lima-Camara, T.N., Belinato, T.A., Peixoto, A.A., Lima, J.B.P., Valle, D., Martins, A.,. Assessing the effects of *Aedes aegypti* kdr mutations on pyrethroid resistance and its fitness cost. **PLoS One** 8 (4), e60878. 2013.

Carneiro, I.; Carneiro, C.O. **Plano de Contingência Para o Enfrentamento de Epidemia de Dengue no Município de Boa Vista – Roraima**. Superintendente da Vigilância em Saúde/SMSA, Boa Vista – Roraima – 2011.

Carvalho RG, Lourenço-de-Oliveira R, Braga IA. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2014 Sep;109(6):787-96.

Chapadense, F.G.G.; Fernandes, E.K.K.; Lima, J.B.P.; Martins, A.J.; Silva, L.C.; Rocha, W.T.; Santos, A. H.; Cravo, P. Perfil fenotípico e genotípico da resistência a piretróides em populações de *Aedes aegypti* de Goiânia, Centro-Oeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Goiás, v.48, n.(5), p. 607-609, Sep-Oct, 2015

Corbel, V, Fonseca, D.M. Weetman, D. Pinto, J, Achee, N.L. Chandre, F. Coulibaly, M.B. Dusffour, I. Grieco, J, Juntarajumnng, W. Lenhart, A, Martins, A.J. Moyes, C.N.G. Raghavendra, K. Vatandoost, H., Vontas, J, Mulller, P. Kasai, S, Fouque, F., Velayudhan, R.

Durot, C. Jean-Philippe D. Workshop internacional sobre resistência a inseticidas em vetores de arbovírus, dezembro de 2016, Rio de Janeiro, Brasil. Rev. **Parasites & Vectors**, v.10, p.278, Jun. 2017.

Crow JF. Genetics of insect resistance to chemicals. **Annu Rev Entomol.** 1957;2:227-46. doi: Doi 10.1146/Annurev.En.02.010157.001303. PubMed PMID: WOS:A1957WQ98000013.

Departamento de Vigilância Epidemiológica. (2018). **Relatório Anual de Epidemiologia de Roraima 2017**. Boa Vista, RR: DVE.

Donalisio, M.R.; Freitas, A.R.R.; Zuben, A.P.B.V. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a Clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, [S. I.], v. 51, n. 30, p. 1-6, 2017.

Forattini, O. P. 2002. Culicinae: Aedini. In: **Culicidologia Médica**. Volume 2. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. p. 403-484.

Garcia, G. A.;, et al., The impact of insecticide applications on the dynamics of resistance: The case of four *Aedes aegypti* populations from different Brazilian regions. **PLOS Neglected Tropical Diseases,** Thailand, v. 12, n. 2: February 12, 2018.

Goindin, D.; Delannay, C.; Gelasse, A.; Ramdin, C.; Gaude, T,; Faucon, F.;Jean-Philippe, D.; Gustave, J.; Vega-Rua, A.; Fouque, F. Levels of insecticide resistance to deltamethrin, malathion, and temephos, and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from the Guadeloupe and Saint Martin islands French West Indies). **Infectious Diseases of Poverty**. 6:38. 2017.

Hayd, R.L.N., Carrara, L., de Melo Lima, J. et al. Evaluation of resistance to pyrethroid and organophosphate adulticides and kdr genotyping in *Aedes aegypti* populations from Roraima, the northernmost Brazilian State. **Parasites & Vectors** 13, 264 (2020). https://doi.org/10.1186/s13071-020-04127-w 2020.

Kotsakiozi, P.; Gloria-Soria, A.; Caccone, A.; Evans, B.;Schama, R.; Martins, A.J.; Powell, J.R. Tracking the return of *Aedes aegypti* to Brazil, the major vector of the dengue, chikungunya and Zika viroses. **PLoS Negl Trop Dis**, v.11, n.7, jul. 2017.

Lima JB, Da-Cunha MP, Da Silva RC, Galardo AK, Soares Sda S, Braga IA, Ramos RP, Valle D 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espirito Santo, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, 68, 329-333.

Linhares, R.E.C.; Lopes, N.; Nozawa, C.. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

Linss JG, Brito LP, Garcia GA, Araki AS, Bruno RV, Lima JB, Valle D, Martins AJ 2014. Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. **Parasit & Vectors**, 7, 25.

Lourenço-de-Oliveira R, Vazeille M, de Filippis AM, Failloux AB 2003. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of

Aedes albopictus from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. **Am J Trop Med Hyg**, 69, 105-114.

Maciel-de-Freitas, R.; Avendanho, F.C.; , Santos, R.;, Sylvestre, G.; Araujo, S. M .; Lima, J. B. P.; Martins, A. J.; Coelho, G. H.; Valle, D. Undesirable Consequences of Insecticide Resistance following *Aedes aegypti* Control Activities Due to a Dengue Outbreak. **PLOS ONE** | www.plosone.org 1 March 2014 | Volume 9 | Issue 3 | e92424.

Martins, A.J.; Brito, L.P , Linss, J.G.B.; Rivas,G.B.S.; Machado, R.; Bruno, R.V.; Lima, J.B.P.; Valle, D.; Peixoto, A.A. Evidence for gene duplication in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti*. **Evolution, Medicine, and Public Health**. 2013. pp. 148–160

Naveca, F. G. et al.; Complete Genome Sequence of a Dengue Virus Serotype 4 Strain Isolated in Roraima, Brazil. **Journal of Virology** p. 1897–1898. October 18, 2011.

Osanai, CH. A epidemia de Dengue em Boa Vista, território Federal de Roraima, 1981−1982 [dissertation]. Rio de Janeiro, Brazil: **Escola Nacional de Saúde Pública**; 1984.

RORAIMA. Relatório Anual de Epidemiologia de Roraima 2000. Secretaria de Saúde do Estado de Roraima, 2000.

RORAIMA. Relatório Anual de Epidemiologia de Roraima 2014. Secretaria de Saúde do Estado de Roraima, 2014.

RORAIMA, 2017. Relatório anual de Epidemiologia de Roraima. Governo do estado de Roraima. Secretaria de Saúde do Estado de Roraima. Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica.

Saavedra-Rodriguez, K.; Vera-Maloof, F.; Campbell, C. L.; Garcia-Rejon, J.; Lenhart, A.; Penilla, P.; Rodriguez, A.; Sandoval, A.A.; Flores5, A.E.; Ponce, P.; Lozano, S.; Black , W.C.; Parallel evolution of vgsc mutations at domains IS6, IIS6 and IIIS6 in pyrethroid resistant *Aedes aegypt*i from Mexico. **SCIENTIFIC REPOrtS** | n.8v:6747, 2018.

SESAU-CGVS Secretaria de Estado da Saúde. de Roraima. Boletim Epidemiológico da Vigilância Entomológica. Volume 1. Jan. 2023.

SEPLAN. Secretaria de Estado de Planejamento. Governo do estado de Roraima. **Diversidade socioambiental de Roraima: subsídios para debater o futuro sustentável da região** / [organização Ciro Campos]. -- São Paulo: Instituto Socioambiental, 2011.

Valle, D.; Pimenta, D.N.; Aguiar, R. Zika, Dengue e Chikungunya: desafios e questões. **Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília**, v. 25, n. 2, p. 419 – 422, abr./jun. 2016.

WHOPES: Recommended Compounds and Formulations for Control of Mosquito Larvae, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2013, http://www.who.int/whopes/Mosquito 06 Mai 2016.pdf.