

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/03/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
‘JÚLIO DE MESQUITA FILHO’
Campus de Botucatu



**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DA MICROBIOTA
INTESTINAL CULTIVÁVEL DE MOSQUITOS *Aedes spp.***

Mariana Cristina de Freitas Porto

BOTUCATU-SP

2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
'JÚLIO DE MESQUITA FILHO'
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
'JÚLIO DE MESQUITA FILHO'

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DA MICROBIOTA
INTESTINAL CULTIVÁVEL DE *Aedes spp.***

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, no Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia.

Candidata: Mariana Cristina de Freitas Porto
Orientador: Profº Dr. Jayme Augusto de Souza-Neto

BOTUCATU – SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Porto, Mariana Cristina de Freitas.

Avaliação da atividade larvicida da microbiota intestinal
cultivável de mosquitos *Aedes spp.* / Mariana Cristina de
Freitas Porto. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Jayme Augusto de Souza Neto
Capes: 21303002

1. *Aedes*. 2. Controle de vetores. 3. Microbiota.
4. Bactérias.

Palavras-chave: *Aedes*; Bactérias; Bioensaio larvicida;
Controle vetorial; Microbiota.

**“Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o que você faz com
aquilo que você sabe.”**

Aldous Huxley

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir que essa jornada fosse cumprida.

À minha família, em especial minha mãe, pelo amor, apoio e incentivo. A eles dedico inteiramente este trabalho, que mesmo à distância, estiveram presentes em todos os momentos.

Ao Profº Dr. Jayme Augusto de Souza-Neto, da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP Botucatu, pela orientação, compreensão e confiança depositada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - código financiamento 001, pela concessão de bolsa e financiamento do projeto.

Aos membros do Laboratório de Genômica Funcional e Microbiologia de Vetores (Vectomics), pelo companheirismo e ajuda nos momentos que precisei.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), ao Instituto de Biotecnologia de Botucatu, ao Laboratório Central Multiusuários (LACEM) da FCA/UNESP Botucatu, onde este trabalho foi desenvolvido.

Ao Programa e a coordenação de Pós-graduação em Biotecnologia do Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu.

Aos funcionários da Pró-reitoria de Pós-graduação que sempre estiveram prontos a ajudar com eficiência e disposição.

À Secretaria de Saúde de Botucatu, pela parceria na realização de coletas.

Resumo

Mosquitos são grandes responsáveis por sérios problemas de saúde pública no mundo e transmissores de diversas arboviroses. Até o momento, não existem vacinas ou medicamentos eficazes disponíveis contra essas arboviroses, dessa maneira, o controle vetorial ainda é a principal estratégia de intervenção para reduzir a disseminação dos principais arbovírus urbanos transmitidos pelos mosquitos do gênero *Aedes*. No entanto, a eliminação dos mosquitos tornou-se muito desafiadora no ambiente urbano moderno, onde a crescente ocorrência de resistência a inseticidas tornou o uso de tais compostos químicos cada vez menos eficazes. Neste contexto, o desenvolvimento de novos produtos é extremamente necessário. Recentemente, a microbiota intestinal do mosquito provou ser um ótimo recurso utilizando bactérias com atividades antivirais e entomopatogênicas. O objetivo deste trabalho foi identificar e analisar a atividade larvícida de bactérias cultiváveis isoladas da microbiota intestinal de mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* coletados em Avaré e Botucatu/SP. As bactérias isoladas do intestino do mosquito foram purificadas em meios seletivos e foram realizadas extrações de DNA e a identificação foi realizada a partir da amplificação e sequenciamento do fragmento do rDNA 16S. Posteriormente, avaliou-se a ação larvícida das bactérias que foram identificadas e isoladas sobre larvas do segundo estágio de *Ae. aegypti* (Rockefeller), em condições de laboratório. Os bioensaios foram preparados com dez larvas, em triplicata, colocadas em placas de seis poços, contendo os pellets de cultura bacteriana resuspendida em 5ml de PBS 1X e o controle negativo contendo 5ml de PBS 1X. As suspensões bacterianas foram ajustadas para $DO_{600} = 1.0$. Os bioensaios foram mantidos no insetário à temperatura de 28°C, umidade relativa de $80 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Os resultados do bioensaio larvícida foram registrados diariamente após a inoculação do meio bacteriano nos poços contendo as larvas por quatro dias. Foram identificadas 26 diferentes espécies de bactérias de 10 gêneros. Os gêneros *Bacillus* (30,76%) e *Chryseobacterium* (15,38%) apresentaram a maior porcentagem dos isolados obtidos. Nossas análises revelaram que três isolados bacterianos, *Bacillus sp.* (1C1-1), *Chryseobacterium cucumeris* (27D12) e *Chryseobacterium indologenes* (POOL 4D), apresentaram elevada atividade na mortalidade nas larvas de *Ae. aegypti* (Rockefeller), sendo 70%, 80% e 90%, respectivamente após 96 horas. Essas bactérias por apresentarem mais de 50% de mortalidade em 96 horas foram utilizadas em bioensaios para estimar as doses letais (DL_{50}) contra larvas de segundo estágio de *Ae. aegypti*. Considerando as avaliações nos intervalos de 24, 48, 72 e 96 horas, verificou-se que o isolado *Chryseobacterium indologenes* (POOL 4D) obteve maior toxicidade, para os quais foram obtidos os menores valores de DL_{50} nos quatro intervalos de leitura. Nossos resultados demonstram que o uso dessas bactérias podem ser uma alternativa viável no controle dos vetores futuramente.

Palavras-chave: controle vetorial; *Aedes*; microbiota; bactérias; bioensaio larvícida.

Abstract

Mosquitoes are largely responsible for serious public health problems in the world and transmitters of several arboviruses. To date, there are no effective vaccines or drugs available against these arboviruses, thus, the vector control is still the main intervention strategy to reduce the spread of the main urban arboviruses transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*. However, mosquito elimination has become very challenging in the modern urban environment, where the increasing occurrence of resistance to insecticides has made the use of such chemical compounds less and less effective. In this context, the development of new products is extremely necessary. Recently, the mosquito's intestinal microbiota proved to be a great resource using bacteria with antiviral and entomopathogenic activities. The objective of this work was to identify and analyze the larvicidal activity of cultivable bacteria isolated from the intestinal microbiota of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes collected in Avaré and Botucatu/SP. The bacteria isolated from the mosquito's intestine were purified in selective media and DNA extractions were performed, and identification was carried out by amplifying and sequencing the 16S rDNA fragment. Subsequently, the larvicidal action of the bacteria that were identified and isolated on larvae of the second stage of *Ae. aegypti* (Rockefeller), under laboratory conditions, placed in six-well plates, containing bacterial culture pellets resuspended in 5ml of 1X PBS and the negative control containing 5ml of 1X PBS. The bacterial suspensions were adjusted to OD₆₀₀ = 1.0. The bioassays were maintained in the insectarium at a temperature of 28°C, a relative humidity of 80 ± 5% and a photoperiod of 12 hours. The results of the larvicidal bioassay were recorded daily after inoculation of the bacterial medium in the wells containing the larvae for four days. 26 different species of bacteria from 10 genera were identified. 26 different species of bacteria from 10 genera were identified. The genera *Bacillus* (30.76%) and *Chryseobacterium* (15.38%) presented the highest percentage of the isolates obtained. Our analyzes revealed that three bacterial isolates, *Bacillus* sp. (1C1-1), *Chryseobacterium cucumeris* (27D12) e *Chryseobacterium indologenes* (POOL 4D), showed high activity in mortality in larvae of *Ae. aegypti* (Rockefeller), 70%, 80% and 90%, respectively. These bacteria, for having more than 50% mortality in 96 hours, were used in bioassays to estimate lethal concentrations (LD₅₀) against second stage larvae of *Ae. aegypti*. Considering the evaluations in the intervals of 24, 48, 72 and 96 hours, it was found that the isolate *Chryseobacterium indologenes* (POOL 4D) obtained greater toxicity, for which the lowest LD₅₀ values were obtained in the four reading intervals. Our results demonstrate that the use of these bacteria may be a viable alternative to control vectors in the future.

Keywords: vector control; *Aedes*; microbiota; bacteria; larvicidal bioassay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anatomia do mosquito <i>Aedes aegypti</i> adulto dividindo em cabeça, tórax e abdômen.	14
Figura 2: Escamas dorsais do tórax em formato de lira dos mosquitos <i>Ae. aegypti</i>	15
Figura 3: Ciclo de desenvolvimento do mosquito <i>Ae. aegypti</i>	16
Figura 4: Larvas do mosquito <i>Ae. aegypti</i>	17
Figura 5: <i>Aedes albopictus</i>	18
Figura 6: Curva epidêmica dos casos prováveis de dengue, por semanas epidemiológicas de início de sintomas, Brasil, 2019 e 2020*.....	22
Figura 7: Distribuição geográfica dos casos de dengue relatados em todo o mundo, janeiro a dezembro de 2020.....	23
Figura 8: Os efeitos de <i>Csp_P</i> na mortalidade larval também foram testados, colocando larvas de <i>An. gambiae</i> (G) e larvas de <i>Ae. aegypti</i> (H) de 2 a 4 dias de idade em água contendo <i>Csp_P</i> . Os efeitos de <i>Csp_P</i> na mortalidade larval também foram testados, colocando larvas de <i>An. gambiae</i> (G) e larvas de <i>Ae. aegypti</i> (H) de 2 a 4 dias de idade em água contendo <i>Csp_P</i>	31
Figura 9: Localização dos locais de coleta, Municípios de Avaré e Botucatu no Estado de São Paulo.	32
Figura 10: Agentes de saúde da SUCEN coletando mosquitos manualmente.	33
Figura 11: A: Manutenção de mosquitos no insetário. B: Alimentação sanguínea das fêmeas adultas. C: Larvas em bacias com água. D: Gaiolas teladas com mosquitos.	35
Figura 12: Dissecção do Ovários, túbulos de Malpighi e intestinos médio e posterior do mosquito <i>Ae. aegypti</i> . A seta branca indica o intestino médio do mosquito.....	36
Figura 13: Isolamento bacteriano por esgotamento de estrias cruzadas em Ágar BHI, Ágar LB e Ágar Sangue.....	37
Figura 14: A: Incubadora do bioensaio Eletrolab. B: Placas contendo o bioensaio para ser armazenado. C: Placas contendo bioensaio com bactérias e controle negativo.	41
Figura 15: Gel de agarose (A e B) 1,0% para confirmação da extração do DNA genômico com amplificação do fragmento de 1500 pb do 16 S rRNA. M: marcador de peso molecular; 1: 1: A3-1; 2: 1A 4-2; 3: 1A 5-1; 4: 1B1-1; 5: 1B1-2; 6: 1B1-3; 7: 1B2-2; 8: 1C1-1; 9: 1C-3;10: 5F3; 11: 4A 1; 12: 5B1; 13: 5D1; 14: 5D2; 15: 7A 1; 16: AV1; 17: AV2; 18: AV3.....	46
Figura 16: Gel de agarose (C e D) 1,0% para confirmação da extração do DNA genômico com amplificação do fragmento de 1500 pb do 16S rRNA. M: marcador de peso molecular; 19: AV6; 20: 27D1 ; 21: 27D1-2; 22: 224H3B; 23: 224H; 24: POOL 4D; 25: R2-1; 26: R4-1	47
Figura 17: Representação dos gêneros com base na identificação bacteriana.	48
Figura 18: Análise filogenética do sequenciamento da região do gene 16S rRNA do isolado bacteriano de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> . A linha horizontal refere-se à distância genética. Os números dos nós referem-se aos valores estimados de apoio com 1000 réplicas de bootstrap.	50
Figura 19: Gráfico de barras dos bioensaios dos diferentes isolados bacterianos (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W) contra larvas de segundo estágio de <i>Ae. aegypti</i> durante quatro dias de incubação mostrando as médias e desvio padrão da taxa de mortalidade dos diferentes isolados bacterianos. A suspensão de PBS foi usada como controle negativo. ns: Não houve diferença significativa na mortalidade larval entre o isolado bacteriano e o controle. Os asteriscos representam diferenças estatisticamente significativas entre as mortalidades do grupo teste e do grupo controle ($p < 0,05$).	64
Figura 20: Gráficos de barras dos bioensaios dos diferentes isolados bacterianos (A, B e C) contra larvas de segundo estágio de <i>Ae. aegypti</i> durante quatro dias de incubação mostrando as médias e desvio padrão da taxa de mortalidade dos diferentes isolados bacterianos. Suspensão de PBS foi usada como controle negativo. Os asteriscos representam diferenças estatisticamente	

significativas entre as mortalidades do grupo teste e do grupo controle ($p < 0,05$).66

Figura 21: Representações gráficas em barras (A, B e C) dos valores de DL_{50} das bactérias *Bacillus cereus* (1C1-1), *Chryseobacterium cucumeris* (27D1-2) e *Chryseobacterium indologenes* (POOL 4D) nas DO_{600} (0,5; 1,0; 2,0) contra larvas de 2º estágio de *Ae. aegypti*, nas leituras de 24, 48, 72 e 96 horas. Os asteriscos representam diferenças estatisticamente significativas entre as mortalidades do grupo teste e do grupo controle ($p < 0,05$).71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reação de PCR utilizando DNA extraído de culturas pura.....	39
Tabela 2: Sequência dos iniciadores utilizados para amplificação da região 16S rDNA das estirpes bacterianas isoladas do intestino do mosquito <i>Ae. aegypti</i>	39
Tabela 3: Dados da coleta de amostra de campo e laboratório.	43
Tabela 4: Identificação pelo método Gram das bactérias intestinais isoladas.....	45
Tabela 5: Identificação molecular dos isolados bacterianos, obtidos pelo sequenciamento Sanger da região 16S rDNA.	49
Tabela 6: Mortalidade média e desvio padrão nos intervalos 24, 48, 72 e 96 horas para os isolados <i>Bacillus cereus</i> (1C1-1), <i>Chryseobacterium cucumeris</i> (27D1-2) e <i>Chryseobacterium indologenes</i> (POOL 4D) em três concentrações ($DO_{600}=0,5$; $DO_{600}=1,0$ e $DO_{600}=2,0$).	68
Tabela 7: DL_{50} nos intervalos 24, 48, 72 e 96 horas para os isolados <i>Bacillus cereus</i> (1C1-1), <i>Chryseobacterium cucumeris</i> (27D1-2) e <i>Chryseobacterium indologenes</i> (POOL 4D) em três concentrações ($DO_{600}=0,5$; $DO_{600}=1,0$ e $DO_{600}=2,0$)	69

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABI 3500 - Applied Biosystems
Ae. aegypti - *Aedes aegypti*
Ae. albopictus - *Aedes albopictus*
An. gambiae - *Anopheles gambiae*
ANOVA- Análise de variância
ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária
BHI - Brain Heart Infusion
BOD - Demanda Biológica do Oxigênio
Bt- *Bacillus thuringiensis*
C. quinquefasciatus - *Culex quinquefasciatus*
CHIKV - Vírus Chikungunya
CL₅₀ – Concentração Leal Mediana
cry- Crystal (Proteínas Inseticidas de *Bacillus thuringiensis*)
Csp_P - *Chromobacterium sp.* Panamá
DDT - Diclorodifeniltricloroetano
DENV - Dengue Vírus
DL- Dose Letal
DNA - Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
DO - Densidade Óptica
DP- Desvio Padrão
E1 (E1-A226V) - Proteína do envelope viral de Chikungunya
ECDC- European Centre for Disease Prevention and Control
EPM- Escola Paulista de Medicina
et al. - e outros
FCA- Faculdade de Ciências Agronômicas
g - Gramas
GBS- Síndrome de Guillain-Barré
GMMs- Mosquitos Geneticamente Modificados
h- Horas
H₂O- Água
H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio
H₂S- Ácido sulfídrico
HCN- Cianeto de Hidrogênio
IB- Índice de Breteau
IBTEC- Instituto de Biotecnologia
kb - Quilo base
KDa- Kilo Dalton
LACEM- Laboratório Central Multiusuários
LB - Meio Luria-Bertani
mL – Mililitro
μl- Microlitro
NCBI- THE National Center for Biotechnology Information
O₂ - Gás oxigênio
OMS - Organização Mundial de Saúde
OPAS- Organização Pan-Americana da Saúde
pb - Pares de bases
PBS - Salina tamponada com fosfatos

PCR - Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)
rDNA - Ácido Desoxirribonucleico ribossomal
rpm- Rotação por minuto
rRNA - Ácido Ribonucleico ribossomal
SE- Semana Epidemiológica
SIT - Sterile Insect Technique (Técnica de Esterilização de insetos)
SUCEN - Superintendência de Controle de Endemias
T – Temperatura
UFC- Unidade Formadora de Colônia
UNESP - Universidade Estadual Paulista
UR - Umidade Relativa
v- Variável
v/v- Volume/Volume
XX- Vinte
WHO - World Health Organization
WNV - West Nilus virus
YFV - Yellow Fever vírus (Vírus da Febre Amarela)
ZIKV - Zika Vírus
 μ l - Microlitros
°C - Grau Celsius
% - Porcentagem

SUMÁRIO

1	Introdução	13
1.1	O mosquito <i>Aedes aegypti</i>	13
1.2	O mosquito <i>Aedes albopictus</i>	18
1.3	Arboviroses: Dengue, Zika, Chikungunya	19
1.4	Vacinas contra as arboviroses.....	25
1.5	Controle vetorial	26
1.6	Utilização de bactérias como potenciais estratégicos no controle vetorial	28
2	Objetivos.....	31
2.1	Objetivo geral	31
2.2	Objetivos específicos.....	31
3	Materiais e Métodos	32
3.1	Local, Coleta e Manutenção de mosquitos adultos de campo de Avaré e Botucatu/SP	32
3.2	Criação de mosquitos da linhagem Rockfeller	34
3.3	Dissecção dos intestinos-médios de mosquito adulto	35
3.4	Cultivo e Isolamento bacteriano	36
3.5	Identificação bacteriana pelo método Gram	38
3.6	Caracterização molecular	39
3.6.1	Extração do DNA genômico de bactérias.....	39
3.6.2	Amplificação de um fragmento do gene 16S rRNA bacteriano	39
3.6.3	Purificação dos produtos da PCR do gene 16S rRNA bacteriano	40
3.6.4	Quantificação dos produtos de PCR do gene 16S rRNA bacteriano e Sequenciamento Sanger.....	40
3.7	Bioensaios.....	40
3.7.1	Bioensaios seletivos para larvas de <i>Aedes aegypti</i>	40
3.7.2	Bioensaio de dose letal (DL ₅₀) contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> (Rockfeller).....	42
3.8	Análise de dados	42
4	Resultados	42
4.1	Isolamentos bacterianos obtidos dos intestinos dos mosquitos <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> coletados em Avaré e Botucatu/SP.	42
4.2	Teste de coloração GRAM	44
4.3	Amplificação de um fragmento do gene 16S rRNA bacteriano	46
4.4	Identificação molecular das bactérias pelo sequenciamento Sanger	47
4.5	Bioensaio seletivo larvicida com as bactérias intestinais identificadas de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	50
4.6	Bioensaio de dose letal (DL ₅₀) das bactérias intestinais selecionadas no bioensaio com larvas.....	66
5	Discussão	72
6	Conclusão	78
7	Referências Bibliográficas	80
8	Anexo 1:	94

1 Introdução

1.1 O mosquito *Aedes aegypti*

A ocorrência do *Aedes aegypti* foi primeiramente descrita no Egito por Linnaeus, em 1762 (CHRISTOPHERS, 1960). Não se sabe ao certo como a espécie chegou à América, mas a principal teoria para sua disseminação preconiza sua vinda por embarcações de tráfico de escravos entre os séculos XVI e XIX, e conseqüentemente avançaram por todo território explorado (BENNETT et al., 2016). Esse mosquito é encontrado nas regiões dos trópicos e subtropicais e em praticamente todo o continente americano, assim como no Sudeste da Ásia e em toda a Índia (KRAMER et al., 2015).

Desde o século XX, o combate ao *Ae. aegypti* foi intensificado no Brasil, considerando como principal objetivo erradicar os casos de febre amarela urbana, que havia levado milhares de pessoas a óbito nesse período. O controle vetorial tinha como objetivo a eliminação mecânica de criadouros, mesmo que improvável a eliminação do vetor, tratavam-se os criadouros por meio de larvicidas e outros tipos de inseticidas também eram aplicados (COSTA et al., 2010).

Nos anos de 1958 e 1973, o *Ae. aegypti* foi erradicado do país (SOPER, 1965; NOBRE, ANTEZANA, TAUIL, 1994). Porém, sua eliminação não recobriu a totalidade do continente americano e o vetor permaneceu em áreas como Venezuela, sul dos Estados Unidos, Guianas e Suriname, além de toda a extensão insular que engloba Caribe e Cuba (FIOCRUZ, 2016).

Desta forma, em 1976, vieram os primeiros registros da reintrodução do vetor no Brasil, acarretada por falhas na vigilância epidemiológica, pelo crescimento populacional acelerado e grande fluxo de pessoas vindas de outros países (TAUIL, 2001; MACIEL, JUNIOR, MARTELLI, 2008), além da grande resistência dos ovos do mosquito e pelo relaxamento das medidas de controle após a erradicação do *Ae. aegypti*. Desde 1976, o *Ae. aegypti* se encontra atualmente em todos os estados do Brasil e até hoje não se conseguiu erradicá-lo novamente (FIOCRUZ, 2016).

O mosquito *Ae. aegypti* é principal vetor responsável pela transmissão de diversas arboviroses (doenças virais transmitidas por artrópodes) de grande importância para saúde pública, como dengue, Zika, febre amarela urbana, chikungunya, febre do mayaro, entre outras.

Este inseto pertence à ordem Diptera, subordem Nematocera, família Culicidae, subfamília Culicinae, gênero *Aedes* e subgênero *Stegomyia* (SILVA; SILVA, 1999). Esse vetor sofreu diversas adaptações que o permitiram se estabilizar nos centros urbanos e, assim, espalhar-se por diversos ambientes (DYE, 1992). A fêmea do mosquito *Ae. aegypti* consegue

fazer ingestões múltiplas de sangue durante um único ciclo gonadotrófico, sendo um vetor eficiente, além de ampliar a sua capacidade de se infectar e de transmitir os vírus (SCOTT et al., 1993).

O mosquito *Ae. aegypti*, em sua fase adulta, tem o seu corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen (Figura 1), sendo a divisão mais evidente do que em sua fase larval. Na cabeça ficam situados seus olhos, antenas e palpos, que são os órgãos do sentido. No tórax, ficam situados os apêndices para locomoção, asas e patas. Seu abdômen, dividido em 10 segmentos, são característicos para sua reprodução e excreção (RUEDA, 2008).

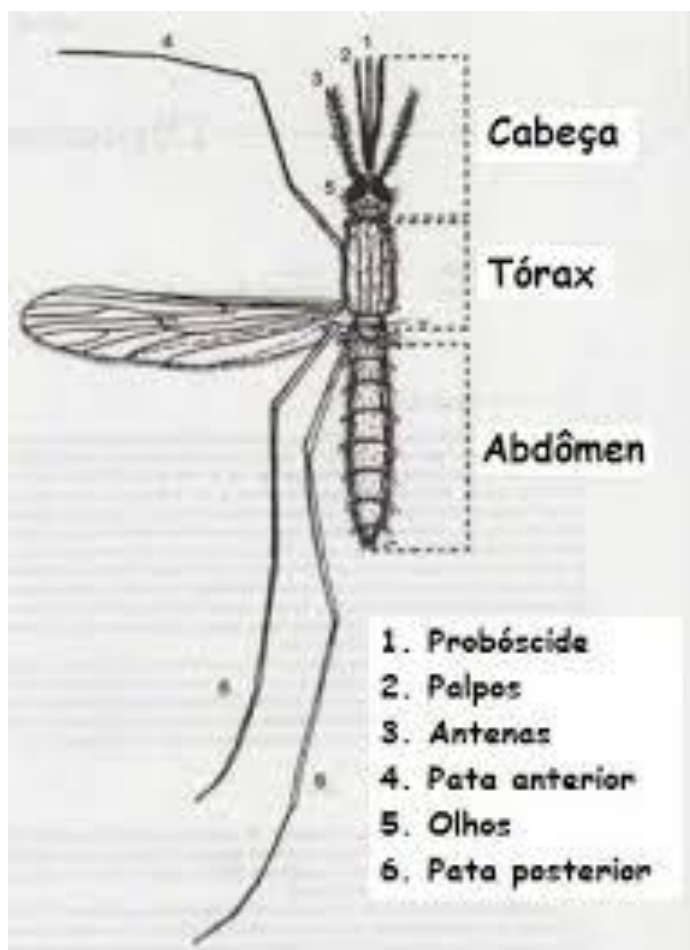


Figura 1: Anatomia do mosquito *Aedes aegypti* adulto dividindo em cabeça, tórax e abdômen.

Fonte: <http://deolhonoaedesaeegypti.blogspot.com/p/mitos-e-verdades.html>

Em relação ao gênero *Aedes*, diversos mosquitos possuem em seu corpo uma coloração preta, com listras e manchas brancas (TAVEIRA et al., 2001). Particularmente, *Ae. aegypti* é identificado através do dorso de seu tórax ornamentado com escamas branco-prateadas,

estabelecendo um desenho em forma de lira (MARCONDES, 2001) (Figura 2).

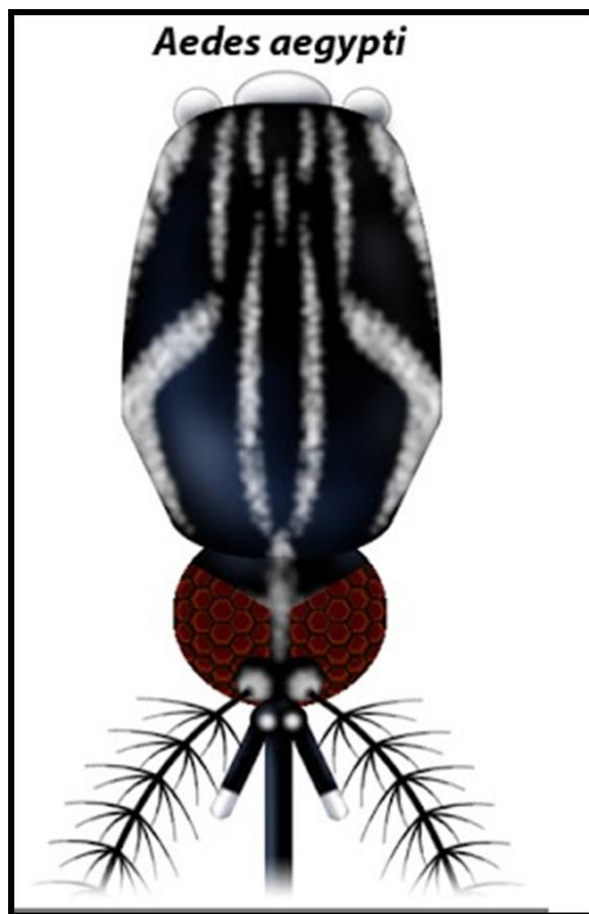


Figura 2: Escamas dorsais do tórax em formato de lira dos mosquitos *Ae. aegypti*.

Fonte: Planeta Invertebrados Brasil

O mosquito *Ae. aegypti* possui um desenvolvimento holometábolo, com o ciclo de vida composto por quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (Figura 3). Os ovos do vetor são muito resistentes e podem permanecer por até um ano em locais secos, sendo capazes de eclodir rapidamente quando imersos em água (MEBRAHTU et al., 1997).

As larvas são de vida aquática e possuem quatro estádios de desenvolvimento (L1, L2, L3 e L4) que duram cerca de 7 a 10 dias em ambiente natural (FORATTINI, 2002). Posteriormente, as larvas se transformam em pupa, que corresponde ao período mais curto do ciclo do mosquito, com duração de apenas dois dias. Nesta fase elas não se alimentam, porém sua respiração e movimentação continuam ativas, e após o período de dois dias, ocorre a emergência do mosquito adulto (SILVA et al., 2018).

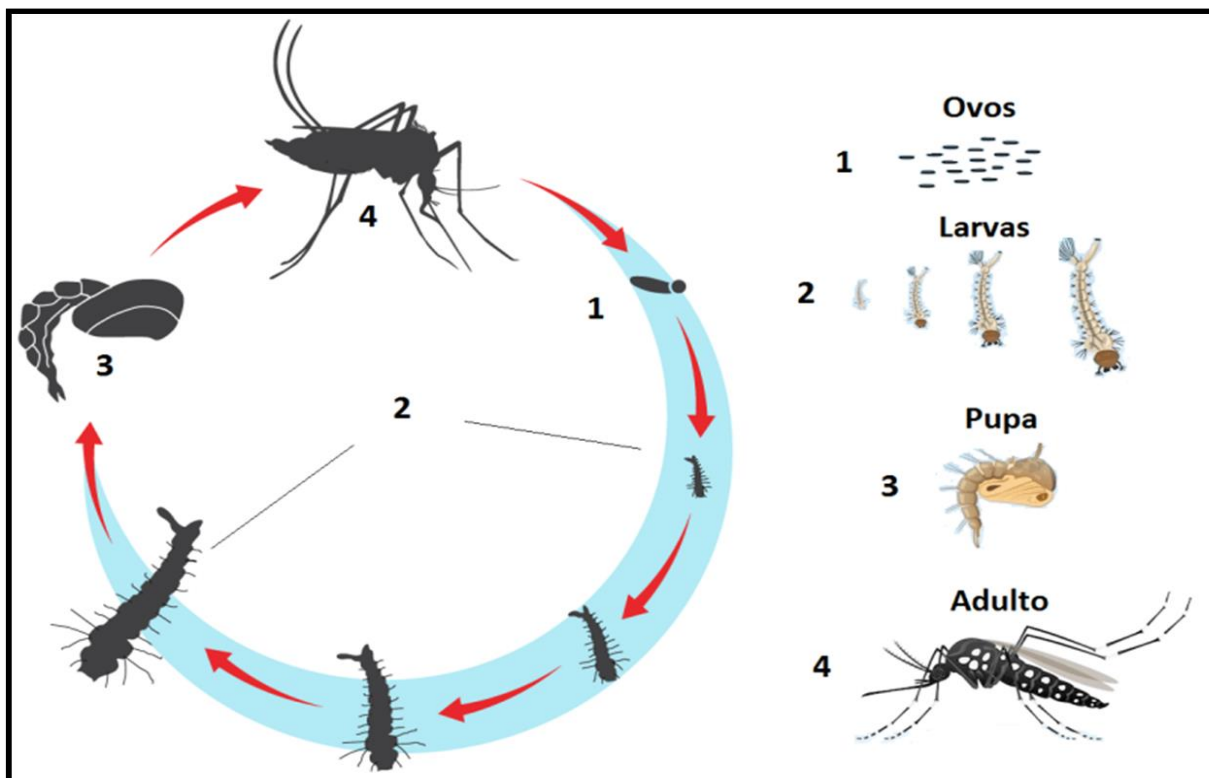


Figura 3: Ciclo de desenvolvimento do mosquito *Ae. aegypti*.

Fonte: Ciclo de vida do mosquito-da-dengue (*Ae. aegypti*). Modificado de <https://www.tuasaude.com/> (Acesso em 13/08/19)

As larvas mesmo sendo aquáticas, precisam chegar até à superfície da água, pois necessitam do oxigênio do ar para respirar (Figura 4). Sua respiração acontece por meio de um sifão (FUNASA, 2001). A fase aquática é influenciada diretamente pela qualidade da água dos reservatórios (BESERRA, 2010). As larvas possuem fotofobia e são sensíveis a movimentos bruscos na água, deslocando-se rapidamente na direção ao fundo do recipiente e geralmente ficam perpendiculares ao nível da água (CONSOLI e OLIVEIRA, 1998). As larvas são divididas em cabeça, tórax e abdômen. O abdômen da larva é composto por oito segmentos, sendo que o último segmento apresenta quatro brânquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão respiratório (FUNASA, 2011). A duração da fase larvária assim como seu desenvolvimento podem ser favorecidos por diversas substâncias e passam por diversas interferências, como por exemplo, luz, salinidade, temperatura, matéria orgânica, presença de micro-organismos, movimento da água, entre outros (CONSOLI e OLIVEIRA, 1994; BESERRA, 2010).



Figura 4: Larvas do mosquito *Ae. aegypti*.

Fonte: Paulo Whitaker/Reuters

O mosquito *Ae. aegypti* é um inseto que possui atributos como voos rápidos, escapes durante o repasto sanguíneo a qualquer movimento do hospedeiro e a alternância entre hospedeiros (NEVES, 2009). Ao final da metamorfose, um mosquito adulto e alado emerge já conseguindo instantaneamente voar e se reproduzir. São insetos adultos de hábitos diurnos, possuem hábitos alimentares diferentes de acordo com o sexo, sendo que somente a fêmea se alimenta com sangue, elemento fundamental para a produção de ovos (CONSOLI E LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Neste sentido, somente a fêmea adulta tem a capacidade de transmitir os arbovírus para humanos através de sua picada durante a alimentação sanguínea, quando o mosquito se alimenta do sangue de uma pessoa infectada (FIOCRUZ, 2016).

1.2 O mosquito *Aedes albopictus*

O mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) 1984, conhecido como “Tigre Asiático”, pertence ao grupo Scutellaris do subgênero *Stegomyia* (Figura 5). É considerada a segunda espécie de Culicidae em importância para o homem, sendo superado apenas pelo *Ae. aegypti* (Linnaeus)1762 (KNUDSEN, 1995).

Considerado como vetor secundário do vírus do dengue, o mosquito *Ae. albopictus*, apresenta características morfológicas similares e a mesma competência do *Ae. aegypti* para se proliferar, assim sendo a causa de preocupação em países do continente asiático, onde é responsável por alguns surtos da doença (FIOCRUZ, 2008).

Ae. albopictus possui hábitos diurnos, sendo nos períodos matutino e vespertino, o seu pico de atividade hematofágica (FORATTINI, 2002). A espécie tem uma capacidade ecológica com alta amplitude, sendo considerada como silvestre, eclética e oportunista em relação ao seu hábito hematofágico (BORGES, 2001). Dificilmente entra nas casas, não apresentando antropofilia acentuada como ocorre com *Ae. aegypti* (TAUIL, 2001; GOMES et al., 2005).



Figura 5: *Aedes albopictus*.

Fonte: Veja Saúde

Por ser um mosquito de espécie invasora, *Ae. albopictus* tem elevada capacidade de dispersão e adaptação, sendo assim habil para atingir diversos locais. Possui o hábito de

7 Referências Bibliográficas

- ABBOTT, Walter S. et al. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. econ. Entomol.**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.
- ALENCAR, Carlos Henrique Morais et al. Potencialidades do < em> *Aedes albopictus*< em> como vetor de arboviroses no Brasil: Um desafio para a atenção primária. **Revista de APS**, v. 11, n. 4, 2008.
- ALVES, S.B. Controle microbiano de insetos. 1986.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: Alves, S.B. **Controle Microbiano de Insetos. 2.ed. Piracicaba: Fealq.**, p. 289-381, 1998.
- ALVES, W. C. L. et al. Bactérias isoladas de culicídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos em Belém, Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, p. 131-142, 2010.
- ALI, Arshad; NAYAR, Jai K. Invasion, spread, and vector potential of *Aedes albopictus* in the USA and its control possibilities. **Medical entomology and zoology**, v. 48, n. 1, p. 1-9, 1997.
- ARANTES, O. M. N.; VILAS BOAS, L. A.; VILAS BOAS, G. T. *Bacillus thuringiensis*: estratégias no controle biológico. In SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Orgs.). **Biotecnologia: Avanços na Agricultura e Agroindústria. EDUCS**, v. 2, p. 269-293, 2002.
- BANDO, H. et al. Intra-specific diversity of *Serratia marcescens* in *Anopheles* mosquito midgut defines *Plasmodium* transmission capacity. **Scientific reports**, v. 3, p. 1641, 2013.
- BARRETO, Maurício L.; TEIXEIRA, Maria Glória. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos avançados**, v. 22, n. 64, p. 53-72, 2008.
- BATTISTI, Laurie; GREEN, BRIAN D.; THORNE, CURTIS B. Mating system for transfer of plasmids among *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Bacteriology**, v. 162, n. 2, p. 543-550, 1985.
- BENNETT, K. E. et al. Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 67, n. 1, p. 85-92, 2002.
- BENNETT, K. L. et al. Historical environmental change in Africa drives divergence and admixture of *Aedes aegypti* mosquitoes: a precursor to successful worldwide colonization?. **Molecular ecology**, v. 25, n. 17, p. 4337-4354, 2016.

BENTES, A. A. et al. Neurological manifestations of pediatric arboviral infections in the Americas. **Journal of Clinical Virology**, 2019.

BESERRA, Eduardo B. et al. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 1016-1023, 2010.

BESNARD, M. et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Euro Surveill**, v. 19, n. 13, p. 20751, 2014.

BHATT, S. et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504, 2013.

BORGES, S. M. A. A. Importância epidemiológica do *Aedes albopictus* nas Américas. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2001.

BOYCE, R. et al. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review. **Tropical Medicine & International Health**, v. 18, n. 5, p. 564- 577, 2013.

BRADY, O. J. et al. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 8, p. e1760, 2012.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 45. **Boletim Epidemiológico**, v. 46, n. 36, 2015.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilancia em Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 51, n. 38, 2020. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. (Acesso em: 10 out. 2020).

BRAZILIAN NATIONAL GENOME PROJECT CONSORTIUM. The complete genome sequence of *Chromobacterium violaceum* reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 20, p. 11660–5, 2003.

BRAVO, A. et al. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v.64, p.4965-4972, 1998.

BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging infectious diseases**, v. 4, n. 4, p. 605, 1998.

BROWN, A. W. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **Journal of**

the American Mosquito Control Association, v. 2, n. 2, p. 123-140, 1986.

BÜCKER, A. et al. Controle biológico de larvas de *Aedes aegypti* por substâncias de *Trichoderma koningii*, um fungo endofítico da Amazônia. X Simpósio de Controle Biológico–SICONBIOL, Brasília-DF, 2007a.

BUREŠOVÁ, Veronika; FRANTA, Zdeněk; KOPÁČEK, Petr. A comparison of *Chryseobacterium indologenes* pathogenicity to the soft tick *Ornithodoros moubata* and hard tick *Ixodes ricinus*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 93, n. 2, p. 96-104, 2006.

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

CARVALHO, M.P; ABRAHAM, W.R; MACEDO, A.J. Microrganismos em favor da saúde humana. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, p. 77-81, 2008.

CHAVASSE, D. C. et al. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. **Geneva: World Health Organization**, 1997.

CHRISTOPHERS, S. R. *Aedes aegypti*: The yellow fever mosquito. **CUP Archive**, 1960.

CLETON, N. et al. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. **J. Clin. Virol.**, v. 55, n. 3, p. 191-203, 2012.

CIRIMOTICH, C. M. et al. Natural microbe-mediated refractoriness to *Plasmodium* infection in *Anopheles gambiae*. **Science**, v. 332, n. 6031, p. 855-858, 2011.

COON, K. L. et al. Mosquitoes rely on their gut microbiota for development. **Molecular ecology**, v. 23, n. 11, p. 2727-2739, 2014.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 225, 1994.

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, n. 8, p. 651-676, 2000.

COSTA, J. R. V. et al. Atividade tóxica de isolados de *Bacillus thuringiensis* a larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 5, p. 757-766, 2010.

CHRISTOFFERSON, R. C.; MORES, C. N. A role for vector control in dengue vaccine programs. **Vaccine**, v. 33, n. 50, p. 7069-7074, 2015.

DELLAGLIO, F. et al. Designation of ATCC 334 in place of ATCC 393 (NCDO 161) as the neotype strain of *Lactobacillus casei subsp. casei* and rejection of the name *Lactobacillus paracasei* (Collins et al., 1989): request for an opinion. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 340-342, 1991.

DE LOURDES MACORIS, M. et al. Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *Aedes aegypti* in governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 3, p. e0006390, 2018.

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; BERRY, C.; CRICKMORE, N.; SCHNEPF, H. E. Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore forming entomopathogenic bacteria. **Annu. Rev. Genet**, v. 37, p. 409–433, 2003.

DIAMOND, M. S.; LEDGERWOOD, J. E.; PIERSON, T. C. Zika virus vaccine development: Progress in the face of new challenges. **Annual review of medicine**, v. 70, p. 121-135, 2019.

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.

DILLON, R. J.; DILLON, V. M. The gut bacteria of insects: Nonpathogenic interactions. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 49, p. 71-92, 2004.

DONALISIO, M.R.C. O enfrentamento de epidemias: as estratégias e perspectivas do controle do dengue. **Tese de Doutorado**. Campinas: UNICAMP, 1995.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de saúde pública**, v. 51, p. 30, 2017.

DUA, M. et al. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 59, n. 2-3, p. 143-152, 2002.

DURHAM, D. P. et al. Avaliação de estratégias de vacinação para o vírus Zika nas Américas. **Anais de medicina interna**, v. 168, n. 9, pág. 621-630, 2018.

DYE, C. The analysis of parasite transmission by bloodsucking insects. **An. Rev. Entomol.**, v. 37, p. 1-19, 1992.

ECDC- European Centre for Disease Prevention and Control. 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-monthly> (Acesso em 20 de outubro de 2020).

EICKMANN, S. H. et al. Zika virus congenital syndrome. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 7, 2016.

ESKI, Ardahan et al. Identification and pathogenicity of bacteria in the Mediterranean corn borer *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae). **Turkish Journal of Biology**, v. 39, n. 1, p. 31-48, 2015.

ENGEL, P.; MORAN, N. A. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. **FEMS Microbiol Review**. v. 37, p. 699-735, 2013.

ERITJA, Roger et al. Direct evidence of adult *Aedes albopictus* dispersal by car. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017.

ESCOSTEGUY, C. C.. Tópicos metodológicos e estatísticos em ensaios clínicos controlados randomizados. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 72, n. 2, p. 139-43, 1999.

ESKI, Ardahan et al. Identification and pathogenicity of bacteria in the Mediterranean corn borer *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera: Noctuidae). **Turkish Journal of Biology**, v. 39, n. 1, p. 31-48, 2015.

ESTOFOLETE, C. F. et al. Clinical and laboratory profile of Zika virus infection in dengue suspected patients: A case series. **Journal of Clinical Virology**, 2016.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. **Dengue worldwide overview**, 2020.

FAYE, O. et al. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20 th century. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 1, p. e2636, 2014.

FIGUEIREDO, L. T. M. The brazilian flaviviruses. **Microbes and Infection**, v.2, n. 13, p. 1643-1649, 2000.

FINNEY, D. Probit analysis. **Cambridge University Press**, Cambridge, p. 50-80, 1971.

FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz. O pernilongo ('*Culex quinquefasciatus*') pode transmitir a zika? . 2016. Disponível em: <http://portal.fiocruz.br/pt-br/content/o-pernilongo-culex-quinquefasciatus-pode-transmitir-zika> (Acesso em 01/08/2019).

FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz. Dengue vírus e vetor: Curiosidades sobre o *Ae. aegypti*, de 30 de setembro de 2015. Instituto Oswaldo Cruz. Disponível em: <http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/curiosidades.html> (Acesso em: 27/06/2019).

FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz. Vetor da dengue na Ásia, *A. albopictus* é alvo de estudos. 2008. Disponível: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=576&sid=32> (Acesso em: 15/10/2020).

FORATTINI, O. P. Identificação de *Aedes (stegomyia) Albopictus (skuse)* no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 20, p. 244-245, 1986.

FORATTINI, O. P. Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia. **Edusp**, v.2, 1994.

FORATTINI, Oswaldo Paulo. Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia. In: **Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia**, v. 2, p. 860-860, 2002.

FOSTER, S. J. The role and regulation of cell wall structural dynamics during differentiation of endospore-forming bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 76, p. 25S-

39S, 1994.

FOY, B. D. et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. **Emerg Infect Dis**, v. 17, n. 5, p. 880-2, 2011.

FRANÇA, G. V. A. et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. **The Lancet**, 2016.

FREITAS, V. R.; PICOLI, S. U. A coloração de Gram e as variações na sua execução. **NewsLab**, v. 82, p. 124-128, 2007.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. Dengue. Instruções para pessoal de combate ao vetor. **Manual de normas técnicas**. 3 ed. Brasília, DF, 2001.

GARG, H.; MEHMETOGLU-GURBUZ, T.; JOSHI, A.. Recent advances in Zika virus vaccines. **Viruses**, v. 10, n. 11, p. 631, 2018.

GERMANI, J. C. Produção de *Bacillus sphaericus* S2 com Materias-Primas Regionais e Avaliação de sua Atividade Larvicida. 185 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.

GLARE, T. et al. Have biopesticides come of age? **Trends Biotechnol**, v. 30, p. 250–258, 2012.

GOINDIN, D. et al. 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**, v. 6, n. 1, p. 38, 2017.

GOMES, Almério de Castro et al. Atividade antropofílica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área sob controle e vigilância. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 2, p. 206-210, 2005.

GRAM, C. The differential staining of Schizomycetes in tissue sections and in dried preparations. **Fortschritte der Medicin**, v.2, p. 185-189, 1884.

GRATZ, N. G. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. **Medical and veterinary entomology**, v. 18, n. 3, p. 215-227, 2004.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue: a continuing global threat. **Nature reviews microbiology**, v. 8, n. 12, p. S7-S16, 2010.

GUSMÃO, D. S. et al. First isolation of microorganisms from the gut diverticulum of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): new perspectives for an insect-bacteria association. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 8, p. 919-924, 2007.

HABIB, M. E. M. Utilização de bactérias no controle de dípteros de importância médica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 31-34, 1989.

HALL, R. D.; BROUWER, I. D.; FITZGERALD, M. A. Plant metabolomics and its potential application for human nutrition. **Physiologia plantarum**, v. 132, n. 2, p. 162- 175, 2008.

HALSTEAD, S.B. Reappearance of chikungunya, formerly called dengue, in the Americas. **Emerg Infect Dis**, v. 21, p. 557–561, 2015.

HAYASHI, H. et al. Molecular analysis of jejunal, ileal, caecal and recto-sigmoidal human colonic microbiota using 16S rRNA gene libraries and terminal restriction fragment length polymorphism. **Journal of medical microbiology**, v. 54, n. 11, p. 1093-1101, 2005.

HEMINGWAY, J. et al. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 34, n. 7, p. 653-665, 2004.

HSUEH, Po-Ren et al. Clinical and microbiological characteristics of *Flavobacterium indologenes* infections associated with indwelling devices. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 8, p. 1908-1913, 1996.

HSUEH, P. R. et al. Increasing incidence of nosocomial *Chryseobacterium indologenes* infections in Taiwan. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 16, n. 8, p. 568-574, 1997.

ISSG- Invasive Species Specialist Group. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species, 2020 [Available from: <http://www.iucngisd.org/gisd/>]. (Acesso em 20 de outubro de 2020).

KARABATSOS, N. International catalog of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. **American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. San Antonio, Texas, USA, 1985.

KNUDSEN, A. B. Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. **Parasitologia**, v. 37, n. 2-3, p. 91-97, 1995.

KOENRAADT, C. J. M.; TAKKEN, Willem. Cannibalism and predation among larvae of the *Anopheles gambiae* complex. **Medical and veterinary entomology**, v. 17, n. 1, p. 61-66, 2003.

KONEMAN, E. et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. **In: Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**, 2012.

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.

KRAEMER, Moritz UG et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. **Elife**, v. 4, p. e08347, 2015.

LACEY, L.A; FRUTOS, R; KAYA, H.K; VAIL, P. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? **Biol. Control**, v.21, p. 230–248, 2001.

LACON, G. et al. Shifting patterns of *Aedes aegypti* fine scale spatial clustering in Iquitos, Peru. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 8, p. e3038, 2014.

LERECLUS, D.; DELECLUSE, A.; LECADET, M. M. Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. **Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice**. John Wiley & Sons, New York, p. 37-69, 1993.

LIU, R.; LI, J.; GE, Z. Review on *Chromobacterium violaceum* for gold bioleaching from e-waste. **Procedia Environmental Sciences**, v. 31, p. 947-953, 2016.

LIU, Wei-Ming; BAJPAI, Rakesh; BIHARI, Vinod. High-density cultivation of sporeformers. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 721, p. 310-325, 1994.

LONDONO-RENTERIA, B.; TROUPIN, A.; COLPITTS, T. M. Arbovirosis and potential transmission blocking vaccines. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2016.

LOPES, S. C. P. et al. Violacein extracted from *Chromobacterium violaceum* inhibits *Plasmodium* growth in vitro and in vivo. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 2149-2152, 2009.

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

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. et al. *Aedes albopictus* from Brazil and southern United States: genetic variation and vector competence for dengue and yellow fever viruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 1, p. 105-114, 2003.

LUXANANIL, P. et al. Isolation of bacterial strains colonizable in mosquito larval guts as novel host cells for mosquito control. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 92, n. 4, p. 342-345, 2001.

MACIEL, I. J. et al. Epidemiologia e desafios no controle do dengue. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 37, n. 2, p. 111-130, 2008.

MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. Movement of dengue vectors between the human modified environment and an urban forest in Rio de Janeiro. **Journal of medical entomology**, v. 43, n. 6, p. 1112-1120, 2006.

MALAJOVICH, M. A. Biotecnologia: Fundamentos. Edições Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT, Rio de Janeiro. **Appl. Environ. Microbiol**, 2006.

MANI, Chinnasamy et al. Identification and characterization of a novel marine *Bacillus cereus* VCRC-B540 for mosquito control. **BioControl**, v. 60, n. 1, p. 71-79, 2015.

MARCONDES, C. B. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. **In: Doenças transmitidas e causadas por artrópodes**, 2009.

MARTIN, P. A. W. et al. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n.5, p. 993-999, 2007.

MARTIN, P. A.; SOBY, S. Insecticidal strains of *Chromobacterium vaccinii* sp. nov. for control of insects. **U.S. Patent** n. 9,339,039, 17 maio 2016.

MASSONNET-BRUNEEL, B. et al. Fitness of transgenic mosquito *Aedes aegypti* males carrying a dominant lethal genetic system. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. e62711, 2013.

MEBRAHTU, Y. et al. Inheritance of larval resistance to permethrin in *Aedes aegypti* and association with sex ratio distortion and life history variation. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 56, n. 4, p. 456-465, 1997.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. **Controle biológico**, v. 1, p. 17-30, 1998.

MINARD, G. et al. Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont. **Parasit Vectors**, v. 146, p. 1-12, 2013.

MIZUNO, Y. et al. Confirmation of dengue virus infection by detection of dengue virus type 1 genome in urine and saliva but not in plasma. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 7, p. 738-739, 2007.

MONDINI, A. et al. Simultaneous infection by DENV-3 and SLEV in Brazil. **Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 40, n. 1, p. 84, 2007.

MOORE, Chester G.; MITCHELL, Carl J. *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. **Emerging infectious diseases**, v. 3, n. 3, p. 329, 1997.

MULCAHY, H., et al. *Drosophila melanogaster* como um modelo animal para o estudo de infecções de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* in vivo. **PLoS Pathog**, 7: e1002299, 2011.

MULLA, Mir S.; FEDERICI, Brian A.; DARWAZEH, Husam A. Larvicidal efficacy of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against stagnant-water mosquitoes and its effects on nontarget organisms. **Environmental Entomology**, v. 11, n. 4, p. 788-795, 1982.

MUSSO, D. et al. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O595-O596, 2014.

NASCI, Roger S. Movement of chikungunya virus into the Western hemisphere.

Emerging infectious diseases, v. 20, n. 8, p. 1394, 2014.

NEVES, D. P. Culicidae. In:_. **Parasitologia Dinâmica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Editora Atheneu. cap. 52, p. 485-486, 2009.

NGWA, C. J. et al. 16S rRNA gene-based identification of *Elizabethkingia meningoseptica* (Flavobacteriales: Flavobacteriaceae) as a dominant midgut bacterium of the Asian malaria vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) with antimicrobial activities. **Journal of medical entomology**, v. 50, n. 2, p. 404-414, 2013.

NICOLAS, L. Potentialités de *Bacillus sphaericus* dans la lutte antivectorielle en Afrique tropicale. Cah. °R.S.T.°M., sér. **Ent. Méd. et Parasitol.**, v. 24, n.4, p 265-273, 1986.

NOBRE, A.; ANTEZANA, D.; TAUIL, P. L. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 27, n. supl III, p. 59-66, 1994.

NORMILE, D. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts, 2013.

OEHLER, E. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome case report, French Polynesia, December 2013. **Euro Surveill**, v. 19, n.9, p. 20720, 2014.

OKOYE, P.N. et al. Characterisation of DDT, pyrethroid and carbamate resistance in *Anopheles funestus* from Obuasi, Ghana. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 2008.

OULED-HADDAR, H.; ZAGHLOUL, Taha I.; SAEED, Hesham M. Expression of alkaline proteinase gene in two recombinant *Bacillus cereus* feather-degrading strains. **Folia microbiologica**, v. 55, n. 1, p. 23-27, 2010.

PERCHAT, Stéphane et al. *Bacillus cereus* produces several nonproteinaceous insecticidal exotoxins. **Journal of invertebrate pathology**, v. 90, n. 2, p. 131-133, 2005.

PESSOA, M. C. F.; ASTOLFI-FILHO, S. PREVALÊNCIA DE ENTEROTOXINAS EM LINHAGENS DE *Bacillus thuringiensis* E MÉTODOS PARA SUA CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA: REVISÃO1.

PIERSON, T.C. ; DIAMOND, M. S. Flaviviruses. **Fields virology**, v. 1, n.6, p. 746-794, 2014.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S. B. Potential of *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner for controlling *Aedes aegypti*. **Revista de saúde pública**, v. 37, n. 6, p.813- 816, 2003.

POLONI, T. R. et al. Detection of dengue virus in saliva and urine by real time RT-PCR. **Virology journal**, v.7, n. 1, p. 1, 2010.

POWERS, A.M. Vacina e opções terapêuticas para controle do vírus chikungunya. **Revisões de microbiologia clínica**, v. 31, n. 1, 2018.

POWERS, A. M. Licensed chikungunya virus vaccine: a possibility?. **Lancet (London, England)**, v. 392, n. 10165, p. 2660, 2019.

PRECIOSO, A. R. et al. Clinical evaluation strategies for a live attenuated tetravalent dengue vaccine. **Vaccine**, v. 33, n. 50, p. 7121-7125, 2015.

PRIDGEON, J. W.; KLESIUS, P. H.; GARCIA, J. C. Identification and virulence of *C. indologenes* isolated from diseased yellow perch (*Perca flavescens*). **Journal of applied microbiology**, v. 114, n. 3, p. 636-643, 2013.

PRIEST, Fergus G. Systematics and ecology of *Bacillus*. *Bacillus subtilis* and other gram-positive bacteria: Biochemistry, physiology, and molecular genetics, p. 1-16, 1993.

RAGAVENDRAN, C.; MARIAPPAN, T.; NATARAJAN, D. Larvicidal, histopathological efficacy of *Penicillium daleae* against larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* plus biotoxicity on *Artemia nauplii* a non-target aquatic organism. **Frontiers in pharmacology**, v.8, p. 773, 2017.

RAMIREZ, J. L. et al. Reciprocal tripartite interactions between the *Aedes aegypti* midgut microbiota, innate immune system and dengue virus influences vector competence. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 6, n. 3, p. e1561, 2012.

RAMIREZ, J. L. et al. *Chromobacterium Csp_P* reduces malaria and dengue infection in vector mosquitoes and has entomopathogenic and in vitro anti-pathogen activities. **PLoS pathogens**, v. 10, n. 10, p. e1004398, 2014.

RANI, A; SHARMA, A; RAJAGOPAL, R; ADAK, T; BHATNAGAR, R.K. Bacterial diversity analysis of larvae and adult midgut microflora using culture dependent and culture-independent methods in lab-reared and field-collected *Anopheles stephensi*-an Asian malarial vector. **BMC Microbiol**, v. 9, p. 96. PMID: 19450290, 2009.

REISINGER, E. C. et al. Immunogenicity, safety, and tolerability of the measles-vectored chikungunya virus vaccine MV-CHIK: a double-blind, randomised, placebo-controlled and active-controlled phase 2 trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10165, p. 2718-2727, 2018.

RUEDA, L. M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. In: **Freshwater animal diversity assessment**. Springer, Dordrecht, p. 477-487, 2007.

RUST, Robert S. Human arboviral encephalitis. In: *Seminars in pediatric neurology*. **WB Saunders**, 2012. p. 130-151.

SAAVEDRA-RODRIGUEZ, K. et al. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. **Insect molecular biology**, v. 16, n. 6, p. 785-798, 2007.

SAITO, K.; DIXON, R. A.; WILLMITZER, L. (Ed.). Plant metabolomics. **Springer Science & Business Media**, 2006.

SALEEM, Mahjabeen et al. Biochemical analysis and investigation on the prospective applications of alkaline protease from a *Bacillus cereus* strain. **Molecular biology reports**, v. 39, n. 6, p. 6399-6408, 2012.

SCOTT, T. W. et al. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 94-99, 1993.

SCOTT, C. et al. The enzymatic basis for pesticide bioremediation. **Indian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 65, 2008.

SHIN, D. et al. Evaluation of bioleaching factors on gold recovery from ore by cyanide-producing bacteria. **Minerals Engineering**, v. 48, p. 20-24, 2013.

SHORT, S. M. et al. Hydrogen cyanide produced by the soil bacterium *Chromobacterium sp.* Panama contributes to mortality in *Anopheles gambiae* mosquito larvae. **Scientific reports**, v.8, n. 1, p. 8358, 2018.

SHROYER, D. A. *Aedes albopictus* e arbovírus: Uma revisão concisa da literaturai. **Journal of the American Mosquito Control Association** , 1986.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 32, n. 4, p. 349-55, 1999.

SILVA, Dulcilene Pissango da et al. Atividade larvicida de bactérias isoladas de ambientes amazônicos contra *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762. **In: MEDTROP-55o Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Volume Único. Brasil, 2019.

SOPER, F. L. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 14, n. 6, p. 887-891, 1965.

STRAIF, Susanne C. et al. Midgut bacteria in *Anopheles gambiae* and *An. funestus* (Diptera: Culicidae) from Kenya and Mali. **Journal of medical entomology**, v. 35, n. 3, p. 222-226, 1998.

TADEI, W. P.; RODRIGUES, I. B. O controle biológico para anofelinos na Amazônia. **In: Anais do XIX Congresso Brasileiro de Entomologia (CD-ROM)**. Manaus. 2002.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, p. S99-S102, 2001.

THOMPSON, G. D. Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. **In: Proc. Beltwide Cotton Production Conference**, San Antonio, TX, 1995. 1995. p. 1039-1043.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 2004.

TURMEL, J. M. et al. Late sexual transmission of Zika virus related to persistence in the semen. **The Lancet**, 2016.

VANDAMME, Peter et al. New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 827-831, 1994.

VAN RIE, J.; McGaughey, W. H.; Johnson, D.E.; Barnett, B. D.; Van Mellaert, H. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. **Science**. v. 247, p. 72-74. 1990.

VAZQUEZ-PROKOPEC, G. M. et al. Quantifying the spatial dimension of dengue virus epidemic spread within a tropical urban environment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 12, p. e920, 2010.

VEGA-RÚA, A. et al. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. **Journal of virology**, v. 88, n. 11, p. 6294-6306, 2014.

VILCINSKAS, A. Coevolution between pathogen-derived proteinases and proteinase inhibitors of host insects. **Virulence** 1, p. 206–214, 2010.

WANG, San-Lang et al. Optimization of conditions for protease production by *Chryseobacterium taeanense* TKU001. **Bioresource technology**, v. 99, n. 9, p. 3700-3707, 2008.

WANG, Ying et al. Dynamic gut microbiome across life history of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* in Kenya. **PloS one**, v. 6, n. 9, p. e24767, 2011.

WANG, S. et al. Fighting malaria with engineered symbiotic bacteria from vector mosquitoes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 31, p. 12734-12739, 2012.

WATSON, G. B. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71, n. 1, p. 20-28, 2001.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral research**, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.

WHO, World Health Organization. 2008. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/index.html>) Acesso em 01/08/2019

WHO, World Health Organization. 2015. Dengue and severe dengue. Fact sheet N°117. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>) Acesso em 13/02/2019.

WIPFLI, Mark S.; MERRITT, Richard W. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic insects through direct and indirect exposure. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 13, n. 2, p. 190-205, 1994.

WOESE, Carl R. Bacterial evolution. **Microbiological reviews**, v. 51, n. 2, p. 221, 1987.

YABUUCHI, EIKO et al. *Sphingobacterium* gen. nov., *Sphingobacterium spiritivorum* comb. nov., *Sphingobacterium multivorum* comb. nov., *Sphingobacterium mizutae* sp. nov., and *Flavobacterium indologenes* sp. nov.: glucose-nonfermenting gram-negative rods in CDC groups IIK-2 and IIb. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 580-598, 1983.

YADAV, K. K. et al. Diversity of cultivable midgut microbiota at different stages of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* from Tezpur, India. **PloS one**, v. 11, n. 12, p. e0167409, 2016.

YAKOB, L. et al. *Aedes aegypti* control: the concomitant role of competition, space and transgenic technologies. **Journal of applied Ecology**, v. 45, n. 4, p. 1258-1265, 2008.

YAMADA, Yuzo; HOSHINO, Ken-ichiro; ISHIKAWA, Tetsuya. The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S ribosomal RNA: the elevation of the subgenus *Gluconoacetobacter* to the generic level. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 61, n. 8, p. 1244-1251, 1997.

YANO, D. M. Y. et al. Técnicas de microbiologia em controle de qualidade. **Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello**, 1991.

ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.