

MONITORAMENTO DA RESISTÊNCIA AO REGULADOR DE CRESCIMENTO DE INSETOS (RCI), PYRIPROXYFEN, EM POPULAÇÕES DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

(Steffany Larissa da Silva Galdino; Eduardo Barbosa Beserra)

(Universidade Estadual da Paraíba, steffanyldg@hotmail.com)

RESUMO: O regulador de crescimento de Insetos (RCI), pyriproxifen, possui grande potencial de ação sobre populações de *Aedes aegypti*, atuando como análogo do hormônio juvenil. Desse modo objetivou-se monitorar a evolução da resistência de populações de *A. aegypti* ao Pyriproxifen (Sumilarv 0,5% G). Avaliou-se o estágio e fase de desenvolvimento mais suscetível ao produto submetendo-se amostras do vetor à concentração de 40µl i.a./litro em 400 ml de solução. A determinação das concentrações de inibição de emergência de adultos (IIE₅₀ e IIE₉₀) foi realizada a partir de testes de concentrações múltiplas que causaram inibição de emergência entre 5% e 99,9%. Como resultado teve-se que os índices de inibição de emergência de adultos (IIE) foram altos, variando de 89,6% (Alto Branco) a 95,3% (Cruzeiro) e média geral de 92,8%, não havendo diferença significativa entre as médias populacionais. Não foram observados indícios de alteração na suscetibilidade ou resistência ao pyriproxifen (Sumilarv® 40,0µl i.a./L) nas amostras de *A. aegypti* avaliadas. A análise de regressão linear mostrou uma correlação entre dose e mortalidade altamente significativa (F= 722,69; p < 0,01), onde ocorreu um aumento na mortalidade com o aumento da dose dentro do limite entre 5,0% e 99,9%, mostrando que não houve pressão de seleção suficiente para o desenvolvimento da resistência de *A. aegypti* ao produto.

Palavras chave: Inseto vetor, análogo do hormônio juvenil, inibição de Crescimento de insetos, suscetibilidade a inseticida.

INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é um mosquito de comportamento predominantemente urbano e antropofílico, com um papel de grande importância na ocorrência da dengue em suas diversas formas clínicas (BORGES et al. 2004). Está amplamente distribuído principalmente em regiões com infraestrutura deficiente, que favorecem o desenvolvimento e o estabelecimento deste vetor e, conseqüentemente, dos sorotipos virais por eles veiculados (BESERRA et al. 2010).

A utilização de inseticidas químicos ainda se constitui como a principal estratégia de controle do vetor, e por sua vez, a sua intensa aplicação tem contribuído para o desenvolvimento de populações resistentes do mosquito (MARTINS e SILVA, 2004). A utilização de inseticidas químicos além de ocasionar o desenvolvimento de resistência pelo *A. aegypti*, pode ainda desestabilizar os ecossistemas em que são administrados pelo fato de não ser um produto seletivo ao

vetor, o que afeta tanto organismos alvos quanto os não alvos do sistema de controle da dengue determinando diversos impactos ambientais.

Os reguladores de Crescimento (RCIs) são produtos de baixa diluição, o

que contribui para o aumento do poder residual na água tratada levando a maior persistência e melhor controle do vetor. A baixa solubilização contribui para a segurança dos produtos, já que a ingestão diária ficará abaixo da ingestão aceitável.

O regulador de Crescimento de Insetos (RCI), pyriproxyfen, é um produto de uso recomendado pela Organização Mundial de Saúde em água potável e possuem grande potencial de ação sobre populações de *Aedes aegypti*. Esse produto atua como análogo do hormônio juvenil, interferindo no sistema endócrino do vetor, provocando retardo em seu desenvolvimento e a sua morte.

O presente trabalho teve como objetivo monitorar a evolução da resistência de populações de *A. aegypti* ao Pyriproxyfen (Sumilarv 0,5% G) e

analisar os mecanismos de resistência envolvidos.

METODOLOGIA

Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi realizada com amostras de populações de *A. aegypti* coletadas no município de Campina Grande, em bairros com histórico de uso de Reguladores de Crescimento de Insetos (RCIs) e que apresentaram altos Índices de Infestação Predial (I.P.P.) de acordo com a

preconização da OMS (I.I.P entre 1 e 3,9% representa uma situação de alerta para a ocorrência de dengue; I.I.P>4% indica o risco direto de surto da doença).

Os bairros selecionados foram Cruzeiro na zona sul (I.I.P. = 3,7%), Bodocongó na zona oeste (I.I.P.= 4,0%), Nova Brasília na zona leste (I.I.P.= 5,6%) e Alto Branco zona norte (I.I.P.= 5,6%). I.I.Ps obtidos dos dados do Levantamento Rápido de Índices de Infestação por *A. aegypti* (LIRAA), da Secretaria Municipal de Saúde, publicado em 28 de maio de 2014.

Coletas de amostras das populações de *Aedes aegypti*

As coletas foram realizadas nos períodos entre 05 de maio e 19 de julho de 2014. Nas áreas de coleta foram instaladas 50 armadilhas para coleta de ovos (ovitrap) no intra e peridomicílio de residências escolhidas ao acaso, de forma a cobrir toda área ou bairro selecionado. Após quatro dias de instaladas as armadilhas foram recolhidas e as palhetas com os

ovos de *A. aegypti* levados ao laboratório para a criação, identificação da espécie, e realização dos bioensaios de laboratório.

Monitoramento da suscetibilidade de *Aedes aegypti*

A alteração da suscetibilidade ao pyriproxyfen (Sumilarv® 0,5 % G), Sumitomo Chemical do Brasil, registrado na ANVISA/Ministério da Saúde sob o número 3.2586.0009.001-1) e do estágio e fase de desenvolvimento mais suscetível ao produto foram avaliadas submetendo-se 25 amostras do vetor à concentração de 40µl i.a./litro em 400 ml de solução acondicionadas em copos de polietileno. Como controle foi utilizada água destilada contendo as larvas da linhagem suscetível de laboratório (Rockfeller).

Definição do estágio de desenvolvimento mais suscetível ao Pyriproxyfen (Sumilarv 0,5% G).

Para se avaliar o estágio de desenvolvimento mais suscetível ao

pyriproxifen, larvas (n= 25/ repetição) de início dos estágios L1, L2, L3 e L4 foram submetidas ao Sumilarv 0.5% G de acordo com o procedimento acima e permitido seu desenvolvimento até a emergência dos adultos.

Diariamente foram registradas as mortalidades das formas imaturas, larva e pupa, e a emergência de adultos. Após foram calculados os índices de inibição de emergência de adultos (IIE) e o percentual de mortalidade nas fases de larva, pupa e adulto, onde amostras populacionais cujo IIE < 80% a suscetibilidade foi considerada como alterada. Os dados de mortalidade em cada fase de desenvolvimento e dos IIEs (%) foram submetidos ao teste de homogeneidade de Cochran e Bartlett e de normalidade de Lilliefors e de Shapiro – Wilk. Análises de variâncias e o teste de Scott - Knott ($p < 0,05$) foram aplicados para se detectar diferenças significativas entre as médias de tratamentos através do software Assistat 7.7 Beta.

Determinação das concentrações de inibição de emergência de adultos (IIE₅₀ e IIE₉₀)

A determinação das concentrações de inibição de emergência de adultos (IIE₅₀ e IIE₉₀) foi realizada a partir de testes de concentrações múltiplas variando entre 10µl a 50 µl i.a./400 ml de solução que causaram inibição de emergência entre 5% e 99,9%.

Para se determinar as concentrações múltiplas utilizou-se como referência a concentração mínima de 10µl i.a./litro, preconizada pela Organização Mundial de Saúde para o controle do vetor (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os índices de inibição de emergência de adultos (IIE) foram altos, variando de 89,6% (amostra do Alto Branco) a 95,3% (amostra do Cruzeiro) e média geral de 92,8%, não havendo diferença significativa entre as médias populacionais (Figura 1).

Figura 1. Índice de inibição de emergência de adulto (IIE%) de amostras populacionais de *Aedes aegypti*. ns. Médias nas barras não diferem significativamente entre si pela análise de

variância (ANOVA) ($p < 0,01$; $F = 1,13$; $CV\% = 4,8$).

Não foram observados indícios de alteração na suscetibilidade ou resistência ao pyriproxyfen (Sumilarv® 40,0µl i.a./l) nas amostras de *A. aegypti* avaliadas. Observou-se maior mortalidade na fase de pupa, exceto para o controle (Rock/água) onde foi observada menor mortalidade na fase larval (Figura 2). A mortalidade por amostra populacional foi menor no controle, não ocorrendo diferenças significativas entre as demais populações (Tabela 1). Em geral a mortalidade média foi baixa em todas as amostras.

Figura 2. Mortalidade (%) de larva, pupa e adulto de *Aedes aegypti* submetido a 0,01mg i.a./litro do pyriproxifen (Sumilarv 0,5% G). A= Bodocongó; B= Cruzeiro; C= Nova Brasília; D= Linhagem Rockefeller (suscetível).

Tabela 1. Mortalidade ($X \pm EP$) de *Aedes aegypti* quando for aplicado 40µl de Sumilarv no estágio larval L4. Temperatura de 26 ± 2 °C, fotofase de 12 horas.

Médias seguidas de mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott- Knott ($p < 0,05$).

Independente do estágio de desenvolvimento (L1, L2, L3 e L4) em que foi aplicado o Sumilarv 0,5% G o IIE foi alto, não ocorrendo diferença significativa entre os estágios (Figura 3), com média

geral de 95,7%. Assim, percebe-se que, independente do estágio de desenvolvimento em que for aplicado o produto o IIE e, conseqüentemente a mortalidade, foram altos, atestando a eficiência do produto. Deve-se ressaltar que a mortalidade maior vai ocorrer sempre na fase de pupa.

Estágio (instar) de desenvolvimento

Figura 3. Índice de inibição de emergência de adulto (IIE%) após a aplicação do Sumilarv 0,5% G nos estágios L1, L2, L3 e L4 de *Aedes aegypti*. Médias nas barras não diferem significamente entre si pela análise de variância (ANOVA) ($p < 0,01$); $F = 0,41$; $CV\% = 5,2$).

A análise de regressão linear mostrou uma correlação entre dose e mortalidade altamente significativa ($F = 722,69$; $p < 0,01$), onde os coeficientes de correlação e de determinação explicam em 99,0% a equação de regressão linear. Ocorreu um aumento na mortalidade com o aumento da dose dentro do limite entre 5,0% e 99,9% (Figura 4A), o que é confirmado pelo teste de comparação de médias entre as doses aplicadas ($F = 144,18$; $p < 0,01$), onde se obteve maior mortalidade quando foi aplicado 50 µl i.a./l. As CL_{50} e CL_{90} e as IIE_{50} e IIE_{90} foram de respectivamente, 28,4 e 51,1 µl i.a./l e de 29,7 e 53,4 µl i.a./l. (Figura 4).

Figura 4. Gráfico de regressão linear entre concentração (μl) do pyriproxyfen (Sumilarv 0,5% G) e mortalidade (A) e índice de inibição de emergência de adulto (IIE%) (B) de *Aedes aegypti*.

CONCLUSÃO

O pyriproxyfen (Sumilarv 0,5 % G) devido sua baixa concentração de uso, pouco tempo de aplicação para o controle em campo e aos altos índices de mortalidade e de inibição de emergência de adulto (IIE) não causou pressão de seleção suficiente para o desenvolvimento da resistência de *A. aegypti* ao produto, mesmo em condições forçadas de laboratório sendo considerado um produto eficiente e uma ferramenta importante nos programas de controle do vetor.

REFERÊNCIAS

- BESERRA, E. B.; CASTRO-JÚNIOR, F. P.; SANTOS, J. W.; FERNANDES, C. R. M. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 6, p. 853- 860. 2006.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M de F. C.; CASTRO-PINTO, F. P. Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**. v. 36, n. 2. p.303- 307. 2007.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; SOUSA, J. T. et al. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, Londrina. v. 39, n. 6. p. 1016-1023. 2010
- BORGES, A. R.; CAVASIN, G. M.; SILVA, I. G.; ARRUDA, W.; OLIVEIRA, E. F. S.; SILVA, H. H. G.;
- MARTINS, F. Monitoramento e alterações morfológicas provocadas pela ação inibidora do Diflubenzuron na ecdise de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista de Patologia Tropical, Goiânia**. v. 33. n. 1. p. 91-104. 2004.
- BRAGA, I. M.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia Serviço Saúde**. v. 16. n. 4. p. 279-293. 2007.
- DINIZ, M. M. C. S. L. **Custo adaptativo associado à resistência de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós**. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB. 2008.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Edusp, 2002. 860p.

GAMBARRA, W. P. T.; MARTINS, W. F. S.; BESERRA, E.B.; ALBUQUERQUE, I. M. C.; APOLINÁRIO, O. K. A. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.46, n. 2. p. 178-184. 2013.

MARTINS, F.; SILVA, I. G. Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (L., 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 37. n. 2. p.135-138. 2004.

RUEDA, L.M. Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. **Zootaxa**. v. 589. p. 1-60. 2004.

SILVA, A. D. **Distribuição de populações de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) resistentes ao temefós, no município de Campina Grande-PB**. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diflubenzuron in drinking water: Use for vector control in drinking water sources and containers**. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. Geneva, Switzerland World Health Organization. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novaluron in drinking-water: Use for control vector in drinking-water sources containers**. Geneva, WHO Press. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers**. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva. 2008.