

## Monitoramento da suscetibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas utilizados para seu controle no Estado de São Paulo

Maria Teresa Macoris Andrighetti, Maria de Lourdes da Graça Macoris, Karina de Cássia Rodrigues Nalon, Vanessa Camargo Garbeloto Otrera  
Superintendência de Controle de Endemias da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo SES/SP

### Introdução

A presença de *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo foi registrada, em 1985, em municípios da região oeste. Apesar de todas as orientações e tentativas de controle, verificou-se, a partir daí, uma rápida expansão geográfica desse culicídeo do oeste para o leste do Estado<sup>1</sup>. Medidas de controle mecânico e químico passaram a ser executadas pela Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e, nos anos que se seguiram, por Prefeituras Municipais. As medidas de controle químico realizadas incluíram o uso de temephos, que tem ação sobre a fase larvária e o fenitrothion, inseticida de ação residual que, além de atuar sobre a fase adulta do vetor, possui ação larvicida. Ambos os produtos pertencem à categoria química dos organofosforados. O malathion foi utilizado em pequena quantidade, em substituição ao fenitrothion, nos anos de 1987 a 1993, em períodos de falta deste último no mercado. O fenitrothion foi utilizado até final de 1999, quando, então, passou a ser utilizado o piretróide sintético cipermetrina. As nebulizações térmicas e atérmicas para o controle da fase adulta do vetor, utilizadas desde 1985, ficaram restritas, de maneira geral, aos períodos de verão e outono, quando a densidade do vetor torna-se mais elevada e ocorrem as maiores incidências de dengue. Vários inseticidas foram empregados nessa atividade, entre eles o propoxur (1986 a 1989), o malathion (1985 a 1992 e de 2001 até o momento) e a cipermetrina (1989 a 2001), pertencentes, respectivamente, à categoria química dos carbamatos, organofosforados e piretróides.

O controle da transmissão de dengue por meio da utilização de produtos químicos ocasionou consequências, não só para o meio ambiente, como também para a própria eficácia do controle, uma vez que o uso contínuo de inseticidas, independentemente da categoria a que pertençam, é condenado em qualquer ação de manejo da resistência<sup>2</sup>.

O uso de inseticidas em vários países propiciou o surgimento de populações resistentes aos produtos mais intensamente utilizados. O desenvolvimento de resistência a inseticidas em mosquitos foi detectado pela primeira vez em 1947, quando populações de *Aedes taeniorhynchus* e *Aedes sollicitans* passaram a apresentar resistência ao DDT na Flórida, Estados Unidos<sup>3</sup>. Atualmente, populações de *Aedes aegypti* presentes em diversas partes do mundo, exceto em certos países da África, apresentam resistência ao inseticida<sup>4</sup>. A resistência a organofosforados, não evidenciada nas populações de *Aedes aegypti* que fizeram parte de um inquérito mundial em 1969, foi detectada na Ásia, em 1972 e atualmente está presente na região do Caribe e países vizinhos, incluindo Américas Central e do Sul<sup>4, 5</sup>. A resistência aos piretróides sintéticos, inseticidas de utilização mais recente, já foi evidenciada nos Estados Unidos, Porto Rico, Camboja, Taiwan, Malásia e Tailândia<sup>4</sup>. No Brasil, em 1994, foram detectadas alterações cromossômicas em genes que produzem enzimas responsáveis pela degradação de organofosforados em populações de *Aedes aegypti* do Estado de São Paulo<sup>6</sup>. Em 1995, foi observada a diminuição da suscetibilidade de *Aedes aegypti* ao temephos, em

população proveniente do Estado de Goiás<sup>7</sup>.

A capacidade de um inseto resistir a um determinado inseticida é uma característica genética que normalmente ocorre numa frequência muito baixa nas populações naturais. Populações de insetos resistentes surgem devido à seleção exercida pelo uso contínuo de inseticidas, em que a eliminação de insetos suscetíveis favorece o aumento da frequência de genes resistentes. Deste modo, a escolha dos inseticidas utilizados em Programas de Controle, assim como o tempo de uso e a seqüência de utilização das categorias de produtos, são parâmetros importantes, que devem ser considerados na avaliação de suscetibilidade a inseticidas.

Desde 1960 a Organização Mundial de Saúde (OMS), reconhecendo a necessidade de se avaliar a suscetibilidade de insetos a inseticidas, propôs a padronização de bioensaios, com o objetivo de permitir a comparação dos resultados<sup>8</sup>. Segundo as guias da própria OMS<sup>9, 10</sup>, a resistência pode ser detectada, por meio de bioensaios, segundo duas metodologias: exposição dos insetos a uma dose diagnóstica e estimativa de Razão de Resistência - RR (que relaciona as concentrações capazes de eliminar 50 ou 95% da linhagem teste e da linhagem suscetível). A avaliação da suscetibilidade das larvas, através do uso desse indicador, permite que se estime quantas vezes é necessário aumentar a dose letal de uma linhagem suscetível para se obter o mesmo percentual de mortalidade na linhagem de campo. Os resultados expressos em RR servem como registro para comparações futuras ao longo do tempo, mesmo antes da detecção da resistência pela utilização do método da dose diagnóstica.

O ideal é que se avalie o *status* da suscetibilidade de uma determinada espécie, antes da sua exposição a um inseticida. Caso isto não seja

possível, pode-se avaliá-lo de modo comparativo com uma população nunca exposta à pressão de seleção pelo uso do produto, cuja resposta biológica (morte ou sobrevivência) possa ser considerada padrão para a espécie. Essa população padrão se denomina "população suscetível". Outra possibilidade para avaliação da suscetibilidade, na ausência de uma população suscetível, é acompanhar a resposta de uma população ao longo do tempo. Neste caso, considera-se a primeira avaliação como a linha base, que servirá de padrão comparativo para as avaliações futuras.

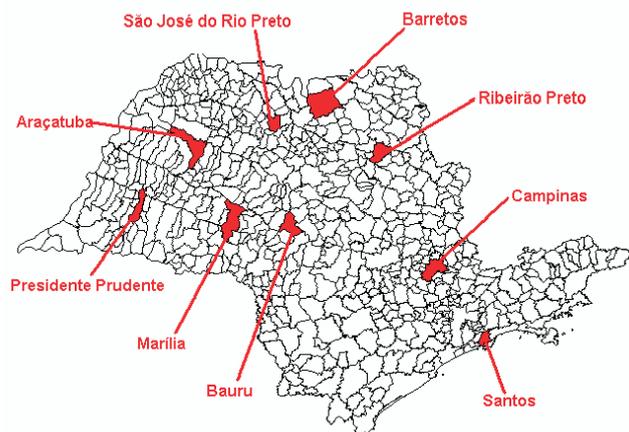
Para o *Aedes aegypti* existem algumas populações sabidamente suscetíveis aos inseticidas. Estas populações têm sido mantidas em Laboratório (insetários) há muitos anos, sendo periodicamente testadas quanto à sua suscetibilidade. Uma delas é a chamada cepa Rockefeller, que tem sido mantida pelo Laboratório do "Centers of Disease Control" (CDC), em Porto Rico.

## O monitoramento

A Superintendência de Controle de Endemias (Sucen), órgão responsável pelo controle de endemias no Estado de São Paulo, implantou em 1996 o monitoramento da suscetibilidade de populações de *Aedes aegypti* aos inseticidas usados no seu controle em diversas regiões. Para seleção dos municípios, cujas populações deveriam ser monitoradas, levou-se em consideração:

- O uso intenso de inseticidas em função da transmissão de dengue e/ou
- A possibilidade de introdução de mosquitos de outras áreas, por dispersão passiva, em função da relevante importância econômica desse município na região.

A aplicação desses critérios permitiu selecionar, inicialmente, nove municípios que seriam considerados como sentinelas para as suas respectivas regiões (Figura 1).



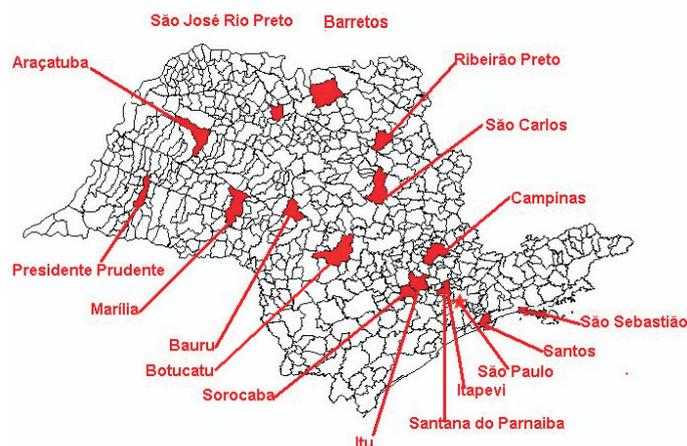
**Figura 1** Municípios Sentinelas para Monitoramento da Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas utilizados no seu controle, Estado de São Paulo, 1996.

metodologias padronizadas pela OMS: exposição à dose diagnóstica (larvas e adultos) e estimativa de razão de resistência (larvas). Numa segunda etapa, naqueles municípios onde foi evidenciada diminuição da suscetibilidade nos bioensaios, são realizadas provas de efetividade com o objetivo de se avaliar a expressão desta resposta em condições e dosagem de campo.

### Padronização de bioensaios em parceria com a Organização Mundial de Saúde

Em 2000, a Organização Mundial de Saúde (WHO)<sup>11</sup> coordenou a padronização da metodologia de estimativa de RR nos Laboratórios de Referência dos países onde estas provas são realizadas, entre esses, o Laboratório da Sucen em Marília. Uma vez que o objetivo das provas de suscetibilidade é a comparação da resposta de diferentes populações de insetos em diversas partes do mundo, é fundamental que os resultados possam ser comparáveis. Para isto, além da padronização da metodologia de avaliação da RR nas diferentes regiões do mundo, foi proposta a utilização da mesma cepa suscetível e o mesmo lote de inseticidas, por todos os laboratórios.

Participaram dessa padronização cinco Laboratórios: LIN/IRD, Centre Collaborateur da OMS, Montpellier, França; Faculty of Liberal Arts and Sciences, Kasetsart University, Nakhon Pathom, Thailand; Caribbean Epidemiology Centre, Port of Spain, Trinidad; Centre de Démoustication, Conseil General, Fort de France, Martinique; Sucen, Marília, São Paulo, Brasil. Os resultados obtidos permitiram avaliar que as estimativas de concentrações letais foram comparáveis entre os laboratórios e que, com o uso de uma população sensível de referência, é possível comparar o nível de suscetibilidade de populações de campo<sup>12</sup>.



**Figura 2** Municípios Sentinelas para Monitoramento da Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas utilizados no seu controle, Estado de São Paulo, 2006.

O monitoramento da suscetibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas é operacionalizado a partir de uma amostra de populações de campo, coletada anualmente nos municípios sentinelas (Figura 2). Os bioensaios são realizados utilizando-se exemplares resultantes da colonização dessas linhagens no Laboratório da Sucen em Marília, seguindo as duas

### Suscetibilidade ao larvicida temephos

Desde o início do monitoramento foram evidenciadas diferenças de comportamento entre as diversas populações de *Aedes aegypti* avaliadas. Aquelas provenientes dos municípios de Bauru, Presidente Prudente e Marília foram as que, ao longo do tempo, apresentaram altos níveis de suscetibilidade ao larvicida temephos. As demais populações apresentaram sempre respostas oscilantes ou alteradas.

Em 1998 os bioensaios evidenciaram a diminuição da suscetibilidade ao temephos em populações procedentes dos municípios de Campinas e Santos<sup>13</sup>. Nesse mesmo ano, a partir do segundo semestre, teve início a discussão da necessidade de se avaliar a situação da suscetibilidade deste vetor aos inseticidas utilizados para seu controle no Brasil. Um grupo de trabalho esboçou a proposta para implantação do monitoramento no nível nacional, no âmbito do Ministério da Saúde, sendo a mesma discutida e formatada no I Seminário Internacional de Controle de Vetores e Reservatórios em Belo Horizonte, MG<sup>14</sup>.

Na proposta de monitoramento indicada para o Brasil, o Laboratório da Sucen de Marília tem participado desde 1999, sendo responsável pelo monitoramento de municípios de vários Estados da Federação. Atualmente avalia linhagens de campo de municípios dos Estados do Ceará, Paraná, Tocantins e Maranhão.

A resistência ao temephos pode causar a redução no tempo de seu efeito residual. Isto já havia sido observado em situação de campo no Rio de Janeiro. Testes simulados de campo, com linhagem de Santos, São Paulo, evidenciaram a necessidade de se deflagrar ações de manejo da resistência e, em 2001, foi recomendada a substituição deste larvicida pelo

biolarvicida *Bacillus thuringiensis var. israelensis*. A partir de 2002 a Sucen recomendou a restrição do uso de larvicidas nas ações de rotina, no Estado, incentivando medidas mais permanentes de controle, com abordagem educativa, visando implementar o controle mecânico de criadouros e utilização, quando necessário, de produtos alternativos<sup>15</sup>.

Em Campinas, a diminuição da suscetibilidade oscilou em níveis baixos e há evidências de que o uso racional de produtos químicos, prática adotada naquele município, preveniu a evolução da resistência ao produto. No município de Ribeirão Preto houve, ao longo dos anos, uma oscilação de resposta com resultados pontuais demonstrando resistência. Testes de campo também apontaram diminuição do efeito residual do temephos, indicando a necessidade de, em curto prazo, introduzir ações de manejo naquela região. Nos municípios de Araçatuba e São José do Rio Preto, alvos de intenso controle químico pelo extenso histórico de transmissão de dengue, também há uma tendência de diminuição da suscetibilidade a este larvicida.

### Suscetibilidade de *Aedes aegypti* a piretróides

A introdução de piretróides para o controle das formas adultas de *Aedes aegypti* ocorreu em 1989, com uso de cipermetrina. Em 1992, a efetividade deste produto foi questionada na população de *Aedes aegypti* de São José do Rio Preto. Naquele momento havia grande dificuldade para o monitoramento da suscetibilidade a piretróides, devido à ausência de uma dose diagnóstica padronizada. As primeiras avaliações foram feitas com o apoio do Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NPPN), da Universidade Federal do Rio de Janeiro, utilizando-se

como referência a dose relatada pelo laboratório do Instituto de Medicina Tropical “Pedro Khouri” (IPK) de Havana, Cuba. Os primeiros testes caracterizaram a resposta das populações testadas como suscetíveis. Em 1999, o IPK propôs uma nova dose e assim, a partir de 2000, todas as populações foram novamente avaliadas. Os resultados evidenciaram um comprometimento da suscetibilidade em praticamente todas as populações, sendo as mesmas classificadas como resistentes, exceto as de Campinas e Marília, cujos níveis de suscetibilidade mostraram-se apenas diminuídos. Ainda em 2000 foi avaliada a resposta ao piretróide permetrina, buscando-se uma alternativa dentro do mesmo grupo químico. Os resultados indicaram que a resposta de todas as linhagens de São Paulo estava comprometida. Uma vez que o inseticida permetrina nunca havia sido utilizado em programas de saúde pública, apesar de ser frequentemente encontrado em produtos comerciais de uso doméstico, estava evidenciada a possibilidade da presença do fenômeno de resistência cruzada e assim, as linhagens de mosquitos expostas a cipermetrina teriam desenvolvido resistência a outros piretróides.

As provas de efetividade em campo, para avaliar o impacto da resistência detectada em laboratório, evidenciou o comprometimento do controle em maior grau (acima de 50%) nas populações dos municípios de Barretos e Ribeirão Preto, enquanto a resposta da população de Santos apresentava níveis de controle abaixo do esperado. Para as populações de Araçatuba e Marília o comprometimento do controle era de cerca de 20%. A opção do manejo foi substituir o uso dos piretróides em todo o Estado, buscando a recuperação dos níveis de suscetibilidade deste grupo, que apresenta a menor toxicidade ao meio ambiente e à população. Entre 2001 e 2003, gradualmente, os piretróides foram substituídos pelos organofosforados.

O malathion passou a ser utilizado em nebulizações e o fenitrothion nos tratamentos perifocais. A evolução da suscetibilidade à cipermetrina é bem evidenciada na Figura 3, onde se observa que há uma tendência geral das populações de apresentarem aumento da mortalidade (o que significa aumento da suscetibilidade ao produto ao longo do tempo). A única exceção até o presente é a população de *Aedes aegypti* proveniente do município de Araçatuba, onde persiste o uso contínuo de piretróides para o controle da leishmaniose visceral americana.

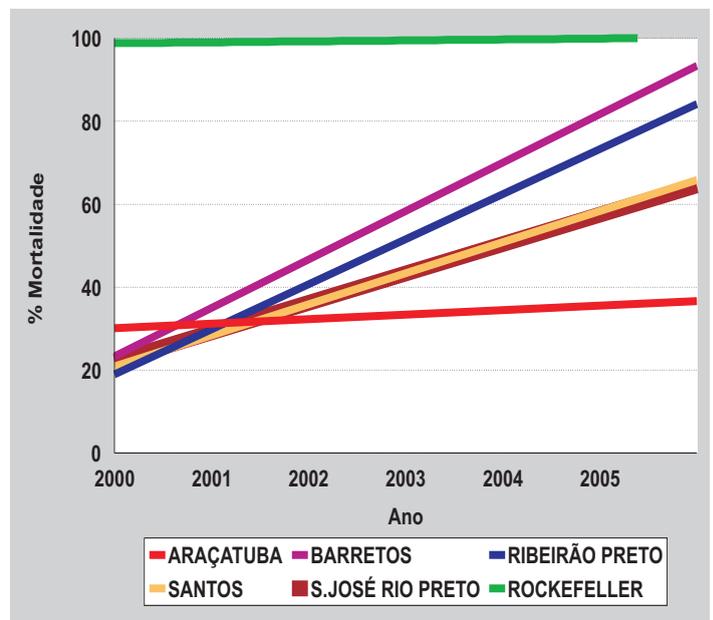


Figura 3 Percentual médio de mortalidade de adultos de *Aedes aegypti* pela exposição à Dose Diagnóstica de Cipermetrina.

## Evolução no monitoramento - implantação de métodos bioquímicos

Em 2001, o Técnico responsável pelo Laboratório de Marília participou de um treinamento sobre técnicas bioquímicas para avaliar atividade de enzimas importantes para a degradação de inseticidas, no Centers of Disease Control, em Atlanta, Estados Unidos. A avaliação e a caracterização da atividade destas enzimas permitem identificar mecanismos de resistência que possam estar envolvidos, informação

importante para a escolha de produtos e técnicas de manejo da resistência. Inicialmente tais provas bioquímicas foram implantadas no Laboratório de Química da SUCEN em São Paulo. No entanto, os testes foram descontinuados. Os primeiros resultados demonstraram alteração da atividade de enzimas esterases, que degradam organofosforados e piretróides, os principais grupos de inseticidas, disponíveis em todo o mundo.

A partir de 2003, as provas bioquímicas passaram a fazer parte do monitoramento, sendo realizadas também pelo Laboratório de Marília. Em março de 2006, Dr. William Brogdon, do Centers of Disease Control, consultor do Ministério da Saúde para o Monitoramento Nacional referendou, em reunião técnica ocorrida no Rio de Janeiro, os resultados, segundo metodologia CDC implementada pelo Laboratório de Marília.

Desta forma, passados dez anos do início das atividades de monitoramento, é de se destacar a relevância dos trabalhos realizados pelos técnicos do Laboratório, cujos resultados foram de extrema importância para o redirecionamento das intervenções químicas no controle de *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo.

## Referências Bibliográficas

1. Glasser CM. Estudo da infestação do Estado de São Paulo por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 1997.p132.
2. Tabashnick BE, Cushing NL, Johnson MW. Diamondback moth (Lepdoptera:Plutellidae) resistance to insecticides in Hawaii: Intra - Island variation and cross resistance. Forum: **J Econ Entomol** 1987;80:1091-9.
3. Brown AWA. Insecticide Resistance in mosquitoes. A pragmatic review. **J Am Mosq Control Assoc** 1986;2:123-40.
4. World Health Organization. Vector resistance to pesticides. Geneva :WHO;1992.(WHO TRS 818).
5. Georghiou GP, Wirth M, Saume F, Knudsen AB. Potencial for Organophosphate Resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean Area and Neighboring Countries. **J Med Entomol** 1987;24:290-4.
6. Dinardo Miranda LL. Variabilidade proteica em populações naturais de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). [tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 1994.p.
7. Macoris ML, Camargo MF, Silva IG, Takaku L, Andrighetti MTM. Modificação da suscetibilidade de *Aedes aegypti* ao temephos. **Rev Patol Trop** 1995;24(1):31-40.
8. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los insecticidas y lucha contra los vectores. Décimo informe del Comité de Expertos en Insecticidas. Ginebra, 1960. 62 p. (Serie de Informes Técnicos, 191).
9. World Health Organization. Instructions for determining the suscetibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides. Stabishment of the baseline. Geneva : WHO; 1981a. (WHO/VBC/81.805).
10. World Health Organization. Instructions for determining the suscetibility or resistance of mosquito larvae to insecticides.) Geneva : WHO; 1981b. (WHO/VBC/ 81.807).
11. World Health Organization. A collaborative study to assess the stability of alcoholic temephos solutions used for resistance monitoring in *Aedes aegypti* (mimeo) March,2000.
12. Macoris MLG, Andrighetti MTM, Nalon KCR, Garbeloto VC, Caldas ALJ. Standardization of Biossays for Monitoring Resistance to Inseticidas in *Aedes aegypti*. **Dengue Bull** 2005;29:176-82.
13. Macoris MLG, Andrighetti MTM, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Cirino VCB. Alteração de resposta de suscetibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1999;33(5):86-7.
14. Seminário Internacional de Controle de Vetores e Reservatórios. Ata de Reunião de Grupo Técnico para Monitoramento da Resistência de vetores a inseticidas. Patrocinado pela Fundação Nacional de Saúde, Belo Horizonte, Outubro de 1998, ata mimeografada.
15. SES. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN). Normas e recomendações Técnicas para a Vigilância e Controle do *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo. São Paulo, 2002.