

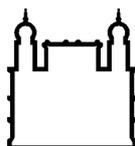
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

ELAINE DA SILVA CASTRO FERREIRA

MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) COMO ALVO DE CONTROLE
DE ARBOVIROSES? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

RIO DE JANEIRO

(2020)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

ELAINE DA SILVA CASTRO FERREIRA

**MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) COMO ALVO DE CONTROLE
DE ARBOVIROSES? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Monografia apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Especialização *Lato sensu*
em Entomologia Médica, Instituto Oswaldo
Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

Orientador (a): Suzete Araujo Oliveira Gomes

RIO DE JANEIRO

(2020)

Ferreira, Elaine da Silva Castro .

MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) COMO ALVO DE CONTROLE DE ARBOVIROSES? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA / Elaine da Silva Castro Ferreira. - Rio de Janeiro, 2020.

32 f.; il.

Monografia (Especialização) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Entomologia Médica, 2020.

Orientadora: Suzete Araujo Oliveira Gomes.

Bibliografia: Inclui Bibliografias.

1. *Aedes aegypti*. 2. Proteínas. 3. Arboviroses. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

ELAINE DA SILVA CASTRO FERREIRA

MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) COMO ALVO DE CONTROLE
DE ARBOVIROSES? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Monografia aprovada como requisito parcial à obtenção do título de Especialização *Lato sensu* em Entomologia Médica, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

Aprovado (a) em 28/08/2020.

Banca Examinadora:

Jerônimo Augusto Fonseca Alencar (FIOCRUZ/RJ)

Luana Cristina Farnesi Ferreira (FIOCRUZ/RJ)

Gutemberg Gomes Alves (UFF/RJ)

Rio de Janeiro, 28 de agosto de 2020.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela fé, permissão, força, ânimo e pelos bons momentos vividos no curso.

À minha família pela compreensão, colaboração, incentivo e carinho.

Aos meus pais, por acreditarem nos meus objetivos e sempre me ajudarem a conquistá-los.

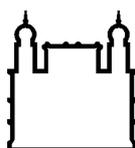
À orientadora Suzete pela amizade, ensinamentos e pelo aceite do convite como orientadora.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Médica pelos ensinamentos, pela paciência, pelos momentos de descontração e dedicação.

Aos colegas de classe pela amizade e pelos momentos inesquecíveis!

“Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui, nunca desista dos seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”

(Albert Einstein)



Ministério da Saúde

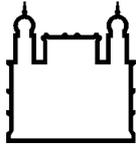
FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

RESUMO

As arboviroses vem se configurando como uma importante causa de morbidade e mortalidade nas zonas tropicais e subtropicais. Mediante a expansão da Dengue Zika e Chikungunya, buscou-se revisar a literatura científica, com o objetivo de identificar dados que forneçam evidências sobre o potencial de moléculas de *Aedes aegypti* como alvo para o controle de doenças que tem o mosquito envolvido no ciclo de transmissão. O método utilizado foi a revisão sistemática de estudos publicados, entre 2014 a 2019, nas bases de dados (Web of Science, PubMed e Scopus) através de descritores referentes à *Aedes aegypti*, proteínas e arboviroses. A revisão foi registrada na plataforma Prospero e seguiu o protocolo Prisma. Foram selecionados 223 registros, mas 21 foram excluídos por duplicação. Dos 202 registros restantes, 102 foram excluídos pelos critérios de inclusão e exclusão e 85 pela avaliação da qualidade. Apenas 15 artigos foram selecionados para extração dos dados. Os estudos selecionados, demonstraram que diferentes moléculas de *Ae. aegypti* estão envolvidas no processo de infecção e replicação viral no inseto e no hospedeiro vertebrado. Entre as moléculas, encontram-se RNA, fatores de transcrição, proteínas que regulam vias de sinalização e atuam na imunidade inata, proteínas de saliva e do intestino do mosquito. Desta forma, entende-se que os mecanismos moleculares de *Ae. aegypti* podem ser utilizados, a fim de lançar luz no desenvolvimento de estratégias alternativas de combate às arboviroses, as quais *Ae. aegypti* é incriminado como vetor principal.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, Proteínas, Arboviroses



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

ABSTRACT

Arboviruses are configured as an important cause of morbidity and mortality in climatic and subtropical zones. Because of the increase of Dengue, Zika and Chikungunya, we revised the scientific literature, to identify data that provide information about the potential *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) molecules as a target control of these diseases that the mosquito is involved in the transmission cycle. The method used was systematic review of studies published between 2014 and 2019 in the databases (Web of Science, Pubmed and Scopus), using descriptors related to *Aedes aegypti*, proteins and arboviruses. A review was registered on the Prospero platform and followed the Prisma protocol. Were selected, 223 records, but 21 were excluded by duplication. Were excluded 102 records, of the 202 remaining records by the inclusion and exclusion criteria and 85 were excluded by quality assessment. Only 15 articles were selected for data extraction. The selected studies have shown that different molecules of *Ae. aegypti* are involved in the process of infection and viral replication in the interior and in the vertebrate host. Were observed molecules with RNAs isolated, transcription factors, proteins that regulate signaling pathways and act on innate immunity, saliva proteins and mosquito gut. Thus, it is understood that the molecular mechanisms of *Ae. aegypti* can be used to shed light on the development of alternative strategies to combat arboviruses, which *Ae. aegypti* is incriminated as the main vector.

Key-Words: *Aedes aegypti*, Proteins, Arbovirus,

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – VIAS DE SINALIZAÇÕES DO SISTEMA IMUNOLÓGICO DE *Aedes aegypti*, TOLL, IMD, JAK/STAT, IRNA E AUTOFAGIA. 14
- FIGURA 2 – ILUSTRAÇÃO DO DIAGRAMA CONTENDO OS REGISTROS ENCONTRADOS E SOBREPOSIÇÕES NOS TRÊS BANCOS DE DADOS. 19
- FIGURA 3 – FLUXOGRAMA CONTENDO OS REGISTROS ESTUDOS UTILIZADOS NESTA REVISÃO SISTEMÁTICA, DE ACORDO COM O PROTOCOLO PRISMA. 20
- FIGURA 4 – IDENTIFICAÇÃO DOS VÍRUS UTILIZADOS NOS ESTUDOS SELECIONADOS PARA EXTRAÇÃO DOS RESULTADOS. 21
- FIGURA 5 – IDENTIFICAÇÃO DAS MOLÉCULAS UTILIZADAS NOS ESTUDOS SELECIONADOS. 22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti* ENVOLVIDAS NA INFECÇÃO VIRAL POR DENGUE, ZIKA E CHIKUNGUNYA. 24

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
1. INTRODUÇÃO	10
1.1. <i>Aedes aegypti</i>	10
1.2. INCIDÊNCIA DE ARBOVIROSES	11
1.3. SISTEMA DE CONTROLE DE INFECÇÕES EM <i>Aedes aegypti</i>	12
2. OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVO GERAL	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. BASE DE DADOS E SELEÇÃO DE ESTUDOS	17
3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	17
3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	17
3.4. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE	18
3.5. EXTRAÇÃO DOS DADOS	18
4. RESULTADOS	19
4.1. SELEÇÃO DOS ESTUDOS	19
4.2. MODELO VIRAL	21
4.3. MOLÉCULAS DE <i>Aedes aegypti</i> E ATIVIDADES BIOLÓGICAS	21
5. DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÕES	29
7. REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Aedes aegypti*

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) pertence à família Culicidae, sendo originário da região etíópica. A dispersão do *Aedes aegypti* pelo mundo ocorreu entre os séculos XVII e XIX, através da migração do homem, por meio de navios negreiros e navios que transportavam mercadorias (SILVA, 2007). *Aedes aegypti* é considerado um mosquito cosmopolita, pois ocorre nas regiões tropicais e subtropicais do globo. Este mosquito é considerado urbano, de hábito diurno, com preferência por reservatórios artificiais para postura dos ovos (AZEVEDO, 2015).

Aedes aegypti é conhecido como o principal vetor das arboviroses Dengue, Zika e Chikungunya. O mosquito infectado transmite os arbovírus para o ser humano através da picada da fêmea infectada, sendo esta, capaz de transmitir o vírus pelo resto de sua vida (CHAGAS et al., 2014).

As fêmeas alimentam-se de sangue de vertebrados, através dos estiletos, os quais são utilizados para perfurar os vasos sanguíneos dos hospedeiros, causando danos no local, e conseqüentemente desencadeando uma resposta imune no vertebrado. O período de alimentação pode durar entre alguns segundos até um minuto, e a fêmea pode ingerir entre 3,0 a 3,5 mg de sangue a cada alimentação. Após alimentação, as fêmeas procuram por lugares para realizarem a oviposição, locais preferencialmente úmidos, acima da lâmina d'água de recipientes artificiais como, pneus, caixa d'água e piscinas. Mais raramente, suas formas imaturas podem ser encontradas em criadouros em bromélias e buracos de árvores (CHAGAS et al., 2014; AZEVEDO, 2015).

A infecção do mosquito pelos arbovírus DENV, ZIKV ou CHIKV pode ocorrer após alimentação e digestão do sangue, ao realizar o repasto em um hospedeiro infectado. A internalização do vírus ocorre entre 5 a 7 minutos, este entra em contato com células epiteliais de intestino do *Aedes aegypti*, e o período de incubação extrínseca pode ocorrer entre 4 a 14 dias, quando DENV (BLACK et al., 2002), entre 5 a 8 dias quando ZIKV (RYCKEBUSCH et al., 2017) e finalmente, entre 3 a 10 dias quando CHIKV (OPAS et al., 2011). Quando os vírus conseguem infectar as glândulas salivares do mosquito, ele torna-se infectivo (RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2010a). Entretanto, a prole de uma fêmea pode emergir infectada com o vírus, em razão de as fêmeas estarem com o vírus circulante no seu organismo, esse processo é conhecido como transmissão transovariana ou vertical (AZEVEDO, 2015).

1.2 Arbovírus

Os arbovírus DENV, ZIKV e CHIKV são mantidos na natureza pela multiplicação em insetos vetores e hematófagos. DENV pertence a mesma família do vírus da febre amarela, família esta conhecida como *Flaviviridae*. Atualmente são conhecidos quatro sorotipos para este vírus DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, onde todos podem causar desde a forma clássica da doença até a forma mais grave, a febre hemorrágica da dengue. Os sorotipos DENV-1 e DENV-2 foram isolados na década de 1940, por Kimura e Hotta. Durante a epidemia da dengue hemorrágica, em 1956, na Ásia, foram isolados os sorotipos DENV-3 e DENV-4. Há relatos da presença de epidemia por dengue, no Brasil, desde 1846. Contudo, a primeira evidência concreta foi demonstrada em 1982, pelo isolamento dos sorotipos DENV-1 e DENV-4 em Boa Vista (RO) (BARRETO & TEIXEIRA, 2008). ZIKV pertence ao gênero *Flavivirus*, sendo também da família *Flaviviridae*. O vírus foi descoberto em macaco do gênero *Rhesus*, em 1947 na floresta de ZIKA, em Uganda, África. Em 1952 foi descoberto em humanos, na Tanzânia e Uganda. No Brasil, o vírus foi identificado somente em 2015, na Bahia e São Paulo. A infecção por este vírus pode causar microcefalia e os sintomas são semelhantes aos da infecção por dengue, febre amarela e chikungunya (AQUINO & BUFFON, 2019). Por outro lado, CHIKV pertence ao gênero *Alphavirus*, sendo da família *Togaviridae*. CHIKV foi isolado por volta de 1952, na Tanzânia. Em 2013, houve um grande surto na América do Sul. Todavia, no Brasil a transmissão autóctone se deu em 2014. Os sintomas para esta doença quando na fase aguda são febre alta, dores nas articulações, dor muscular e erupções na (TAUIL, 2014).

1.3 Incidência de Dengue, Zika e Chikungunya no Brasil

O ano de 2016, foi considerado um período de grande surto para Dengue em todo mundo. Na América, foram registrados cerca de 2,38 milhões de casos, somente no Brasil foram cerca de 1,5 milhão de casos, sendo notificados 1.032 registros de mortes para a doença. Contudo, foram registrados até fevereiro de 2019 cerca de 54,7 mil casos da doença no Brasil, e apenas 5 mortes foram notificadas (PENIDO, 2019). Por outro lado, para Zika foram notificados 630 casos em todo o país, até o período de fevereiro de 2019. Durante este período não foram registrados óbitos. Em relação aos dados de Chikungunya, o Brasil apontou redução de 51% quando comparado ao mesmo período de 2018. Até fevereiro de 2019, foram registrados 4.149 casos prováveis de

Chikungunya. Em 2018, foram notificados 8.508 casos da doença. A incidência de casos em 2019, ficou em 2,0 casos por 100 mil habitantes (PENIDO, 2019).

1.4 Sistema de Controle de infecções em *Aedes aegypti*

Os insetos dependem de seu sistema imunológico inato para controlar infecções por patógenos. Essas respostas imunes são altamente eficazes e incluem a produção de peptídeos antimicrobianos, fagocitose e o encapsulamento e melanização do patógeno invasor. Elas são reguladas por três principais vias de sinalização imunológica Toll (*Toll-like receptor*), immune deficiency (*Imd*) e janus kinase signal transducers and activators of transcriptions (JAK-STAT), conforme figura 1 (RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2010a). A via Toll é ativada pelo reconhecimento de moléculas provenientes do patógeno denominados PAMPS (*Pathogen Associated Molecular Patterns*), através de receptores de reconhecimento PRRs (*Pathogen Recognition Receptors*), uma cascata proteolítica é ativada, conseqüentemente ocorre a clivagem da citocina Spaetzle, que se liga ao receptor Toll ativando proteínas adaptadoras (MYD88, TUBE e PELLE), associadas ao receptor. Após ativação, ocorre a fosforilação e degradação proteasomal do regulador negativo CACTUS, que se liga e sequestra o fator de transcrição Rel 1 no citoplasma. Quando CACTUS é degradado, este permite a translocação de Rel 1 para o núcleo e genes efetores como os peptídeos antimicrobianos (AMPs) são transcritos. Por um outro lado, a via Imd é ativada pela interação de PAMPS e PRRs, semelhante a via Toll, contudo as proteínas adaptadoras IMD e FADD são ativadas, em seguida, a proteína CASPAR, responsável por regular negativamente Rel 2 é degradada, permitindo a translocação de Rel 2 para o núcleo, onde genes como os AMPs são transcritos. A via JAK-STAT é bem conservada em invertebrados e foi caracterizada na *Drosophila melanogaster*. A ativação desta via ocorre pela interação do receptor transmembrana DOME (*Domelles*) com o ligante Unpaired (Upd). Essa interação induz a autofosforilação do homólogo da kinase de mamífero, denominada Hop. Conseqüentemente, ocorre a fosforilação de DOME, que induz a fosforilação e dimerização do fator de transcrição STAT. Quando ativado, o dímero STAT transloca para o núcleo ativando genes antivirais. Até o momento, são conhecidos dois reguladores negativos da via PIAS (*Protein Inhibitor of Activated STAT*) e SOCs (*Suppressor of Cytokine Signaling*). A participação de JAK-STAT na imunidade de insetos foi identificada pela primeira vez em estudos realizados em *Anopheles gambiae* Giles, 1902, quando infectado com bactérias. Em *Ae. aegypti* a via JAK-STAT induz atividade antiviral contra DENV. Foi demonstrado que, quando a expressão do receptor DOME é

inibida pela via iRNA (*Small Interfering RNAs*), há aumento da replicação viral no intestino do *Aedes aegypti* e quando o regulador negativo da via (PIAS) é silenciado, há diminuição da replicação viral (SUCUPIRA, 2019)

Foram identificadas ao menos 3 vias de RNAi em insetos e no modelo *Drosophila melanogaster*, dentre elas miRNA (microRNAs), piRNA (piwiRNAs) e siRNA (*small interfering RNAs*), sendo esta última a mais estudada em insetos (Figura 1). A via é ativada pela formação de duas longas fitas duplas de RNA (dsRNA). Os dsRNA podem ter origem a partir de RNA virais formados na replicação (exógeno- exo-siRNA) ou a partir do mRNAs do hospedeiro (endógeno – endo-siRNA) (CAMPBELL et al., 2008; SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2009).

Em *Ae. aegypti* foram identificados 3 genes centrais da via siRNA, dentre eles DCR2, R2D2 e AGO2 (D 2019 Pedro). Estudos demonstraram que RNAs com tamanho e sequências semelhantes aos siRNA foram detectados em mosquitos infectados com DENV-2, bem como o silenciamento de componentes da via RNAi aumentou a replicação viral de DENV e diminuiu o período de incubação extrínseco. A expressão de AGO2 também demonstrou ser importante na modulação de infecções por Alphavirus em *Ae. aegypti* e em *Anopheles gambiae*, conforme demonstrado por Kenne (2004) e Campbell (2008). Estudos em mosquitos transgênicos demonstraram que a proteína B2 do FLOCK é um potente inibidor da via siRNA. Também foi demonstrado que a via exo-siRNA quando pré-ativada, induz a diminuição da carga viral e diminuição da prevalência da infecção no mosquito. Sendo assim, entende-se que a via siRNA auxilia no controle dos níveis virais (KHOO et al., 2010, 2013).

Na infecção bacteriana ou viral, respostas imunes podem ser ativadas, reguladas ou o microrganismo pode ser eliminado de forma direta por autofagia (Figura 1). A autofagia é um processo catabólico que envolve digestão de componentes celulares pelo lisossomo, e mantém a homeostasia da célula, quando esta sofre privação de nutrientes ou estresse (SUCUPIRA, 2019). Estudos demonstrados por MOY (2014), revelaram que a autofagia ocorre na defesa de *Drosophila* contra *Vesicular Stomatitis Vírus* e *Rift Valley Fever Vírus*, sendo a via Toll responsável pelo reconhecimento do vírus e início da autofagia pela ativação de PI3K (*fosfatodilinisol 3-kinase*). Também já foi demonstrado o papel da autofagia no controle de *Wolbachia* em artrópodes (VORONIN et al., 2012).

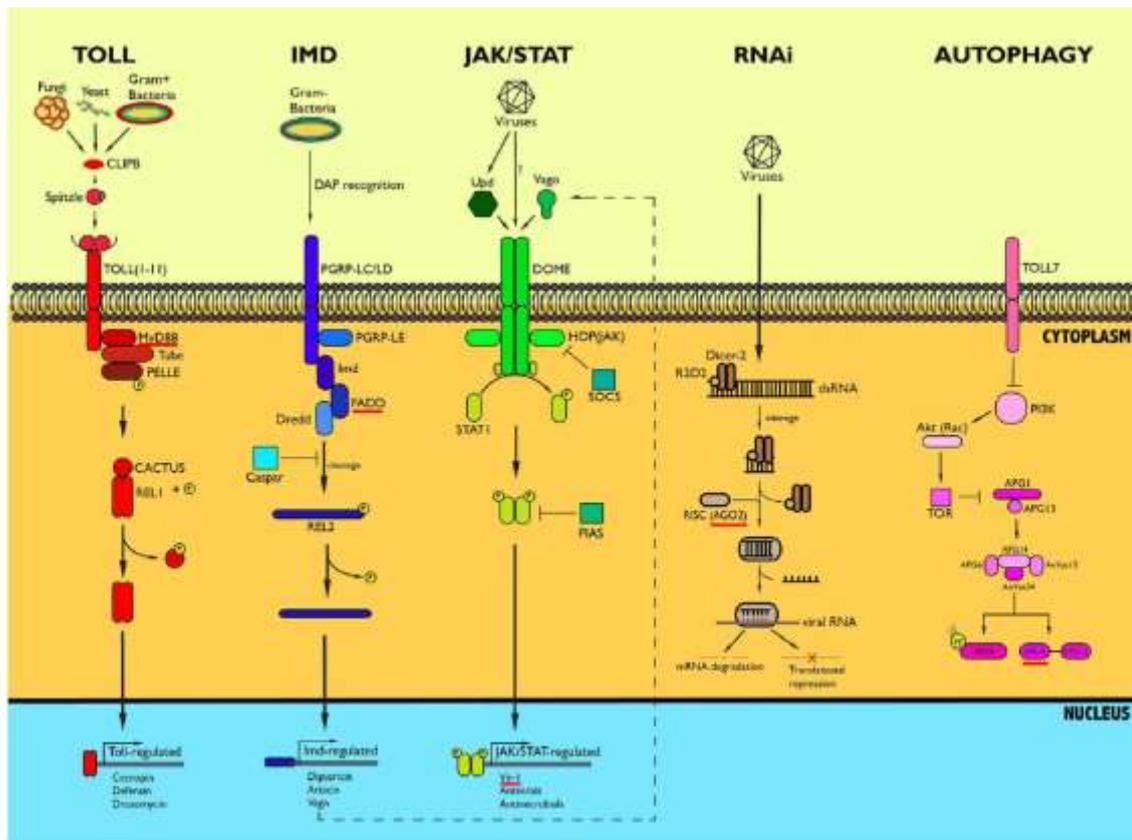
Sistema Imunológico de *Aedes aegypti*

FIGURA 1: Vias de Sinalizações do Sistema Imunológico de *Aedes aegypti*, Toll, IMD, JAK/STAT, iRNA e Autofagia. Fonte: TERRADAS, 2017.

Desta forma, esta revisão visa sumarizar sistematicamente os mecanismos moleculares que poderão ser utilizados como estratégia contra arbovírus responsáveis pelas arboviroses Dengue, Zika e Chikungunya. As buscas pelos dados foram realizadas em três base de dados, visando encontrar estudos focados no tema proposto. Respondendo a seguinte pergunta: Moléculas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) Como Alvo de Controle de Arboviroses?

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar dados que forneçam evidências sobre moléculas alvos de *Aedes aegypti* como controle de Dengue, Zika e Chikungunya.

2.1 OBJETIVO(S) ESPECÍFICO(S)

- Identificar moléculas de *Aedes aegypti* como possíveis alvo contra arbovírus;
- Identificar o envolvimento de genes do mosquito na infecção viral;
- Identificar a participação de diferentes vias de sinalização do mosquito;
- Identificar proteínas envolvidas na infecção viral em *Aedes aegypti*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Base de Dados e Seleção de Estudos

Esta revisão sistemática foi registrada na base de dados PROSPERO e seguiu o protocolo PRISMA Statements (*Preferred Reported Items for Systematic Reviews and Meta-analyses*). A pesquisa e o processo de seleção dos artigos foram conduzidos por duas autoras (Elaine Castro e Suzete Gomes). Quando ocorreu diferença na escolha dos artigos, após a leitura das duas autoras, estas entraram em um consenso. As pesquisas foram realizadas nas bases de dados Web of Science, PubMed e Scopus, até dezembro de 2019.

As palavras utilizadas na busca dos artigos seguiram os termos DeCS – Descritores em Ciências da Saúde, desenvolvido pelo The Medical Subject Headings (MeSH) da US National Library of Medicine. As pesquisas foram conduzidas seguindo os termos (“*Aedes aegypti* AND protein AND Arbovirus”). Todos os artigos encontrados pela estratégia de busca foram coletados através do software Zotero (versão 5.0.80). Os termos foram pesquisados no título e no abstract, quando possível, ou no texto completo quando o título e o resumo não esclareceram o conteúdo do artigo.

3.2 Critérios de Inclusão

Os critérios de inclusão foram descritos de acordo com a População, Exposição, Comparações e Resultados, conforme abaixo:

Populações (P): *Aedes aegypti* em diferentes estágios de vida

Exposição (E): Infecção com Dengue, Zika e Chikungunya vírus.

Comparação (C): O grupo avaliado foi comparado ao grupo controle, não infectado.

Resultados (O): Identificação de proteínas do *Aedes aegypti* relacionadas com a infecção por Dengue, Zika e Chikungunya vírus, de acordo com os seus efeitos biológicos.

Desenho do Estudo (S): Estudo com o grupo infectado e não infectado.

3.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos capítulos de livro, cartas editoriais, estudos que caracterizem as proteínas do *Aedes aegypti*, apenas, ou estudos que caracterizem somente as proteínas dos vírus.

3.4 Avaliação da Qualidade

Após a leitura e inclusão dos estudos relevantes, estes foram submetidos à avaliação da qualidade e pontuados, em três diferentes níveis, baixo (1), moderado (2) e alto (3), a fim de que o risco de viés fosse avaliado.

Os estudos foram classificados como nível 1, quando os autores realizaram apenas um tipo de experimento em sua pesquisa e não determinaram a molécula envolvida no processo de infecção do mosquito. Foram considerados nível 2 os estudos realizados que apresentavam duas técnicas de avaliação e identificação de moléculas de *Aedes aegypti* e a relação com infecção pelos arbovírus (Dengue, Zika e Chikungunya) foi inconclusiva e considerados nível 3 quando utilizavam mais de duas técnicas confirmando o envolvimento de determinada molécula de *Aedes aegypti* na infecção viral e houvesse comparação entre um grupo infectado e não infectado.

Na introdução desta revisão, utilizamos alguns artigos qualificados e classificados como níveis 1 e 2, mas que não foram utilizados na tabela contendo os dados e atividade biológica.

3.5 Extração dos Dados

Os dados dos estudos selecionados foram extraídos seguindo o critério PECOS e arquivados em banco de dados produzido pelo software Microsoft Excel. Tabelas e figuras foram utilizadas para ilustrar os resultados obtidos.

4 RESULTADOS

4.1 Seleção dos Estudos

Um total de 223 registros foram encontrados nos bancos de dados Web of Science (93), Pubmed (43) e Scopus (87). Posteriormente, cerca de 21 registros foram excluídos, por observar-se sobreposição entre as bases Web of Science e Scopus (19), Pubmed e Scopus (2), restando 202 registros (Figura 1).

DIAGRAMA DOS REGISTROS ENCONTRADOS NAS BASES DE DADOS

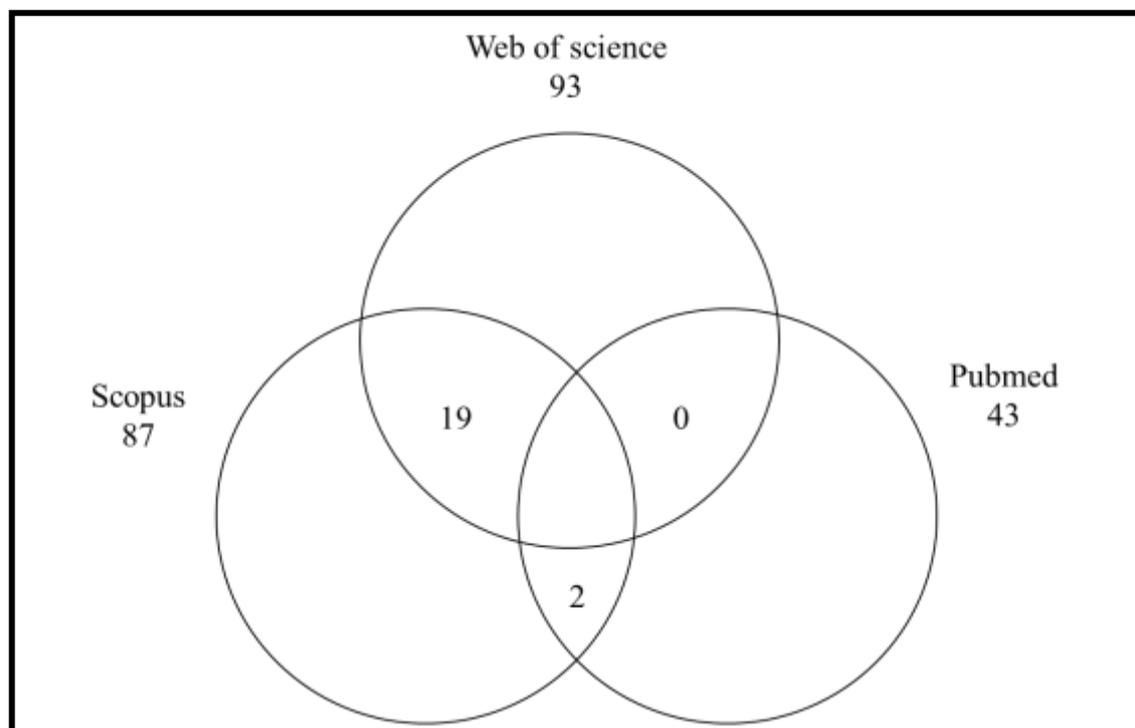


FIGURA 2: Ilustração do diagrama contendo os registros encontrados e sobreposições nos três bancos de dados. Fonte: Elaborado pelo autor.

Após análise do abstract foram excluídos 102 registros, por não seguirem os critérios de seleção, restando apenas 100 artigos completos. Posteriormente, 85 artigos foram excluídos pela avaliação da qualidade, e finalmente, apenas 15 artigos foram selecionados para a extração de dados (Figura 2).

FLUXOGRAMA DOS REGISTROS E ARTIGOS ENCONTRADOS

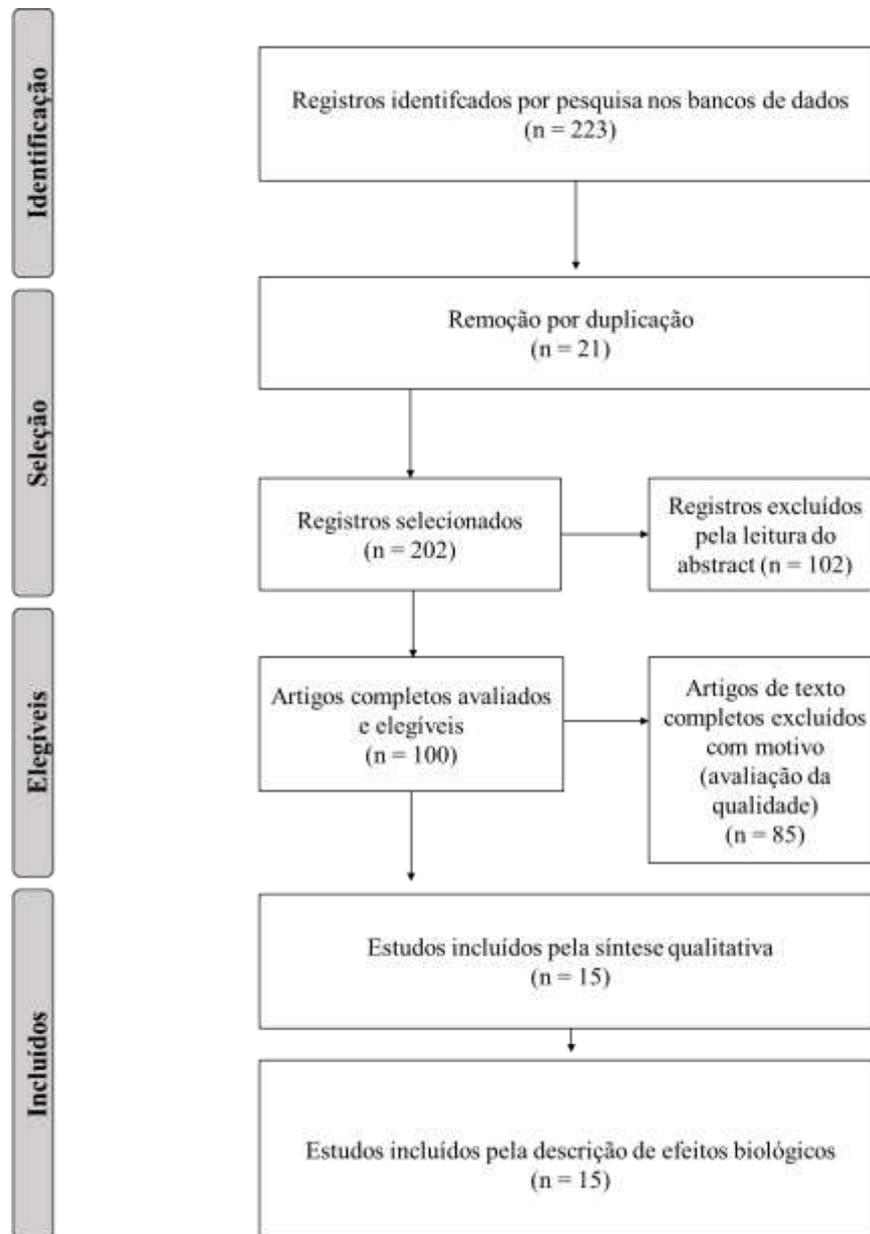


FIGURA 3: Fluxograma contendo as diferentes fases, até obtenção dos dados utilizados nesta revisão sistemática, de acordo com o protocolo PRISMA. Fonte: Prisma Protocol 2017 (modificado pelo autor).

4.2 Modelo viral

Foram utilizados um total de 18 vírus, nos estudos dos 15 artigos selecionados. Destes, 37,5% foram os vírus DENV, 37,5 % o ZIKV e 25% CHIKV (Figura 3).

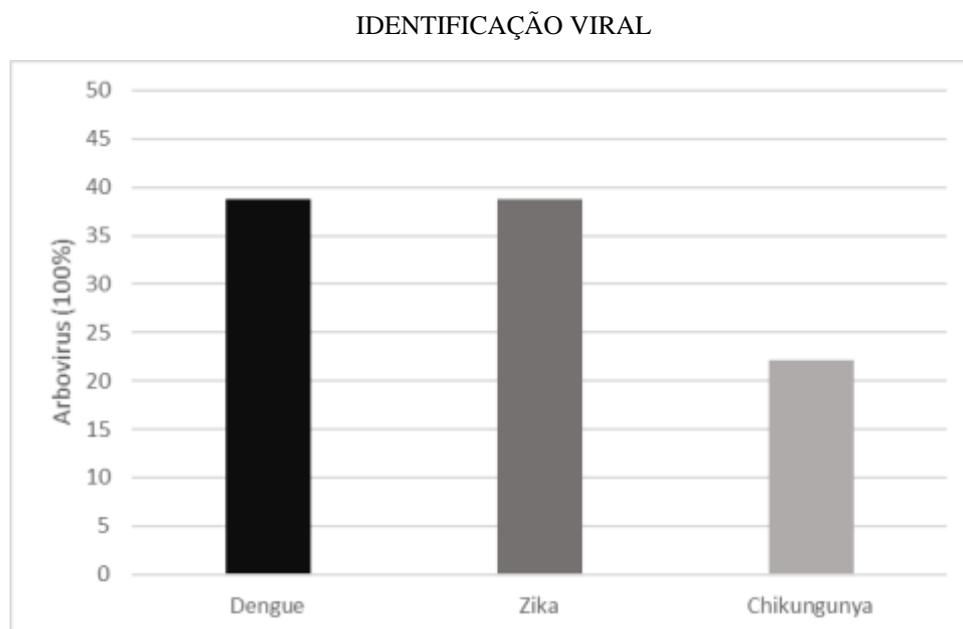


FIGURA 4: Número de artigos por categoria de arbovírus. Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Moléculas de *Aedes aegypti* e Atividades Biológicas

A fim de identificar as moléculas utilizadas nos estudos, foi possível observar que 41% foram de RNA, 35% Saliva, 18% da imunidade inata e 6% de Intestino de *Ae. aegypti* (Figura 4).

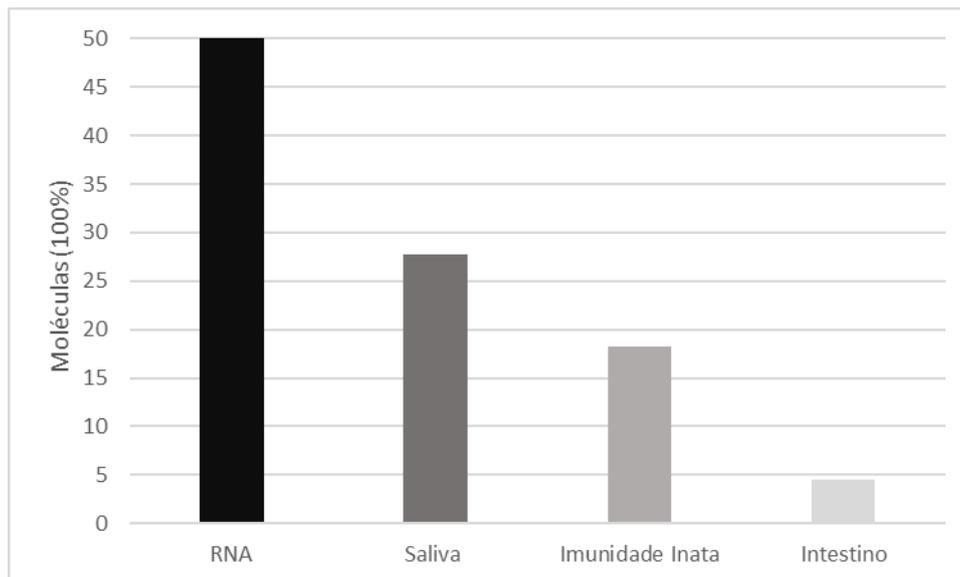
MOLÉCULAS DE *Aedes aegypti*

FIGURA 5: Quantificação de moléculas de *Ae. aegypti* agrupadas de acordo com o local de identificação. Elaborado pelo autor.

4.3.1 RNA de *Aedes aegypti*

Nos artigos selecionados foram identificados estudos que avaliaram a molécula RNA e genes de *Ae. aegypti* envolvidos na infecção e replicação viral no mosquito. Os genes *GNBP*, *cathepsin-b* e *keratinocyte lectin* foram identificados em análises de mosquitos infectados com o vírus Dengue (CAICEDO et al., 2019). Nos estudos, onde o mosquito foi infectado com o vírus ZIKV foram observados o envolvimento dos genes *Leucine-Rich Repeats (LRR)*, *AaeLRIM1*, *AaeAPL1*, a ativação de piRNA, siRNA, *P450* e da helicase ME31B (GÖERTZ et al., 2019; ZHAO; ALTO; SHIN, 2019; VARJAK et al., 2017; ZHAO et al., 2018; GÖERTZ et al., 2019). Contudo, no estudo em que o mosquito foi infectado com o vírus CHKV foram observados o envolvimento de genes que regulam AMPs, como thioester-containing protein (TEP), C-type Lysozyme, gram-negative binding protein (GNBP) e fibrinogen-related protein (FREP), conforme tabela 1 (DONG; BEHURA; FRANZ, 2017).

4.3.2 Proteínas de Saliva

Alguns autores identificaram proteínas de saliva responsáveis pela infecção e replicação viral. Dentre elas, proteínas AaSG34, non-structural protein 1 e Aegyptin para Dengue (SRI-IN et al., 2019; CARDENAS et al., 2019; MCCRACKEN et al., 2014). Na infecção por ZIKV foram identificadas as Proteína 1 responsiva à bactéria *Ae. aegypti* (AgBR1) e proteína neutrophil-stimulating factor 1 (Nest 1) (URAKI et al., 2019;

HASTINGS et al., 2019). Enquanto, na infecção por CHIKV um estudo foi realizado com a saliva do inseto, mas suas respectivas proteínas não foram caracterizadas, conforme tabela 1 (WICHIT et al., 2017).

4.3.3 Proteínas da Imunidade Inata

Dentre os estudos relacionados à imunidade inata, foram encontrados estudos envolvendo a diminuição da expressão dos receptores de insulina (RI) mediado pela bactéria *Wolbachia* e como consequência diminuição da infecção por DENV e ZIKV, (HAQSHENAS et al., 2019). Dois diferentes estudos, mas realizados pelo mesmo grupo demonstraram que a regulação da via de sinalização Toll é capaz de inibir a infecção por diferentes sorotipos de DENV no mosquito, conforme tabela 1 (XI; RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2008; RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2010b).

4.3.4 Proteína de Intestino

No estudo, o qual foi avaliada célula de intestino de *Ae. aegypti* e infecção pelo CHIKV, os autores observaram que receptores de membrana midgut brush border membrane fraction (BBMF) proteins de células do intestino eram responsáveis pela interação com proteínas do vírus, conforme tabela 1 (GHOSH et al., 2019).

Tabela 1: Moléculas de *Aedes aegypti* envolvidas na infecção viral por DENV, ZIKV e CHIKV.

Arbovírus	Moléculas	Efeitos Biológicos	Referências
Dengue	↑ Proteína de saliva AaSG34	Induz Infecção e Aumenta a Replicação de Dengue-2	SRI-IN et al., 2019
Zika	Proteína 1 responsiva à bactéria <i>A. aegypti</i> (AgBR1)	Inibição da Infecção	URAKI et al., 2019
Zika	↓ Proteína de saliva neutrophil-stimulating factor 1 (NeSt1)	Estimula neutrófilos, Aumenta a Replicação e Patogenicidade	HASTINGS et al., 2019
Dengue	↑ Non-Structural Protein 1 (NS1)	Aumenta níveis de anticorpos IgG1 e IgG4	CARDENAS et al., 2019
Dengue	Silenciamento de <i>GNBP</i> , <i>Cathepsin-b</i> e <i>Keratinocyte lectin</i>	Inibição da Infecção	CAICEDO et al., 2019
Dengue e Zika	↓ Receptor de Insulina	Inibição da Infecção	HAQSHENAS et al., 2019
Zika	Helicase DEAD/H-BOX ME31B	se liga ao sfRNA viral, Induz infecção viral no mosquito	GÖERTZ et al., 2019
Zika e Chikungunya	<i>leucine-rich repeats (LRR)</i> ; <i>AaeLRIM1</i> e <i>AaeAPL1</i>	Induz Infecção Viral	ZHAO; ALTO; SHIN, 2019
Chikungunya	↑ Proteína de células de intestino BBMF	Induz Infecção e Replicação Viral	GHOSH et al., 2019
Dengue	↑ Proteína de saliva aegyptin	Inibe Infecção Viral	MCCRACKEN et al., 2014
Dengue	Via de sinalização Toll; ↑fator de transcrição Rel1;	Resistência à Infecção	XI; RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2008
Dengue	Via de sinalização Toll; ↓fator de transcrição Rel1;	Aumenta Atividade Viral	RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2010b
Chikungunya	Proteína de saliva	Regula (IFN I) pela via JAK-STAT	WICHIT et al., 2017
Zika	PIWI-interacting RNA (piRNA); exogenous short interfering RNA (exo-siRNA)	Atividade antiviral	VARJAK et al., 2017
Zika	Expressão de <i>P450</i> ; <i>AAEL014617</i> ; <i>AAEL006798</i>	Resistência à Inseticida	ZHAO et al., 2018
Chikungunya	Superexpressão de <i>AeLT</i> ; <i>AeSP1</i>	Inibição da infecção	DONG; BEHURA; FRANZ, 2017

Fonte: Elaborado pelo autor

↑ Níveis elevados

↓ Níveis baixos

5 DISCUSSÃO

Durante o repasto sanguíneo, o mosquito precisa impedir que o sangue coagule e deve combater os mecanismos de defesa do hospedeiro. Ele burla este sistema, injetando uma complexa mistura de proteínas salivares. Mais de 20 proteínas de saliva já foram identificadas (SRI-IN et al., 2019).

Os mosquitos podem adquirir os vírus DENV, ZIKV e CHIKV durante a alimentação sanguínea, ao ingerirem sangue infectado. Desta forma, os vírus podem ser transmitidos para o ser humano, através da saliva de mosquito contaminada. Sendo assim, as proteínas de saliva são importantes para a alimentação do mosquito e infecção viral. Em um estudo realizado por Sri-in (2019), foi demonstrado que a proteína de saliva de *Ae. aegypti*, nomeada de AaSG34 é superexpressa na infecção pelo vírus DENV sorotipo 2, eles também diminuíram a expressão da proteína e observaram a inibição da replicação viral na glândula salivar do mosquito e inibição da transmissão em células de mamíferos.

Cardenas (2019), observou em seus estudos, que os anticorpos IgG1 e IgG4 estão em níveis elevados quando testados contra proteínas de saliva de mosquitos de áreas endêmicas para dengue, estes anticorpos podem se tornar aliados na produção de testes rápidos para detecção desta virose. Segundo Maccraken (2014), a proteína de saliva aegyptin, um alérgeno e inibidor da formação de coágulo, tem sido encontrada em níveis baixos na saliva de mosquito infectado pelo vírus DENV. Em seu estudo, ele avaliou a infecção por DENV sorotipo 2, em hospedeiro vertebrado, inoculando a proteína aegyptin no animal. Foi demonstrado, que a proteína reduziu a infecção viral local e circulante e aumentou a resposta imune do hospedeiro. Uraki (2019), observou que a proteína de saliva *Ae. aegypti* *bacteria-responsive protein 1* (AGBR1), é capaz de modular a infecção por ZIKV em vertebrados e que anticorpos produzidos contra a proteína, pode prevenir a infecção pelo ZIKV vírus transmitido por mosquito. Contudo, Hasting (2019) observou que a proteína *neutrophil stimulating factor 1* (NeSt1) estimula os neutrófilos do hospedeiro picado pelo mosquito, que conseqüentemente induz a replicação viral precoce e aumenta a patogenicidade do vírus ZIKV. Wicht (2017), demonstrou que proteínas de saliva de mosquito contaminada com o vírus CHIKV, são capazes de atuar na regulação de genes que codificam Interferon I (IFN I), quando avaliadas em células de fibroblastos de vertebrados. Os IFNs são conhecidos por combaterem a infecção viral pela indução da resposta inflamatória do hospedeiro. Eles podem ser ativados pela via de sinalização JAK-STAT.

Conseguir determinar quais proteínas de saliva estão envolvidas no processo de infecção, replicação e transmissão viral torna-se importante, pois intervenções com anticorpos contra estas proteínas podem ser criadas, com a finalidade de controle epidemiológico.

Uma outra solução para o combate à infecção viral em *Aedes aegypti* seria desvendar os mecanismos de defesa e infecção do mosquito. Segundo Caicedo (2019), uma forma de combater estas infecções são as técnicas de manipulação genética, que visa controlar a infecção no vetor *Ae. aegypti*. Em seu estudo, ela demonstrou que a infecção pelo vírus DENV sorotipo 2, pode ser eliminada do intestino de *Ae. aegypti* pelo silenciamento dos genes *Cathepsin-b*, *Gram negative bacteria binding* e *Keratinocyte lectin*. Goert e colaboradores (2019), demonstraram que RNA de ZIKV ligado à helicase DEAD/H-BOX ME31B de *Ae. aegypti* induz a infecção viral no mosquito. Em 2018, Zhao demonstrou que os genes que codificam as proteínas P450, AAEL014617 e AAEL006798 estão relacionados à resistência do mosquito ao inseticida permetrina, quando infectados com ZIKV vírus. Em um outro estudo, Zhao (2019) demonstrou que a superexpressão dos genes *AaeLRIMI* e *AaeAPLI* são responsáveis pela infecção do ZIKV e CHIKV, estes genes atuam na expressão de proteínas envolvidas na imunidade inata do mosquito. Varjak (2017), observou que duas vias de RNAi (RNA de Interferência) são responsáveis pela resposta antiviral no *Aedes aegypti*, sendo elas PIWI-interacting RNA (piRNA) e exogenous short interfering RNA (exo-siRNA). Varjak sugere, que o silenciamento das proteínas Dcr2 (exo-siRNA) e Piwi4 (piRNA) desencadeou atividade antiviral contra o ZIKV vírus. E finalmente, Dong (2019) demonstrou através de transcriptoma, que genes de células do intestino do mosquito *late trypsin (AeLT)* e *serine collagenase 1 precursor (AeSPI)*, pós-alimentação e infecção por chinkungunya estão envolvidos na fuga viral em células intestinais. A avaliação destes genes é importante, porque eles codificam metaloproteinases, tripsina e serina do tipo endopeptidase, enzimas que atuam na digestão de proteínas. Estes estudos sugerem que o silenciamento ou a superexpressão de genes envolvidos na expressão de proteínas relacionadas à infecção viral no mosquito, demonstra que *Aedes aegypti* geneticamente modificado pode ser criado, a fim de que este seja resistente à infecção viral.

Nos insetos, a imunidade inata tem papel importante na limitação da infecção por patógenos, através da produção de moléculas como peptídeos antimicrobianos e pela fagocitose. Segundo Gregório (2012), a resposta imune dos mosquitos ocorre pela ativação de duas principais vias de sinalização, Toll e immune deficiency (Imd). Xi (2008) demonstrou que a regulação da via de sinalização Toll causa resistência à infecção pelo vírus DENV em *Ae. aegypti*. Por outro lado, estudos realizados por Ramires (2010), demonstraram que há aumento da infecção viral em *Ae. aegypti* (cepa Rockefeller) pela regulação de Toll, através da inibição do fator de transcrição Rel 1. A proteína de intestino BBMF é responsável pela infecção por CHIKV, no *Ae. aegypti*. A proteína BBMF interage com a proteína do envelope viral, este penetra nas células do intestino, causando a infecção e conseqüentemente ocorre a replicação viral. Quando o receptor está ausente, o vírus não infecta as células intestinais do mosquito (GHOSH et al., 2019). Estes achados contribuem para o entendimento da complexa interação vírus-vetor.

Embora o foco desta revisão sejam moléculas de *Ae. aegypti* envolvidas na infecção viral, nós observamos que existem alguns estudos relacionados à microbiota do mosquito, como é o caso da bactéria *Wolbachia*, que está envolvida na ativação do sistema imune do invertebrado, quando infectados pelo vírus DENV, ZIKV e CHIKV (XI; RAMIREZ; DIMOPOULOS, 2008).

A bactéria endossimbionte *Wolbachia* pode infectar uma variedade de insetos, incluindo o mosquito *Aedes aegypti* (HAQSHENAS et al., 2019). Estudos realizados com a bactéria *Wolbachia* têm demonstrado que a sua presença em *Aedes aegypti* limita a infecção por bactérias, fungos e vírus. Por isso, várias iniciativas para testar o uso de *Wolbachia* tem sido tomada, a fim de diminuir a transmissão de doenças ocasionadas por vetores, como exemplo o *Aedes aegypti* na transmissão pelo vírus DENV, ZIKV e CHIKV. Haqshenas (2019), demonstrou em seu trabalho que a presença da bactéria *Wolbachia* em *Aedes aegypti* diminui a expressão do receptor de insulina e conseqüentemente, ocorre a diminuição da infecção pelos DENV e ZIKV apontando quais vias de sinalização estão envolvidas na infecção por *Wolbachia*. Por outro lado, Voronin (2012) observou que a presença da infecção por *Wolbachia* pode ativar vias da autofagia. Um estudo clínico randomizado controlado e com duração de três anos foi realizado pela “World Mosquito Program”, da Universidade da Austrália, junto com as Universidade Cadjah, da Indonésia e a fundação Tahija. O estudo demonstrou a redução de 77% na incidência dos casos de dengue, virologicamente confirmados em áreas (Yogyakarta, Indonésia), onde os mosquitos com *Wolbachia* foram soltos. No

Brasil, a Fiocruz conduz um estudo similar, onde dados preliminares demonstraram a diminuição dos casos de chikungunya. O estudo possui parceria com o Ministério da Saúde e apoio de governos locais. Os primeiros testes foram realizados na cidade do Rio de Janeiro e Niterói, onde dados preliminares demonstraram que houve 75% da redução de incidência de casos de chikungunya, na cidade de Niterói. Atualmente, o projeto está em expansão para as cidades de Campo Grande, Petrolina (PE) e Belo Horizonte (MG) (COSTA, 2020).

Desta forma é possível observar a importância da bactéria endossimbionte *Wolbachia* na infecção do *Aedes aegypti*, a qual pode ser uma importante aliada no controle da transmissão de arbovírus. Embora os resultados sejam promissores, faz-se necessário o acompanhamento a longo prazo dos mosquitos infectados com a *Wolbachia*, pois a comunidade científica desconhece os efeitos que estas podem causar em seres humanos a longo prazo.

6 CONCLUSÕES

- Foram identificadas diferentes moléculas de *Aedes aegypti* envolvidas no processo de infecção, replicação e transmissão viral;
- Das moléculas encontradas, 41% pertencem ao RNA ou são genes e fatores de transcrição de *Aedes aegypti*;
- Proteínas de saliva de *Aedes aegypti* como AaSG34, Nest1, AgBr1, NS1 também tem papel chave no processo da infecção viral;
- Observou-se que a regulação de receptor da via Toll, o qual ativa o sistema imunológico de *Aedes aegypti* também está atua na competência vetorial do mosquito;
- Foi observado que a regulação de receptor de membrana de células de intestino de *Aedes aegypti* como BBMF inibe a infecção viral no mosquito.

Em conclusão, conforme com os dados encontrados, entende-se que diferentes moléculas de *Ae. aegypti* podem se tornar alvos contra a infecção pelos vírus Dengue, Zika e Chikungunya. Entre as moléculas, encontram-se RNA, fatores de transcrição, proteínas que regulam vias de sinalização e atuam na imunidade inata, proteínas de saliva e do intestino do mosquito. Estes achados podem ser utilizados, a fim de lançar luz no desenvolvimento de estratégias alternativas de combate às arboviroses, as quais *Ae. aegypti* é incriminado como vetor principal. Possibilitando o desenvolvimento de estudos que envolvam o mecanismo de ação das moléculas, ensaios em animais e testes clínicos, os quais servirão como guia para a criação de inseticidas, testes sorológicos, testes pelo método PCR entre outros, a fim de que, a infecção pelos arbovírus possa ser identificada, inibida e controlada.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, D. F.; BUFFON, S. P. B. Elementos Históricos da Zika no Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, v. 21, n. 1, p. 146–155, 3 jul. 2019.
- AZEVEDO, J. B. Análise do Ciclo Biológico do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Exposto a Cenários de Mudanças Climáticas Previstas pelo IPCC. p. 53, 2015.
- BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G. Dengue in Brazil: Epidemiological situation and Contribution to a Research Agenda. **estudos avançados**, p. 20, 2008.
- CAICEDO, P. A. et al. Immune Response-Related Genes Associated to Blocking Midgut Dengue Virus Infection in *Aedes aegypti* Strains That Differ in Susceptibility. **Insect Science**, v. 26, n. 4, p. 635–648, ago. 2019.
- CAMPBELL, C. L. et al. *Aedes aegypti* uses RNA Interference in Defense Against Sindbis Virus Infection. **BMC Microbiology**, v. 8, n. 1, p. 47, 2008.
- CARDENAS, J. C. et al. IgG1 and IgG4 Antibodies Against *Aedes aegypti* Salivary Proteins and Risk for Dengue Infections. **PLOS ONE**, v. 14, n. 1, p. e0208455, 2 jan. 2019.
- CHAGAS, A. C. et al. Collagen-binding protein, Aegyptin, Regulates Probing Time and Blood Feeding Success in the Dengue Vector Mosquito, *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 19, p. 6946–6951, 13 maio 2014.
- DE GREGORIO, E. The Toll and Imd Pathways are The Major Regulators of The Immune Response in Drosophila. **The EMBO Journal**, v. 21, n. 11, p. 2568–2579, 3 jun. 2002.
- DONG, S.; BEHURA, S. K.; FRANZ, A. W. E. The Midgut Transcriptome of *Aedes aegypti* fed With Saline or Protein Meals Containing Chikungunya Virus Reveals Genes Potentially Involved in Viral Midgut Escape. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 382, dez. 2017.
- GARCIA DA SILVA, H. H.; GARCIA DA SILVA, L.; DA SILVA LIRA, K. Metodologia de Criação, Manutenção de Adultos e Estocagem de Ovos de *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) em Laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, v. 27, n. 1, 19 abr. 2007.
- GHOSH, A. et al. Understanding the Mechanism of Chikungunya Virus Vector Competence in Three Species of Mosquitoes. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 3, p. 375–387, set. 2019.
- GÖERTZ, G. P. et al. Subgenomic *Flavivirus* RNA Binds the Mosquito DEAD/H-box helicase ME31B and Determines Zika Virus Transmission by *Aedes aegypti*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 38, p. 19136–19144, 17 set. 2019.

HAQSHENAS, G. et al. A Role for the Insulin Receptor in the Suppression of Dengue Virus and Zika Virus in Wolbachia-Infected Mosquito Cells. **Cell Reports**, v. 26, n. 3, p. 529- 535.e3, jan. 2019.

HASTINGS, A. K. et al. *Aedes aegypti* NeSt1 Protein Enhances Zika Virus Pathogenesis by Activating Neutrophils. **Journal of Virology**, v. 93, n. 13, p. e00395-19, /jvi/93/13/JVI.00395- 19.atom, 10 abr. 2019.

KHOO, C. C. et al. The RNA Interference Pathway Affects Midgut Infection- and Escape Barriers for Sindbis Virus in *Aedes aegypti*. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 130, 2010.

KHOO, C. C. H. et al. Transgene-mediated Suppression of the RNA Interference Pathway in *Aedes aegypti* Interferes With Gene Silencing and Enhances Sindbis Virus and Dengue Virus Type 2 Replication: FHV-B2 Expression in Transgenic *Aedes aegypti*. **Insect Molecular Biology**, v. 22, n. 1, p. 104–114, fev. 2013.

MCCRACKEN, M. K. et al. *Aedes aegypti* Salivary Protein “aegyptin” Co-inoculation Modulates Dengue Virus Infection in The Vertebrate Host. **Virology**, v. 468–470, p. 133–139, nov. 2014.

RAMIREZ, J. L.; DIMOPOULOS, G. The Toll Immune Signaling Pathway Control Conserved Anti-Dengue Defenses Across Diverse *Ae. aegypti* Strains and Against Multiple Dengue Virus Serotypes. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 34, n. 6, p. 625–629, jun. 2010.

RYCKEBUSCH, F. et al. Infection of a French Population of *Aedes albopictus* and of *Aedes aegypti* (Paea Strain) with Zika Virus Reveals Low Transmission Rates to These Vectors’ Saliva. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2384, 10 nov. 2017.

SÁNCHEZ-VARGAS, I. et al. Dengue Virus Type 2 Infections of *Aedes aegypti* Are Modulated by the Mosquito’s RNA Interference Pathway. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 2, p. e1000299, 13 fev. 2009.

SRI-IN, C. et al. A Salivary Protein of *Aedes aegypti* Promotes Dengue-2 Virus Replication and Transmission. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 111, p. 103181, ago. 2019.

SUCUPIRA, P. H. F. Avaliação da Resposta Imune do Vetor *Aedes aegypti* à Infecção por Mayaro Vírus. fls 92. 2019.

TAUIL, P. L. Condições Para a Transmissão da Febre do Vírus Chikungunya. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 23, n. 4, p. 773–774, dez. 2014.

URAKI, R. et al. *Aedes aegypti* AgBR1 Antibodies Modulate Early Zika Virus Infection of Mice. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 6, p. 948–955, jun. 2019.

VARJAK, M. et al. Characterization of the Zika Virus Induced Small RNA Response in *Aedes aegypti* Cells. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 10, p. e0006010, 17 out. 2017.

VORONIN, D. et al. Autophagy Regulates Wolbachia Populations Across Diverse Symbiotic Associations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 25, p. E1638–E1646, 19 jun. 2012.

WICHIT, S. et al. *Aedes Aegypti* Saliva Enhances Chikungunya Virus Replication in Human Skin Fibroblasts Via Inhibition of The Type I Interferon Signaling Pathway. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 55, p. 68–70, nov. 2017.

XI, Z.; RAMIREZ, J. L.; DIMOPOULOS, G. The *Aedes aegypti* Toll Pathway Controls Dengue Virus Infection. **PLoS Pathogens**, v. 4, n. 7, p. e1000098, 4 jul. 2008.

ZHAO, L. et al. The Effect of Permethrin Resistance on *Aedes aegypti* Transcriptome Following Ingestion of Zika Virus Infected Blood. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 470, 1 set. 2018.

ZHAO, L.; ALTO, B.; SHIN, D. Transcriptional Profile of *Aedes aegypti* Leucine-Rich Repeat Proteins in Response to Zika and Chikungunya Viruses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 3, p. 615, 31 jan. 2019.