

MOSQUITO TRANSGÊNICO *Aedes aegypti* NO BRASIL: LINHAGEM OX513A

MOSQUITO *Aedes aegypti* TRANSGENIC IN BRAZIL: LINE OX513A

CAMILA RODRIGUES RUFFATO¹, HÉLIO CONTE^{2*}

1. Graduada em Química pela Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG). Especialista em Biotecnologia pela Universidade Estadual de Maringá (UEM); 2. Professor Doutor. Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular (DBC).

* Universidade Estadual de Maringá (UEM). Av. Colombo, 5790, Bloco H-67, Sala 7-A, Maringá, Paraná, Brasil. CEP: 87020-900. hconte@uem.br

Recebido em 23/02/2015. Aceito para publicação em 10/03/2015

RESUMO

A dengue é uma doença causada nos humanos principalmente pelo *Aedes aegypti*, família *Culicidae*, ordem *Diptera*. Os métodos convencionais usados para o controle do mosquito se apresentam ineficientes e diante desse fato, surgem alternativas mais promissoras, como os mosquitos geneticamente modificados. A Oxitec é uma empresa britânica que produz *Aedes aegypti* com uma proteína letal para ser liberado em campo, a linhagem OX513A, usando a técnica do RIDL. Os descendentes entre o mosquito selvagem e o transgênico herdam o gene letal e morrem antes da fase adulta. A linhagem OX513A está sendo testada em algumas cidades do Brasil e até o momento os resultados obtidos na redução da frequência do mosquito selvagem foram satisfatórios, porém, existem alguns riscos que devem ser expostos.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue, RIDL, transgênicos.

ABSTRACT

Dengue is a disease caused in humans mainly by the *Aedes aegypti*, *Culicidae* family and *Diptera*. Conventional methods used for mosquito control are presented inefficient, given that fact, most promising alternatives arise, such as genetically modified mosquitoes. Oxitec is a British company that produces *Aedes aegypti* with a lethal protein to be released in the field, OX513A line, using the technique of RIDL. The descendants of the wild mosquitoes and genetically modified inherit the lethal gene and die before adulthood. The OX513A line is being tested in some cities in Brazil and yet the results for the reduction of wild mosquitoes were satisfactory, however, there are some risks that must be exposed.

KEYWORDS: Dengue, RIDL, transgenics.

1. INTRODUÇÃO

A fêmea do mosquito *Aedes aegypti*, através da sua picada, é a principal responsável pela transmissão do vírus da dengue aos hospedeiros humanos. Somente a fêmea do mosquito é capaz de propagar a doença porque precisa do sangue para o desenvolvimento de seus ovos.

O uso indiscriminado de produtos químicos para

controle do vetor *Aedes aegypti* podem induzir populações de mosquitos a se tornarem resistentes aos inseticidas, reduzindo a eficácia destes produtos¹ e ocasionar impactos ambientais: contaminação da água, do ar, do solo², eliminação da flora e de outras populações de seres vivos. Existe também o risco de intoxicação humana causada aos manipuladores, agentes de endemias, que estão em contato diário com os inseticidas, na maioria das vezes, sem proteção adequada.

Testes em laboratório estão sendo realizados com objetivo de criar estratégias mais viáveis ao controle do mosquito. A manipulação genética tem sido introduzida na tentativa de redução da população do *Aedes aegypti* usando a técnica *Release of Insect carrying a Dominant Lethal gene* (RIDL), em português, liberação de machos carregando gene letal, que consiste na modificação de um gene, produzindo a proteína tTAV, causadora da morte nos descendentes entre os mosquitos machos transgênicos com as fêmeas selvagens, antes da fase adulta do mosquito³.

A empresa britânica Oxford Insect Technology (Oxitec) desenvolve linhagens transgênicas para o mosquito da dengue. Recentemente a linhagem OX513A, em fase de testes, foi empregada no Brasil na cidade de Juazeiro, Bahia, e obteve resultados considerados satisfatórios para a redução da população do *Aedes aegypti*⁴. A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) aprovou em dez de abril de 2014 o pedido de comercialização do mosquito OX513A no Brasil⁵.

Uma unidade da Oxitec foi instalada na cidade de Campinas, São Paulo, em parceria com a biofábrica Moscamed onde são produzidos em média 500.000 mosquitos geneticamente modificados por semana, podendo chegar a 2.000.000 milhões por semana⁴.

Diante desta inovação biotecnológica, os mosquitos *Aedes aegypti* geneticamente modificados, e consequentemente seu uso no Brasil, surgem indagações e receios sobre a nova tecnologia. Esta revisão discute sobre a linhagem OX513A produzida pela Oxitec e a técnica do RIDL. É necessário o conhecimento de estudos que

apontem as características específicas, vantagens e impactos causados pela utilização dos mosquitos transgênicos para o controle do vírus da dengue.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Pesquisa do tipo bibliográfico através de consultas em bancos de dados como Scielo, LiLacs, revista online para identificação de artigos em português e inglês de 2010 a 2014 relevantes para o estudo. Outras publicações direcionadas também foram utilizadas, como dissertação, tese, livros e sites.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Aedes aegypti*, devido a sua estreita relação com o homem, é encontrado preferencialmente próximo as habitações humanas, na forma de larvas e pupas, em recipientes com água, como vasos de plantas, pneus velhos, caixas d'água. Os ovos do mosquito são depositados na superfície da água e podem sobreviver até dois anos sem contato com a água. O *Aedes aegypti* pertence à família *Culicidae*, gênero *Aedes*, e apresenta cor escura contendo listras brancas no seu corpo e pernas⁶.

O mosquito é atraído por substâncias encontradas nos seres humanos como o dióxido de carbono (CO₂), ácido láctico e amônia. Os palpos maxilares dos insetos indicam os níveis de CO₂ exalados pelos hospedeiros, e as antenas os odores mais complexos⁷.

A fêmea do mosquito *Aedes aegypti* transmite através da saliva o vírus dengue (DENV) para o homem. O vírus dengue pertence à família *Flaviviridae* e possui uma estrutura simples com partículas virais não esféricas, com 50 a 55 nm de diâmetro⁸ que consiste em uma cadeia simples positiva de RNA com 11 a 12 kilobases⁹, podendo ser subdividido em quatro sorotipos (DENV 1-2-3-4), apesar de apresentarem características diferentes, os tipos de dengue estão intimamente relacionados entre si¹⁰.

Segundo o Ministério da Saúde (2013)¹¹ foram notificados 1.476.917 casos de dengue no Brasil, com 573 óbitos. A doença infecta pelo menos 50 milhões de pessoas por ano no mundo. O controle da doença é dificultado pelo combate efetivo do mosquito transmissor devido ao crescimento populacional¹² com a falta de conscientização da população que insiste em deixar locais, reservatórios, que acumulem água e a indisponibilidade de vacina.

A dengue pode causar nos humanos sintomas leves até quadros graves de hemorragia (DENV-4) podendo chegar à morte¹³. O país sofre com o custo elevado de tratamentos, internações. A pessoa deixa de ir trabalhar e diversos setores da economia são atingidos. Devido aos graves danos causados pela dengue, pesquisas estão sendo realizadas em todo mundo, buscando alternativas de controle do vetor^{14,15} como o uso de mosquitos trans-

gênicos¹⁶.

Técnica do RIDL (*Release of Insect carrying a Dominant Lethal gene*)

Os organismos transgênicos compreendem adição de um gene no material genético de outra espécie, diferente dos genes encontrados no seu genoma original, podendo ser transmitida aos descendentes do indivíduo¹⁷.

A Oxitec, empresa britânica, desenvolve tecnologias de controle de insetos, usando linhagens transgênicas, baseadas na Técnica do Inseto Estéril (TIE), que usa a radiação esterilizante para criar novos machos estéreis. A TIE consiste na liberação em grande escala de insetos machos estéreis para copular com fêmeas selvagens, reduzindo assim a população de insetos, essa técnica é bastante usada na agricultura para controle de insetos pragas. A tecnologia da Oxitec dispensa a fase de irradiação usada na TIE e utiliza um gene letal para criar seus machos estéreis, técnica conhecida como RIDL⁴. A técnica do RIDL se desenvolveu a partir das limitações da TIE em mosquitos, como a competitividade para a cópula reduzida e falta de aptidão física para o acasalamento¹⁸. O princípio do RIDL consiste em liberar mosquitos machos com gene letal, proteína tTAV, para cruzar com fêmeas selvagens, onde todos os descendentes serão portadores do gene letal dominante¹⁹.

No laboratório é adicionado na alimentação dos mosquitos transgênicos um antídoto, a tetraciclina, para que o *Aedes aegypti* possa sobreviver ao gene letal. Na natureza os descendentes entre o macho transgênico e a fêmea selvagem não encontram em quantidade suficiente esse antídoto, morrendo antes da fase adulta⁴.

Vale ressaltar que a tetraciclina é um antibiótico muito usado na medicina e na agricultura industrial podendo ser encontrado em esgotos, fossas sépticas, cloacas, alimentos industriais e excrementos de animais, os mosquitos que herdam a proteína letal podem sobreviver com a tetraciclina presente na natureza por várias gerações, aumentando a competitividade com os mosquitos silvestres, podendo causar danos aos seres humanos, o que torna a Oxitec dependente da tetraciclina. Outro aspecto que torna a técnica da Oxitec defeituosa é que nem todos os descendentes dos mosquitos transgênicos irão morrer, 3 a 5% apresentam chance de sobrevivência¹⁸.

Oxitec e a Linhagem OX513A

A Oxitec, criada em 2002 na Inglaterra, desenvolve os seguintes insetos geneticamente modificados: *Ceratitis capitata*; *Pectinophora gossypiella*; *Plutella xylostella* para o controle de pragas na agricultura e o *Aedes aegypti*, para controle de patógenos. No Brasil, existe uma unidade da Oxitec na cidade de Campinas, São Paulo, através de parcerias com a Moscamed, biofábrica de produção de mosquitos estéreis e a Universidade de

São Paulo (USP) onde estão produzindo em laboratório o mosquito transgênico *Aedes aegypti*, linhagem OX513A⁴.

A linhagem OX513A é originária do cruzamento entre a linhagem Rockefeller e a malasiana de *Aedes aegypti*¹⁶. No laboratório da Oxitec, por microinjeção de DNA, os ovos do mosquito recebem dois genes, um gene que contém um marcador fluorescente vermelho (DsRed2) com a função de identificar e controlar os mosquitos transgênicos liberados em campo, e o outro gene que produz a proteína letal²⁰. De acordo com a Oxitec⁴ se o mosquito transgênico conseguir sobreviver até a fase adulta ele será muito mais fraco em relação ao mosquito selvagem e a fêmea não irá sobreviver tempo suficiente para transmitir a doença.

Na linhagem OX513A a letalidade condicional é causada pela ausência ou presença de tetraciclina. Na ausência de tetraciclina a proteína tTA, produto do sistema ativador de transcrição tetraciclina - repressível (tTAV), liga-se ao elemento de resposta a tetraciclina tRE ativando tetO e aumentando tTA por um sistema de retroalimentação positiva, altos níveis de tTA causam a morte do mosquito antes da fase adulta. Na presença de tetraciclina não ocorre o aumento de tTA porque a proteína tTA tem mais afinidade por tetraciclina do que por tRE e o mosquito consegue se desenvolver até a fase adulta¹⁶.

Testes foram realizados usando a linhagem OX513A em alguns locais que apresentam altos índices de dengue, como a Malásia e as Ilhas Caiman no ano de 2010²¹ e obteve-se a redução significativa do mosquito *Aedes aegypti* selvagem⁴. No Brasil estão sendo realizados estudos de campo nos municípios de Juazeiro e Jacobina na Bahia, encontrando resultados satisfatórios. A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) é a responsável pela autorização dos testes no Brasil, e em dez de abril de 2014 foi aprovado o pedido de comercialização do mosquito OX513A no país⁵.

Em Juazeiro a liberação do mosquito transgênico foi aplicada em 2011 no bairro Itaberaba e no distrito de Mandacaru. Essas regiões foram escolhidas baseadas em características climáticas, geográficas e demográficas. Em Itaberaba houve a redução de 80% dos mosquitos selvagens, já a supressão foi maior em Mandacaru alcançando uma redução de 96%, e isso aconteceu porque o distrito de Mandacaru é uma área geograficamente mais isolada ocorrendo menos imigrações de mosquitos selvagens a partir das áreas não tratadas. Na cidade de Jacobina testes realizados com os mosquitos da Oxitec no bairro de Pedra Branca, em 2013, registraram uma diminuição de 79% na população do mosquito selvagem⁴.

No Brasil, a Oxitec não publicou as avaliações de risco antes da liberação em campo dos mosquitos transgênicos, as informações trazidas pela empresa sobre a

tecnologia são resumidas. A decisão de fazer experimentos no Brasil parece estar mais vinculada a um acordo político para comercializar a Oxitec no país do que apresentar os possíveis benefícios dessa nova tecnologia¹⁸.

Nas áreas onde *Aedes aegypti* é endêmico, como no Brasil, uma eliminação parcial ou temporária do mosquito pode piorar o problema da dengue. Com a diminuição do *Aedes aegypti* selvagem pode ocasionar o aumento de *Aedes albopictus* que também é o vetor da dengue e de outras enfermidades, já que não existirá a competitividade pelos locais com água. Existem outras questões relacionadas ao risco do uso do mosquito transgênico no qual a Oxitec apresenta informações insuficientes, questões como a interação com outras espécies de mosquitos, os humanos que são picados, e o vírus que carregam¹⁸.

4. CONCLUSÃO

A tecnologia proposta pela Oxitec para a redução da frequência do mosquito *Aedes aegypti* selvagem, responsável pela disseminação de doenças, parece ser promissora, e apresenta certas vantagens, porém, testes mais minuciosos sobre os riscos potenciais dessa tecnologia devem ser realizados constantemente.

Cabe aos órgãos responsáveis no Brasil avaliar até que ponto essa nova tecnologia é segura tanto no aspecto ambiental quanto para a saúde dos seres humanos. Vale ressaltar que a redução da dengue está relacionada às mudanças fundamentais: melhoramento do acesso à água potável, atenção as questões sanitárias e conscientização da população.

REFERÊNCIAS

- [01] Paiva MHS. Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti*. [tese] Recife: Fundação Oswaldo Cruz, 2013.
- [02] Jerônimo CE, Nascimento LP, Balbino CP. Impacto ambiental derivado das ações de controle e combate a dengue do Rio Grande do Norte. Revista Monografias Ambientais 2012; 9(9): 2021-30.
- [03] Oliveira SL, Carvalho DO, Capurro ML. Mosquito transgênico: do paper para a realidade. Revista da Biologia 2011; 6b(2):38-43.
- [04] Oxford Insect Technology (OXITEC). Campinas, 2013. [acesso 20 ago. 2014] Disponível em: <http://br.oxitec.com>
- [05] Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Parecer Técnico nº 3964/2014: Liberação comercial da linhagem OX513A de *Aedes aegypti*. Brasília (DF), 2014.
- [06] Silva CM, Coutinho GSL, Olea RSG. A luta humana contra o *Aedes aegypti*. Revista Cadernos de Pesquisas. 2012; 9(3):107-15.
- [07] Bohbot JD, Sparks JT, Dickens JC. The maxillary palp of *Aedes aegypti*, a model of multisensory integration. In-

- sect Biochem Mol Biol 2014; 48:29-39.
- [08] Faheem MRU, Rahell U, Riaz MN, Kanwall N, Javed F, Safad NZS, et al. A molecular evaluation of dengue virus pathogenesis and its latest vaccine strategies. Mol Biol Rep 2011; 38(6):3731- 40.
- [09] Saeedi BJ, Geiss BJ. Regulation of flavivirus RNA synthesis and capping. Wiley Interdiscip Rev RNA 2013; 4(6): 723-35.
- [10] Sim S, Ramirez JR, Dimopolus G. Dengue Virus Infection of the *Aedes aegypti* Salivary Gland and Chemosensory Apparatus Induces Genes that Modulate Infection and Blood-Feeding Behavior. PLoS Pathog 2012; 8(3):e1002631.
- [11] Brasil. Ministério da Saúde. Pesquisa inédita vai mapear doenças e fatores de risco à saúde. Brasília, 2014. [acesso 29 set. 2014]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/profissional-eg-estor/vigilancia/links-vigilancia?start=250>
- [12] Oliveira LC, Binsfeld PC. Mosquito transgênico para combate da dengue: abordagem sanitária e de biossegurança. In: 8ª mostra de produção científica da Pós Graduação Lato Sensu da PUC; 2013; nov 1; Goiânia. Goiás: PUC, 2013.
- [13] Nunes JS. Dengue: etiologia, patogênese e suas implicações a nível global. [dissertação] Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2011.
- [14] Oliveira CD, Moreira LA. Uso de *wolbachia* no controle biológico. In: Neto MACS, Winter C, Termignoni C. Tópicos Avançados em Entomologia Molecular. Rio de Janeiro: UFRJ; 2012.
- [15] Bian G, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi Z. The endosymbiotic bacterium *wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti*. PLoS Pathog 2010 Apr; 6 (4): e1000833.
- [16] Carvalho DO. Estudo de dispersão dos machos da linhagem transgênica OX513A de *Aedes aegypti*. [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2011.
- [17] Sanoni M, Ferment G. Transgênicos para quem? agricultura, ciência, sociedade. Brasília: MDA; 2011.
- [18] Wallace H. Mosquitos geneticamente modificados: preocupações atuais. Tradução de Camila Moreno. Rio de Janeiro: HEINRICH BOLL, 2013. Título Original: Genetically Modified Mosquitoes: Ongoing Concerns.
- [19] Wilke ABB, Marrelli MT. Genetic control of mosquitoes: population suppression strategies. Rev Inst Med Trop São Paulo 2012 Sep- Oct; 54 (5):287-92.
- [20] Morris EJ. Open field release of a self-limiting transgenic *Aedes aegypti* mosquito strain to combat dengue - a structured risk-benefit analysis. AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol 2011 Jun;19(3):107-10.
- [21] Subbaraman N. Science snipes at Oxitec transgenic-mosquito trial. Nat Biotechnol 2011 Jan; 29(1): 9-11.

