

# Susceptibilidade larval de populações de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos

## Larval susceptibility of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* populations to chemical insecticides

Jairo Campos e Carlos F S Andrade

Departamento de Zoologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brasil

### Descritores

*Aedes*. Larva. Inseticidas. Resistência a inseticidas. Inseticidas organofosforados. Controle de vetores. Controle de mosquitos.

### Resumo

#### Objetivo

Avaliar a susceptibilidade a inseticidas químicos de larvas de *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, provenientes de áreas sujeitas ou não a tratamentos de controle.

#### Métodos

Foram coletadas larvas de mosquitos em uma área não sujeita a tratamentos com inseticidas (Campinas, SP) e em áreas sujeitas a esses tratamentos (Campo Grande, MS e Cuiabá, MT). Foram usados bioensaios com concentrações diagnóstico e concentrações múltipla de inseticidas organofosforados e piretróides, segundo padrão da Organização Mundial de Saúde, para avaliar a susceptibilidade dessas larvas.

#### Resultados

Ensaio com larvas de *Culex quinquefasciatus* de Campinas, SP, permitiram a suspeita de resistência à cipermetrina e evidenciaram resistência à ciflutrina. Larvas dessa espécie coletadas em Campo Grande, MS, e Campinas, SP, apresentaram resistência ao temephos. Para a colônia campineira desta espécie, foram estabelecidas as razões de resistência:  $RR_{50}=6,36$  e  $RR_{95}=4,94$ , com base em linhagem susceptível padrão. Adicionalmente, os testes com *Aedes aegypti* mostraram susceptibilidade similar ao temephos em uma população de campo (Cuiabá, MT) e uma de laboratório.

#### Conclusões

Os resultados indicam resistência a organofosforado e piretróides em *Culex quinquefasciatus*, evidenciando a necessidade de avaliações e monitoramento da efetividade dos inseticidas a serem usados nos programas de controle de mosquitos.

### Keywords

*Aedes*. Larva. Insecticides. Insecticide resistance. Insecticides organophosphate. Vector control. Mosquito control.

### Abstract

#### Objective

To evaluate the susceptibility to chemical insecticides of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae from areas subjected to control treatments or not.

#### Methods

Bioassays for diagnostic concentration and multiple concentration were performed for organophosphate and pyrethroid insecticides according to World Health Organization parameters. The susceptibility was assessed for mosquito larvae collected from an area not subjected to chemical control (Campinas, State of São Paulo, SP) and from other areas (Campo Grande, Mato Grosso do Sul, MS, and

### Correspondência para/ Correspondence to:

Carlos F. S. Andrade  
Departamento de Zoologia  
Instituto de Biologia - Unicamp  
13084-971 Campinas, SP, Brasil  
E-mail: cfeandra@unicamp.br;  
jairocag@yahoo.com

Trabalho baseado em tese de doutorado, apresentado ao Instituto de Biologia da Unicamp, em 2002.  
Recebido em 22/8/2002. Reapresentado em 21/3/2003. Aprovado em 7/4/2003.

Cuiabá, Mato Grosso, MT), in Brazil, subjected to such treatments.

### Results

Tests for *Culex quinquefasciatus* larvae from Campinas, SP, allowed suspicion of resistance to cypermethrin and gave evidence of resistance to cyfluthrin. Larvae of this species collected in Campo Grande, MS, and Campinas, SP, presented resistance to temephos. For the colony from the latter locality, the following resistance rates were established:  $RR_{50}=6.36$  and  $RR_{95}=4.94$ , in relation to a standard susceptible strain. Moreover, tests for *Aedes aegypti* showed similar susceptibility to temephos for a field population from Cuiabá, MT, and a laboratory population.

### Conclusions

The results indicate resistance of *Culex quinquefasciatus* to organophosphate and pyrethroid insecticides and make evident the need for evaluation and monitoring of the efficiency of insecticides to be used in mosquito control programs.

## INTRODUÇÃO

As espécies sinantrópicas de mosquitos *Aedes aegypti* (Linn.) e *Culex quinquefasciatus* Say são de grande importância em Saúde Pública por estarem relacionadas, respectivamente, à transmissão da dengue e da filariose bancroftiana nas Américas. As recentes epidemias de dengue ocorridas no Brasil (1998, 2002) e a endemicidade da filariose constituem desafios administrativos e públicos no controle de mosquitos. No Brasil, já existe indicação de resistência em populações de *Cx quinquefasciatus*.<sup>2,9,12</sup> Por exemplo, em Fortaleza, capital do estado do Ceará, foi registrada resistência a organofosforados para *Cx. quinquefasciatus*.<sup>12</sup> Essa mesma espécie mostrou-se ainda resistente no Rio de Janeiro<sup>9</sup> e em São Paulo.<sup>2,3</sup> Segundo indicação da Organização Mundial da Saúde, a concentração diagnóstica de temephos para larvas de *Cx. quinquefasciatus* é de 0,002 ppm.<sup>13</sup> O presente trabalho avalia a susceptibilidade de populações de campo e de laboratório de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* a um organofosforado e dois piretróides usados no controle de mosquitos.

## MÉTODOS

As larvas de *Ae. aegypti* avaliadas provieram da colônia com quatro anos e meio, linhagem *Aea*-Unicamp (Departamento de Zoologia) e a F1 de material proveniente do Campus Universitário em Campinas, em maio de 2002, linhagem *Aea*-FEF. Para essa espécie, em Cuiabá, MT, foram avaliadas larvas parentais da linhagem *Aea*-Cuiabá, provenientes de ovos coletados em armadilhas pelo Centro de Controle de Zoonoses em 2000, Cuiabá, MT. Para as larvas de *Cx. quinquefasciatus* avaliadas, o material foi de coletas realizadas no Campus da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), em Campo Grande, MS, em maio de 1998, linhagem UFMS-R, e no Córrego Fundo, em Cuiabá, MT, em setembro de 2000, linhagem Cuiabá-R. Para *Cx. quinquefasciatus*, os locais

de coleta em Campo Grande e Cuiabá apresentaram histórico de controle com organofosforados. Para as avaliações de *Cx. quinquefasciatus* em Campinas, SP, utilizou-se material de coletas feitas no Campus Universitário em julho de 1999, linhagem UNI-R1, e em fevereiro de 2001, linhagem UNI-R2. Até aquela época, não haviam sido feitas aplicações de quaisquer produtos de controle no Campus. Como padrão de referência, foram usadas as linhagens Rockefeller de *Ae. aegypti*<sup>5</sup> e a linhagem IAL-S (Instituto Adolfo Lutz, São Paulo) de *Cx. quinquefasciatus*, originária de Iguape, SP, em 1983.<sup>3</sup>

Os inseticidas usados foram o organofosforado temephos (Abate 500E, Larvin 1G e Fersol 1G) e os piretróides cipermetrina (Ciper 250CE) e ciflutrina (Solfac 5CE). A partir de uma dissolução estoque à concentração de 100 ppm i.a. desses produtos em água, foram feitas diluições adicionais em água destilada para se chegar às concentrações de trabalho. Para o organofosforado temephos foram realizados testes de concentração diagnóstica (CD=0,012; 0,04 e 0,06 ppm i.a.) e teste de concentração múltipla (CM=0,00056 a 0,016 ppm i.a.). Para os piretróides, foram realizados testes de concentração diagnóstica para a cipermetrina (CD=0,0096) e de concentração múltipla para a ciflutrina (CM=0,00075 a 0,03) (Tabela 1). Para o temephos, foram estabelecidas as concentrações letais mediana ( $CL_{50}$ ) e as  $CL_{95}$  com larvas de *Ae. aegypti* (*Aea*-Uni e *Aea*-FEF) e *Cx. quinquefasciatus* (UNI-R2).

Os bioensaios foram feitos com larvas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, seguindo-se padrões previamente propostos.<sup>4,5,13</sup> Usaram-se grupos de 20 larvas ou mais de terceiro e/ou quarto estágio em copos descartáveis, com as soluções dos inseticidas para três ou mais repetições. A mortalidade final foi avaliada 24 horas após o contato com os inseticidas. Os valores selecionados dos dados foram submetidos à análise probit, usando-se o programa POLO-PC.<sup>10</sup> Foi verificado, então, o paralelismo nas respostas e as

razões de resistência (RR) foram calculadas para as  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$ , comparando-se os valores das linhagens padrão.

## RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta uma relação do material biológico utilizado e os resultados dos testes de susceptibilidade. Em ensaios com larvas parentais (linhagem UNI-R1) de *Cx. quinquefasciatus* coletadas em Campinas, SP, foi verificada baixa mortalidade (11%) a uma formulação comercial de cipermetrina (CD de 0,0096 ppm i.a.). Da mesma forma, houve resistência em larvas F2 (linhagem UNI-R2) para a concentração diagnóstico (CD=0,03 ppm i.a.) do piretróide ciflutrina. Larvas de *Cx. quinquefasciatus* apresentaram sobrevivência de 6,3 e 11,9% ao temephos (CD=0,04 ppm i.a.) na linhagem UFMS-R e de 5% (CD=0,012 ppm i.a.) na linhagem Cuiabá-R. Para larvas da colônia (UNI-R2) desta espécie em Campinas foi estabelecida uma  $CL_{50}$ =0,0076 ppm i.a. e uma

$CL_{95}$ =0,0144 ppm i.a. de temephos. Com base nos resultados da linhagem-padrão IAL-S, as razões de resistência foram de  $RR_{50}$ =6,36 e  $RR_{95}$ =4,94.

Avaliações para o temephos com a linhagem *Aea-Cuiabá* mostraram tolerância. Os testes realizados recentemente com larvas das linhagens *Aea-Unicamp* (colônia de 4,5 anos) e *Aea-FEF* (F1, de campo) de *Ae. aegypti* indicaram também tolerância ao temephos. Quando comparadas com a linhagem Rockefeller, as razões de resistência destas linhagens foram  $RR_{50}$ =1,67 e  $RR_{95}$ =1,85 para *Aea-Unicamp*,  $RR_{50}$ =1,92 e  $RR_{95}$ =1,83 para *Aea-FEF*; os coeficientes angulares (s) das linhas concentração-resposta foram  $4,8 \pm 0,6$  para *Aea-Unicamp*,  $5,9 \pm 0,7$  para *Aea-FEF* e  $5,5 \pm 0,6$  para Rockefeller (Tabela 2).

## DISCUSSÃO

O resultado do teste com cipermetrina em *Cx. quinquefasciatus* (UNI-R1) levantou suspeita de re-

**Tabela 1** - Linhagens de *Culex quinquefasciatus*, época dos ensaios e resultados das avaliações da susceptibilidade a inseticidas pelo uso de teste de concentrações diagnóstico ou teste de concentrações múltiplas.

Linhagem (Data)	Estádio	Tipo de Teste	Inseticida*	Concentrações ppm i.a.	Mortalidade (DP)** ou $CL_{\%}$ (ppb i.a.)
UFMS-R (maio/98)	3º	2X CD	TEM 500E	0,04	88,09 (14,87)%
	4º			0,045	93,71 (5,55)%
UNI-R1 (julho/99)	4º	CD	CIP 250CE	0,0096	11,17 (6,26)%
Cuiabá-R (set/00)	4º	CD	TEM 1G	0,012	95%
				0,024	100%
				0,06	100%
UNI-R2 (mar/01)	4º	CM	CYF 5CE	0,002 a 0,016	0,42 (0,8)% a 27,4 (12,3)%
UNI-R2 (mar/01)	4º	CM	CYF 5CE	0,012 a 0,03	12,3 (5,9)% a 47,5 (9,6)%
UNI-R2 (jun/02)	3º	CM	TEM 1G	0,004 a 0,016	$CL_{50}$ = 7,6 (6,7-9)***
	4º				$CL_{95}$ = 14,4(11,3-24,8)
IAL-S (jun/02)	3º	CM	TEM 1G	0,00056 a 0,004	$CL_{50}$ = 1,2 (0,9-1,5)
	4º				$CL_{95}$ = 2,9 (2,1-5,6)

CD: Concentração diagnóstico.

CM: Concentrações Múltiplas.

\*TEM = temephos, CIP = cipermetrina, CYF= ciflutrina.

\*\* (DP) desvio padrão.

\*\*\* (Intervalo de Confiança 95% da  $CL_{\%}$ ).

**Tabela 2** - Linhagens de *Aedes aegypti*, época dos ensaios e resultados das avaliações da susceptibilidade a inseticidas pelo uso de concentrações diagnóstico ou testes de concentrações múltiplas.

Linhagem (Data)	Estádio	Tipo de Teste	Inseticida*	Concentrações ppm i.a.	Mortalidade (DP)** ou $CL_{\%}$ (ppb i.a.)
Cuiabá (set/00)	3º	CD	TEM 1G	0,012	100%
				0,024	100%
Rockefeller (set/00)	3º	CD	TEM 1G	0,012	100%
				0,024	100%
Rockefeller (mar/01)	3º	CM	CYF 5CE	0,0005 a 0,004	4,3 (0,9)% a 96,1 (3,9)%
	4º				
Rockefeller (mar/01)	3º	CM	CYF 5CE	0,00075 a 0,006	12,8 (7,9)% a 100%
	4º				
Unicamp (jun/02)	3º	CM	TEM 1G	0,005 a 0,02	$CL_{50}$ = 9,8 (8,6-11)***
	4º				$CL_{95}$ = 21,7 (18,1-28,8)
FEF (jun/02)	3º	CM	TEM 1G	0,005 a 0,02	$CL_{50}$ = 11,3 (8,8-14,9)
	4º				$CL_{95}$ = 21,4 (15,8-48,3)
Rockefeller (jun/02)	3º	CM	TEM 1G	0,0025 a 0,01	$CL_{50}$ = 5,9 (4,9-6,9)
	4º				$CL_{95}$ = 11,7 (9,3-18)

\*TEM= temephos, CIP= cipermetrina. CYF= ciflutrina.

\*\* (DP) desvio padrão.

\*\*\* (Intervalo de Confiança 95% da  $CL_{\%}$ ).

sistência para esta linhagem. Considerou-se para isso que registros de letalidade com cipermetrina para essa espécie são maiores em concentrações menores:  $CL_{50}=0,0016$  ppm i.a. para larvas de uma linhagem susceptível e  $CL_{50}=0,004$  ppm i.a. para uma linhagem parental com resistência, em populações cubanas;<sup>1</sup> e registro de uma  $CL_{50}=0,003$  e uma  $CL_{90}=0,01\pm 0,006$  ppm i.a. deste piretróide para uma colônia resistente de *Cx. quinquefasciatus*, no Rio de Janeiro, quando comparada com a  $CL_{50}=0,0008$  da linhagem de referência.<sup>9</sup>

Para o piretróide ciflutrina, poucos registros de testes são conhecidos com mosquitos. Uma RR de valor 4 pela  $CL_{50}$  em larvas de *Ae. aegypti* da Venezuela foi registrada quando comparada com a linhagem padrão Rockefeller<sup>8</sup> indicando aumento das esterases como mecanismo envolvido na resistência aos piretróides na linhagem avaliada. Provas de susceptibilidade para este inseticida, em *Cx. quinquefasciatus* da Venezuela, não registraram resistência.<sup>11</sup> Nossas provas preliminares em *Cx. quinquefasciatus* (UNI-R2) indicaram resistência ao produto quando comparadas com a linhagem Rockefeller de *Ae. Aegypti*. Em geral, a sensibilidade aos inseticidas em linhagens padrão é maior para *Cx. quinquefasciatus* do que para *Ae. aegypti* (Cutkomp & Subramanyam,<sup>7</sup> 1986; WHO,<sup>13</sup> 1992), e se comparado com as  $CL_{50}$  da ciflutrina e da cipermetrina em *Ae. aegypti* (Campos & Andrade,<sup>5</sup> 2001) e de cipermetrina e outros piretróides em *Cx. quinquefasciatus*.<sup>19</sup> Da mesma forma, os resultados das avaliações com a linhagem UNI-R2 de *Cx. quinquefasciatus* indicaram resistência baixa ( $RR_{99}<5$ ) ao temephos quando comparada com a linhagem susceptível IAL-S ( $CL_{95}=0,0029$  ppm i.a.). A dose diagnóstico de temephos usada para *Cx. quinquefasciatus* em Campo Grande foi 20 vezes superior àquela recomendada pela WHO,<sup>13</sup> e 13,8 vezes superior à  $CL_{95}$  da IAL-S. Portanto, a sobrevivência indica real resistência da população ao inseticida. Já para as larvas de *Cx. quinquefasciatus*, em Cuiabá, foi encontrada resistência baixa a esse inseticida. Quando comparados os resultados de Cuiabá com os obtidos para a linhagem padrão de *Cx. quinquefasciatus* (IAL) em Campinas, *a priori* teríamos uma  $RR_{95}\cong 4$ .

Embora no presente trabalho não tenha sido identificado o mecanismo metabólico envolvido na resistência aos organofosforados, já foi registrada elevação das esterases em populações brasileiras de *Cx. quinquefasciatus*.<sup>3,12</sup> Têm sido observados marcadores cromossômicos de amplificação dos genes de esterases, associados à resistência aos organofosforados nas linhagens UNI-R1 e UNI-R2 (Campos et al<sup>6</sup>). Assim, as estratégias de controle de *Cx. quinquefasciatus*

com organofosforados e piretróides em Campinas, Campo Grande e Cuiabá devem monitorar previamente sua eficiência. O desenvolvimento de resistência nessas populações pode estar associado ao uso indiscriminado de inseticidas nos ambientes domiciliar e agrícola, além dos tratamentos específicos em Campo Grande e Cuiabá.

Os resultados das avaliações com o temephos em larvas de *Ae. aegypti* de Cuiabá, MT, não mostraram resistência quando comparadas com a linhagem padrão Rockefeller. O monitoramento das populações de laboratório (4 anos após) e campo de *Ae. Aegypti*, em Campinas, não mostraram a resistência registrada em 1998 à  $CD=0,04$  ppm i.a. (Campos & Andrade,<sup>5</sup> 2001). Em função das pequenas diferenças, entre as duas populações, nas respostas ao temephos e da sobreposição dos intervalos de confiança, pode-se considerar que não há diferença entre as concentrações letais das linhagens. Logo, a susceptibilidade ao temephos 1G em *Ae. aegypti* não estaria comprometida, pelo menos para uso, se necessário, em pontos não estratégicos, como os avaliados em Campo Grande, Campinas e Cuiabá. Avaliações dos produtos comerciais são viáveis e devem ser uma prática no monitoramento.

Os resultados obtidos para as áreas sujeitas (Campo Grande e Cuiabá) ou não (Campinas) a tratamentos com inseticidas evidenciaram resistência baixa a estes produtos em *Cx. quinquefasciatus* e susceptibilidade em *Ae. aegypti*. Desta forma, quando populações de campo são avaliadas e comparadas a populações padrão, as mudanças na resposta aos inseticidas ( $CL_{50}$  e  $CL_{95}$ ) da ordem de até três vezes nas razões de resistência podem ser consideradas como tolerância; de 3 a 5 vezes, resistência baixa; de 5 a 10, moderada; de 10 a 20, média e acima de 20, uma resistência alta. Tal conhecimento pode ajudar no planejamento adequado do manejo da resistência e nas estratégias de controle a serem aplicadas em cada ponto, sem comprometer a eficiência dos produtos.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, à Universidade Estadual de Campinas e ao Centro de Controle de Zoonoses (Cuiabá, MT), pela permissão de uso de suas instalações e laboratórios. Ao médico veterinário Gerson Blatt e aos biólogos Leny Bezerra da Costa e Benedito Oscar Fernandes de Campos do Centro de Controle de Zoonoses (Cuiabá, MT), pela colaboração nas avaliações dos testes. Ao professor Délsio Natal da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, por colocar a disposição a linhagem IAL.

## REFERÊNCIAS

1. Bisset J, Rodríguez M, Soca A. Cross-resistance to malathion in Cuba *Culex quinquefasciatus* induced by larval selection with deltamethrin. *Med Vet Entomol* 1998;12:109-12.
2. Bracco JE, Dalbon M, Marinotti O, Barata JMS. Resistência a inseticidas organofosforados e carbamatos em população de *Culex quinquefasciatus*. *Rev Saúde Pública* 1997;31:182-3.
3. Bracco JE, Barata, JMS, Marinotti O. Evaluation of insecticide resistance in a population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:115-20.
4. Brown AWA. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. *J Am Mosq Control Assoc* 1986;2:123-40.
5. Campos J, Andrade CFS. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. *Rev Saúde Pública* 2001;35:232-6.
6. Campos J, Andrade CFS, Recco Pimentel SM. Malpighian tubule polytene chromosomes of *Culex quinquefasciatus* (Diptera, Culicinae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98:383-386.
7. Cutkomp LK, Subramanyam B. Toxicity of pyrethroids to *Aedes aegypti* larvae in relation to temperature. *J Am Mosq Control Assoc* 1986;3:347-9.
8. Fernández DM, Rodríguez M, Bisset J, Perez E. Identification of esterase resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from Carabobo State, Venezuela in Summaries of Mosquito Vector Control and Biology in Latin America - a Ninth Symposium, St. Louis, MO, February 1999. *J Am Mosq Control Assoc* 1999;15:421.
9. González T, Bisset JA, Díaz C, Rodríguez MM, Brandolini MB. Insecticide resistance in a *Culex quinquefasciatus* strain from Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:121-2.
10. LeOra Software. *Polo-PC, probit or logit analysis*. Berkeley (CA); 1987.
11. Reyes-Lugo M, Neus M. Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera: Culicidae) from Zulia State, Venezuela. *Rev Cient-Fac Cienc Veter* 2000;10:441-7.
12. Yébakima A, Yp-Tcha MM, Reiter P, Bisset J, Delay B, Chevillon C, Pasteur N. Detoxifying esterases in *Culex pipiens quinquefasciatus* from the caribbean countries. *J Am Mosq Control Assoc* 1995;11:363-6.
13. World Health Organization. *Vector resistance to pesticides*. Geneva; 1992. (WHO - Technical Report)