








Estudo experimental sobre a ação de larvicidas em populações de *Aedes aegypti* do município de Itabuna, Bahia, em condições simuladas de campo*

doi: 10.5123/S1679-49742019000100004

Experimental study on the action of larvicides in *Aedes aegypti* populations collected in the Brazilian municipality of Itabuna, Bahia, under simulated field conditions

Estudio experimental sobre la acción de larvicidas en poblaciones de *Aedes aegypti* del municipio brasileño de Itabuna, BA, en condiciones simuladas de campo

Eduardo Oyama Lins Fonseca¹ –  orcid.org/0000-0001-8919-9041
Maria de Lourdes da Graça Macoris² –  orcid.org/0000-0001-6527-8829
Roberto Fonseca dos Santos³ –  orcid.org/0000-0003-3861-9055
Daniela Gonçalves Morato⁴ –  orcid.org/0000-0002-7686-939X
Maria Dulcinéia Sales Santa Isabel⁵ –  orcid.org/0000-0001-9449-9209
Natali Alexandrino Cerqueira³ –  orcid.org/0000-0002-0018-3922
Adriano Figueiredo Monte-Alegre¹ –  orcid.org/0000-0003-0225-4613

¹Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Salvador, BA, Brasil

²Laboratório de Entomologia Aplicada, Superintendência de Controle de Endemias, Marília, SP, Brasil

³Laboratório Central de Saúde Pública, Laboratório de Entomologia, Salvador, BA, Brasil

⁴Secretaria da Educação do Estado da Bahia, Escola Estadual Alfredo Magalhães, Salvador, BA, Brasil

⁵Secretaria da Educação do Estado da Bahia, Colégio Estadual Profa. Maria de Lourdes P. Franch, Salvador, BA, Brasil

Resumo

Objetivo: avaliar, em condições simuladas de campo, a eficácia do pyriproxyfen (hormônio juvenil), do novaluron (inibidor de quitina) e do spinosad (biolarvicida) no controle do *Aedes aegypti*. **Métodos:** exposição periódica de larvas de *Ae. aegypti* obtidas em Itabuna a recipientes tratados com os larvicidas, e comparação do efeito residual do tratamento com cepa Rockefeller. **Resultados:** o efeito inibitório na emergência de adultos, após 60 dias, foi de 89,5% spinosad, 96,5% novaluron e 75,4% pyriproxifen para larvas de Itabuna, não havendo diferença estatística ($p=0,412$) entre os tratamentos; spinosad e novaluron apresentaram maior percentual de mortalidade na fase larval, 98,8% e 97,9% respectivamente; pyriproxifen apresentou mortalidade maior na fase pupal, 95,1%. **Conclusão:** os três larvicidas apresentaram controle semelhante; no entanto, o pyriproxifen pode deixar a falsa impressão de positividade dos criadouros, por agir em fase pupal, comprometendo os indicadores de infestação que são parâmetros estratégicos para as ações de controle.

Palavras-chave: Aedes; Infecções por Arbovirus; Controle; Larvicidas.

*Artigo derivado de monografia intitulada 'Avaliação da efetividade de larvicidas para o controle de *Aedes aegypti* em condições simuladas de campo', apresentada por Eduardo Oyama Lins Fonseca junto ao Curso de Biotecnologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, em 2017.

Endereço para correspondência:

Eduardo Oyama Lins Fonseca – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Av. Reitor Miguel Calmon, S/N, Vale do Canela, sala 115, 1º andar, Salvador, BA, Brasil. CEP: 40110-902
E-mail: eduoyama@gmail.com



Introdução

Em vários países do mundo, as chamadas arboviroses têm sido motivo de grande preocupação para a Saúde Pública. No Brasil, além dos quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV) circulantes, a população está sob o risco de infecção pelo vírus chikungunya (CHIKV), vírus Zika (ZIKV) e vírus da febre amarela (VFA), este último capaz de acometer indivíduos não imunizados.¹

*Fundamentalmente, as ações de controle do *Ae. aegypti* são dirigidas às formas imaturas (larvas e pupas), utilizando-se de larvicidas com a finalidade de reduzir os índices de infestação.*

Segundo boletim do Ministério da Saúde, em 2017 foram registrados no país 249.056 casos suspeitos de dengue. A região Nordeste apresentou o maior número de casos prováveis – 86.110 –, em relação ao total do país.² Do total de municípios da Bahia, 277 (66,4%) notificaram 9.736 casos suspeitos de dengue, dos quais 515 foram registrados pelo município de Itabuna.³

O controle da incidência das referidas arboviroses baseia-se naquele que é o único elo vulnerável de sua cadeia de transmissão: os mosquitos vetores. Entre os vetores envolvidos na transmissão, a espécie de maior relevância é o *Aedes aegypti*, que apresenta ciclo de vida holometabólico com imaturos aquáticos e adultos alados.⁴ Fundamentalmente, as ações de controle do *Ae. aegypti* são dirigidas às formas imaturas (larvas e pupas), utilizando-se de larvicidas com a finalidade de reduzir os índices de infestação.⁵ A escolha dos tipos de inseticidas utilizados deriva, principalmente, da identificação de populações de *Ae. aegypti* resistentes a produtos inseticidas.⁶ Desta forma, torna-se de grande importância o monitoramento da suscetibilidade do *Ae. aegypti* aos novos larvicidas, para diagnosticar precocemente populações resistentes e garantir a eficácia desses produtos no controle vetorial.

A partir de 1999, no Brasil, iniciou-se o monitoramento da suscetibilidade do *Ae. aegypti* a distintos produtos inseticidas.⁵ Os testes eram realizados pela Rede Nacional de Monitoramento da Resistência do *Ae. aegypti* a inseticidas (MoReNa), responsável por avaliar a resistência desse vetor aos produtos químicos

utilizados em seu controle. Os resultados do trabalho da rede, bem como estudos isolados, mostraram que o temefós (organofosforado), produto que vinha sendo adotado há mais de 30 anos no país, passou a apresentar, a partir de 1998, baixa eficácia no combate ao *Ae. aegypti* em diversos municípios brasileiros.⁵⁻⁷ Estes achados levaram o Ministério da Saúde a interromper o uso de organofosforados, uma vez que a aquisição de inseticidas para uso no controle da malária, dengue, Zika e chikungunya é atribuição da esfera federal.⁸ Assim, o temefós foi substituído pelos chamados ‘inseticidas alternativos’, pertencentes, principalmente, aos grupos dos inseticidas biológicos e dos reguladores de crescimento.⁵ Em Itabuna, por exemplo, o temefós foi substituído por inibidores de síntese de quitina, inicialmente o diflubenzuron, de 2012 até final de 2013. Ao longo de 2014, foi adotado o novaluron (inibidor de síntese de quitina), e de 2015 até o presente momento, tem-se utilizado o pyriproxyfen,⁹ um análogo de hormônio juvenil, que atua sobre o desenvolvimento dos insetos inibindo a emergência dos adultos.⁵

Apesar das substituições dos produtos, as taxas de incidência da dengue continuaram elevadas no município de Itabuna.³ Equipes de vigilância locais relataram, por exemplo, a ocorrência de larvas vivas pós-tratamento com o pyriproxyfen.⁹ Diante desse panorama, a Diretoria de Vigilância Epidemiológica do Estado da Bahia (DIVEP/BA), juntamente com o Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz (Lacen/BA), identificou a necessidade de se avaliar a efetividade dos larvicidas utilizados na rotina do Programa Nacional de Controle da Dengue.

O presente estudo surgiu com o objetivo de avaliar, em condições simuladas de campo, a eficácia do pyriproxyfen (hormônio juvenil), novaluron (inibidor de quitina) e spinosad (biolarvicida) no controle do *Ae. aegypti*.

Métodos

Trata-se de um estudo experimental simulando condições de campo. Para avaliar a ação dos larvicidas, foram utilizados exemplares de *Ae. aegypti* obtidos a partir de amostragem de ovos na área urbana do município baiano de Itabuna. Para os controles, foram utilizados ovos oriundos de linhagens suscetíveis (Rockefeller) de *Ae. aegypti*, fornecidos pelo Center for Disease Control and Prevention de Porto

Rico, Estados Unidos. Os testes foram realizados entre agosto e outubro de 2015, nas instalações do Lacen, Salvador/BA.

Itabuna possui 61.555 domicílios e uma população residente de 199.643 pessoas, distribuídas em 57 bairros.¹⁰ A área de estudo foi dividida geograficamente, em 20 quadrantes, cada quadrante abrangendo em média dois bairros, onde foram selecionados aleatoriamente quatro imóveis. Em cada um dos imóveis sorteados foi instalada uma ovitrapa com três palhetas, adaptando a metodologia proposta pela Rede MoReNa, da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde.¹¹ A instalação das armadilhas ocorreu no mês de julho e as coletas das palhetas foram realizadas semanalmente, durante três meses, entre julho e setembro de 2015.

As palhetas retiradas das armadilhas eram acondicionadas individualmente, em recipientes plásticos, para secagem. Os ovos de *Ae. aegypti* presentes nas palhetas eram contados por estereoscópio, pela equipe do Núcleo Regional de Saúde Sul-Base Itabuna; quinzenalmente, as palhetas positivas eram enviadas ao Lacen/BA, onde ficavam armazenadas até o início dos testes. O período de armazenamento dos ovos, desde o início da coleta até a realização dos testes, variou de 30 a 60 dias.

Uma semana antes do início de cada exposição (teste), as palhetas selecionadas eram submersas em copo plástico (500mL) com água de torneira. As larvas eclodidas eram transferidas para bandejas plásticas,

alimentadas com ração de peixe (Tetramin®), sob temperatura de 25°C, até atingirem a fase L3. Ao final, 600 larvas, oriundas de todos os 20 quadrantes, eram mantidas para compor o lote de exposição aos produtos (Tabela 1) seguindo as doses e concentrações recomendadas pelos fabricantes¹² (Tabela 2). O total de 600 larvas foi oriundo do número de 30 larvas por quadrante, designado como valor de corte, uma vez que, em um dos quadrantes, o número máximo de larvas que eclodiram foi de 30.

Das 600 larvas mantidas em cada fase de pré-exposição, 100 eram separadas aleatoriamente para identificação da espécie. Das 500 larvas restantes, 360 eram selecionadas de modo aleatório para os testes, tendo sido compostos 12 grupos, cada um com 30 larvas de *Ae. aegypti*. Cada grupo era colocado em um balde plástico com capacidade de 30 litros, somando-se nove baldes para os grupos-teste (triplicata para cada larvicida) e três baldes-controle (1 para cada grupo-teste). O procedimento de seleção e identificação das larvas foi repetido a cada 15 dias, com novas larvas L3 para cada exposição.

Os recipientes foram mantidos em ambiente sombreado, tratados e identificados com o nome dos produtos e distribuídos em galpão coberto, na área externa do Laboratório de Entomologia.

Os baldes foram preenchidos com 24 litros de água proveniente da rede de abastecimento local. Adicionaram-se, também, os larvicidas-teste e fez-se a exposição

Tabela 1 – Larvicidas testados (e suas especificações: fabricante, nome comercial, formulação, lote e recomendação para uso em água potável) no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, 2015

Larvicida	Fabricante	Nome comercial	Formulação	Lote	Recomendação para uso em água potável
Novaluron ^a	Bayer	Mosquiron Ready 5 ME®	Microemulsão	2012-12-2600	Não (uso somente na formulação CE 0,01mg/L)
Pyriproxifen ^b	Sumitomo	Sumilarv®	Grânulos	4946F4	Sim
Spinosad ^c	Clarke	Natular DT®	Comprimidos	1408260010	Sim

a) Novaluron: inibidor da síntese da quitina – Lote usado: 2012.

b) Pyriproxifen: análogo do hormônio juvenil.

c) Spinosad: biolarvicida.

Tabela 2 – Dose e concentração recomendadas pelo fabricante dos larvicidas testados no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, 2015

Nome comercial	Concentração	Dose
Mosquiron Ready 5 ME®	0,50%	0,01mg/L
Sumilarv®	0,50%	0,01mg/L
Natular DT®	7,48%	1 comprimido: 1,35g para 1 a 200L

direta das larvas. No momento da exposição, em cada um dos recipientes foi adicionado 0,5g de ração de peixe (Tetramin®) para servir de alimento às larvas. A fim de simular as condições de campo, duas vezes por semana, ocorria troca de água em cada um dos baldes, retirando-se e repondo-se 1/3 do volume do recipiente. Semanalmente, era realizada leitura de temperatura e pH da água. Os recipientes permaneceram tampados com uma malha de *nylon*, para impedir a entrada de insetos e eventuais detritos durante todo o período experimental.

Após a exposição, a primeira leitura foi realizada em 48 horas, entendendo-se por leitura a quantificação das larvas e pupas, vivas ou mortas. As larvas e pupas mortas eram retiradas, e aquelas com estruturas morfológicas preservadas eram identificadas, sendo as informações lançadas em boletim específico.

Após a primeira leitura, a cada 24 horas uma nova leitura era realizada e as pupas vivas eram transferidas para um copo plástico com tampa, contendo água do recipiente de origem. Os copos eram identificados com o código do tambor de origem, data da leitura e quantidade de pupas, enumerados sequencialmente; em seguida, eram encaminhados ao laboratório para verificação da emergência de adultos, identificação de espécie e sexo.

Os experimentos foram realizados de modo pareado, para a população de Itabuna e para as linhagens Rockefeller.

Finalizada a emergência dos adultos nos recipientes não tratados (controle), as observações eram imediatamente encerradas nos recipientes tratados, sendo computados os números de larvas e pupas vivas e inibidas/mortas em todos os recipientes.

O efeito larvicida dos produtos foi analisado calculando-se a inibição da emergência de insetos adultos, utilizando-se como parâmetro o percentual de emergência do grupo-controle. Foi calculado o percentual médio de inibição, considerando-se, para a média, todos os valores obtidos nas réplicas dos recipientes para um mesmo larvicida.

No cálculo de inibição da emergência, aplicou-se a seguinte fórmula:

$$\% IE = 100 - (100 \times \% ET / \% EC)$$

Onde:

% IE = percentual de inibição de emergência

% EC = percentual de emergência nos recipientes-controle

% ET = percentual de emergência nos recipientes tratados

Os testes foram repetidos a cada 15 dias, com novas larvas L3. As avaliações quinzenais persistiram por 60 dias, simulando o intervalo entre as visitas domiciliares realizadas pelos agentes, período previsto para que o efeito letal do larvicida seja superior a 80%.¹³

Os percentuais de mortalidade e de inibição de emergência no controle serviram de parâmetros para a validação dos ensaios, de acordo com o critério adotado pelo método de Abbott, segundo o qual uma mortalidade superior a 20,0% seria indicativa de manipulação dos testes e, por conseguinte, de sua inviabilização. Mortalidades entre 5,0 e 19,9% nos recipientes-controle foram indicativos de correção da mortalidade observada nos recipientes tratados pela fórmula de Abbott.¹⁴

$$Abbott = 100 \times \frac{(\% E - \% C)}{(100 - \% C)}$$

Onde:

% C = percentual de mortalidade nos recipientes-controle

% E = percentual de mortalidade nos recipientes tratados (expostos)

Para aferir diferenças de efetividade e persistência entre as formulações testadas nas populações de *Ae. aegypti* (Itabuna e Rockefeller), em condições simuladas, foi realizada análise de variância (ANOVA)¹⁵ com o auxílio do *software* estatístico Prism (GraphPad Software, Inc., 1999). Para a aplicação das análises, os valores de percentual de inibição da emergência foram convertidos em valores de arco seno.¹³ Também foi comparada a resposta da população de Itabuna com a obtida da Rockefeller para cada larvicida, pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis, com uso do programa GraphPad Prism 3.0, sendo considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$ (nível de significância de 95%).¹⁶

No intuito de estimar o número de dias pós-tratamento para se obter um nível de controle igual ou superior a 80% em cada tratamento, foi utilizado o pacote estatístico Polo-PC,¹⁷ a partir dos dados de inibição de emergência, por tempo de exposição.

Resultados

Ao longo do estudo, 100,0% das formas adultas e imaturas analisadas aleatoriamente foram da espécie *Ae. aegypti*, totalizando 500 larvas e 295 adultos identificados.

Nos ensaios, a temperatura e o pH não sofreram grande oscilação, tanto para os recipientes tratados como para os não tratados. A temperatura variou entre 29,5 e 31,2°C; e o pH, entre 7,1 e 7,6.

O parâmetro de validação do ensaio mostrou que a mortalidade nos recipientes não tratados foi menor que 20,0% em todas as semanas de exposição. Houve, entretanto, a necessidade de correção da mortalidade (fórmula de Abbott) das formas larvais não tratadas para a primeira exposição (1º dia) na população de Itabuna, na qual foi observado percentual de mortalidade de 16,7%, e para a última exposição (60º dia) na linhagem Rockefeller, que apresentou percentual de mortalidade igual a 13,3 (Tabela 3).

As exposições que ocorreram entre 1 e 60 dias mostram uma variação na mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* nos recipientes não tratados: de 0,0 a 13,3% para a linhagem Rockefeller, e de 0,0 a 16,7% para a amostra de Itabuna. Em relação às pupas provenientes dos recipientes não tratados, a mortalidade variou de 0,0 a 8,4% para a linhagem Rockefeller e de 0,0 a 1,6% para a população de Itabuna. Quanto ao percentual de emergência de insetos adultos nos recipientes não tratados, houve uma variação de 78,3 a 97,8% para Rockefeller e de 81,7 a 100,0% para Itabuna (Tabela 3).

Os três produtos avaliados, Mosquiron Ready 5 ME® (novaluron), Sumilarv® (pyriproxyfen) e Natular DT® (spinosad), aplicados nas doses recomendadas pelos fabricantes em condições de campo simulado, foram eficazes na inibição da emergência dos adultos de *Ae. aegypti*. Para o larvicida Sumilarv® (população de Itabuna), foi estimado que, no 57º dia

(intervalo de confiança [IC]: 52;64), a inibição na emergência de adultos foi de 80,0%; para os demais tratamentos, o percentual de inibição de emergência variou de 89,5 a 100,0% ao longo dos 60 dias (Tabela 4), não tendo sido observada diferença estatística significativa na ação dos três larvicidas (tratamentos) para a linhagem Rockefeller ($p=0,451$), ou na ação desses produtos sobre a população de Itabuna ($p=0,412$); tampouco houve diferença significativa entre a população de *Ae. aegypti* de Itabuna e a linhagem Rockefeller ($p<0,05$).

Para os produtos Natular DT® e Mosquiron®, a mortalidade em ambas as populações estudadas (Rockefeller e Itabuna) ocorreu, predominantemente, no estágio de larva. Em relação à população de Itabuna, observou-se que o Natular DT® e o Mosquiron® apresentaram percentual de mortalidade na fase larval de 98,8% e 97,9%, respectivamente, enquanto para a linhagem Rockefeller, a mortalidade na fase de larva foi de 99,7% para o Natular DT® e de 100,0% para o Mosquiron®. Para o produto Sumilarv®, a mortalidade foi maior na fase de pupa, em ambas as populações (Tabela 5).

Discussão

Os três larvicidas testados neste trabalho mostraram-se eficazes no controle de *Ae. aegypti*. Entretanto, uma evidência em relação ao pyriproxifen deve ser considerada: o produto age, quase exclusivamente, na fase pupal do inseto. Esta particularidade deve significar um alerta para o Ministério da Saúde, no sentido de a instituição repensar a utilização do pyriproxifen

Tabela 3 – Percentual de mortalidade das formas imaturas e emergência de insetos *Aedes aegypti* (cepa Rockefeller; e obtida de Itabuna) adultos nos recipientes não tratados no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, 2015

Exposição (em dias)	Recipientes não tratados					
	Percentual de mortalidade larval		Percentual de mortalidade de pupa		Percentual de emergência de adultos	
	Rockefeller ^a	Itabuna ^b	Rockefeller ^a	Itabuna ^b	Rockefeller ^a	Itabuna ^b
1	5,0	16,7	0,0	1,6	95,0	81,7
15	2,2	3,3	0,0	0,0	97,8	96,7
30	0,0	3,3	3,3	0,0	96,7	96,7
45	1,7	0,0	1,6	0,0	96,7	100,0
60	13,3	5,0	8,4	0,0	78,3	95,0

a) Ovos oriundos de cepas susceptíveis (Rockefeller) de *Ae. aegypti* fornecidos pelo Center for Disease Control and Prevention de Porto Rico, Estados Unidos.
b) Amostra de ovos obtidos na área urbana do município de Itabuna/BA.

Tabela 4 – Percentual médio de morte/inibição da emergência de *Aedes aegypti* adultos (cepa Rockefeller; e obtida de Itabuna), pós-tratamento (em dias) com os larvicidas alternativos no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, 2015

Exposição (em dias)	Percentuais médios de morte/inibição da emergência de insetos adultos (%)					
	Rockefeller ^a			Itabuna ^b		
	Natular [®]	Mosquiron [®]	Sumilarv [®]	Natular [®]	Mosquiron [®]	Sumilarv [®]
1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	97,9
15	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
30	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
45	100,0	100,0	100,0	95,0	100,0	95,0
60	99,9	100,0	95,7	89,5	96,5	75,4

a) Ovos oriundos de cepas susceptíveis (Rockefeller) de *Ae. aegypti* fornecidos pelo Center for Disease Control and Prevention de Porto Rico, Estados Unidos.

b) Amostra de ovos obtidos na área urbana do município de Itabuna/BA.

Tabela 5 – Percentual da mortalidade para as formas imaturas do *Aedes aegypti* (cepa Rockefeller; e obtida de Itabuna) de acordo com ação dos larvicidas testados no Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, 2015

População	Natular DT [®]		Mosquiron [®]		Sumilarv [®]	
	Larva %	Pupa %	Larva %	Pupa %	Larva %	Pupa %
Rockefeller ^a	99,7	0,3	100,0	0,0	2,1	97,9
Itabuna ^b	98,8	1,3	97,9	2,1	4,9	95,1

a) Ovos oriundos de cepas susceptíveis (Rockefeller) de *Ae. aegypti* fornecidos pelo Center for Disease Control and Prevention de Porto Rico, Estados Unidos.

b) Amostra de ovos obtidos na área urbana do município de Itabuna/BA.

como larvicida para o controle da espécie, uma vez que as ações de combate ao vetor adotam a fase larval do inseto como indicador de infestação. Além disso, o uso continuado e indiscriminado de inseticidas em concentrações não adequadas tem provocado a seleção de populações de insetos vetores resistentes, causando dificuldades para o controle da transmissão de patógenos.¹⁸ Vários estudos têm demonstrado a resistência de populações de *Ae. aegypti* a inseticidas, dificultando o controle das arboviroses.^{7,9,10}

A amostra representativa de ovos de *Ae. aegypti* coletados no município de Itabuna, e a regularidade dos parâmetros de temperatura e pH ao longo dos testes de exposição, contribuíram para as análises e consistência dos resultados. O parâmetro de validação do ensaio mostrou que a mortalidade nos recipientes não tratados foi inferior a 20% em todas as semanas de exposição, demonstrando condições adequadas de manutenção dos experimentos. Isto porque, de acordo com o critério proposto pelo método de Abbott, mortalidade de larvas superior a 20% é um resultado indicativo de manipulação do teste e, como

decorrência, de sua inviabilização. O percentual de mortalidades entre 5,0 e 19,9 nos recipientes-controle é indicativo de correção, segundo o mesmo método. No presente estudo, em apenas duas condições para larvas em recipientes não tratados, no 1º e aos 60 dias, da linhagem Rockefeller e da população de Itabuna respectivamente, houve a necessidade de realizar a correção pelo método de Abbott.

A eficácia dos três produtos alternativos – Mosquiron Ready 5 ME[®], Sumilarv[®] e Natular DT[®] –, sem diferença estatística entre eles (p=0,412) para o controle do *Ae. aegypti*, confirma resultados de outros estudos.¹⁹⁻²² O achado é importante: os três larvicidas alternativos testados estão presentes na lista de produtos passíveis de serem adquiridos pela Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde, enquanto alternativas a outros inseticidas químicos utilizados pelos programas de controle de doenças de transmissão vetorial, que, dada sua toxicidade, podem afetar organismos não alvos e o meio ambiente.

Os resultados obtidos mostraram que os larvicidas testados apresentaram um efeito residual adequado.

Esta informação pode ser útil para estudos adicionais em campo, pois é possível que as condições dos testes (local sombreado, recipiente de plástico) tenham contribuído para a não degradação e biodisponibilidade do produto.²³

O efeito residual do pyriproxyfen (Sumilary®), do novaluron (Mosquiron Ready 5 ME®) e do spinosad (Nattular DT®) declinou entre 45 e 60 dias. Neste estudo, o efeito residual do pyriproxyfen declinou a partir de 45 dias, sendo condizente com o observado por autores em Minas Gerais.²² Do mesmo modo, os efeitos residuais do Mosquiron Ready 5 ME® e do Nattular DT® obtidos assemelham-se aos achados de outros estudos, segundo os quais a eficácia dos larvicidas teve a duração de 6 a 8 semanas.^{20,21}

Nas populações Rockfeller e Itabuna, a ação do pyriproxyfen ocorreu notadamente na fase de pupa, com mortalidade de 97,9% e 95,1%, respectivamente, enquanto a mortalidade das larvas foi de 2,1% e 4,9%. O impedimento de emergência do *Aedes* adulto, provocado pelo pyriproxyfen, tem como mecanismo de ação a inibição do desenvolvimento de características do inseto adulto (asas, maturação dos órgãos reprodutivos e genitália externa),²⁴ agindo quase que exclusivamente em fase pupal. Resultado similar foi encontrado por Braga et al. (2005), em seu estudo realizado em laboratório, onde observaram uma mortalidade maior de pupas de *Ae. aegypti*.¹⁹

Os resultados obtidos neste trabalho, mediante simulação das condições de campo, apresentam suas limitações. Seria valioso aprofundar estas análises com um trabalho desenvolvido diretamente no campo. Fatores bióticos e abióticos podem influenciar no desenvolvimento do ciclo biológico do inseto: por exemplo, sabe-se que competição larval intra e interespecífica, ou variações atmosféricas como tem-

peratura, pluviosidade e luminosidade, podem flutuar no campo de tal maneira que sua reprodutibilidade não seja integralmente alcançada pelos experimentos de simulação.²⁵ No sentido de minimizar essas limitações, ao longo do estudo, foram realizadas trocas de água, para simular as chuvas e/ou sistemas de abastecimento de água; também foram mantidas a periodicidade de luz (dia e noite) e a temperatura ambiente.

Embora torne as pupas inviáveis para se transformarem em adultos alados, o pyriproxyfen permite uma falsa impressão de positividade nos recipientes tratados, pois as larvas, ao permanecerem vivas, podem sugerir índices equivocados de infestação do *Ae. aegypti*, comprometendo o direcionamento das ações de controle: no Brasil, as taxas de infestação de *Ae. aegypti* são medidas por índices larvários.

Este estudo conclui que os produtos testados são eficazes para o controle de *Ae. aegypti*. Não obstante, seus autores recomendam o uso preferencial de larvicidas que atuem notadamente na fase larval, que seu efeito residual acompanhe o período do ciclo de visitas dos agentes, que não acarretem dificuldade operacional e tenham baixo impacto ambiental.

Contribuição dos autores

Fonseca EOL, Macoris MLG e Monte-Alegre AF contribuíram na concepção e delineamento do estudo, análise e interpretação dos resultados, redação e revisão crítica do conteúdo do manuscrito. Dos Santos RF, Morato DG, Dos Santos MDS e Cerqueira NA contribuíram na concepção do estudo, redação e revisão crítica do conteúdo do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito e são responsáveis por todos os seus aspectos, incluindo a garantia de sua precisão e integridade.

Referências

1. Donalisio MR, Freitas ARR, Von Zuben APB. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. Rev Saúde Pública [Internet]. 2017 mar [citado 2018 dez 4];51:30. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51/pt_0034-8910-rsp-S1518-87872017051006889.pdf. doi: 10.1590/S1518-8787.2017051006889
2. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 50. Bol Epidemiológico [Internet]. 2017 [citado 2018 dez 4];48(45). Disponível em: <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/10/2017-046-Publicacao.pdf>
3. Secretaria de Saúde (Bahia). Diretoria de Vigilância Epidemiológica do Estado da Bahia. Situação epidemiológica das arboviroses na Bahia: 2015-2016. Bol Epidemiológico [Internet]. 2016 jan [citado 2018 dez 4];12. Disponível em: <http://www.blogdogusmao>.

- com.br/v1/wp-content/uploads/2016/02/Boletim-epidemiológico-nº-12-dengue_chikungunya_zika.pdf
- Tauil PL. O desafio do controle do *Aedes aegypti* e da assistência adequada ao dengue. *Epidemiol Serv Saúde* [Internet]. 2007 jul-set [citado 2018 dez 4];16(3):153-4. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000300001. doi: 10.5123/S1679-49742007000300001
 - Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* [Internet]. 2007 out-dez [citado 2018 dez 4];16(4):295-302. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742007000400007. doi: 10.5123/S1679-49742007000400007
 - Insecticide Resistance Action Committee. Prevention and management of insecticide resistance in vectors of public health importance [Internet]. 2nd ed. 2011 [cited 2018 Dec 4]. 72 p. Available in: http://www.irac-online.org/content/uploads/VM-layout-v2.6_LR.pdf
 - Belinato DF, Viana-Medeiros PF, Araújo SC, Martins AJ, Lima JBP, Valle D. Resistance status to the insecticides temephos, deltamethrin, and diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* populations. *BioMed Res Int* [Internet]. 2016 [cited 2018 Dec 4];2016:1-12. Available in: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/8603263/cta/>. doi: 10.1155/2016/8603263
 - Brasil. Ministério da Saúde (MS). Portaria MS/GM nº 1.378, de 9 de julho de 2013. Regulamenta as responsabilidades e define diretrizes para execução e financiamento das ações de Vigilância em Saúde pela União, Estados, Distrito Federal e Municípios, relativos ao Sistema Nacional de Vigilância em Saúde e Sistema Nacional de Vigilância Sanitária [Internet]. *Diário Oficial da União, Brasília (DF)*, 2013 jul 10 [citado 2018 dez 4]; Seção 1:48. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2013/prt1378_09_07_2013.html
 - Secretaria Municipal de Saúde (Itabuna). Programa municipal de controle de dengue. Equipe de educação em saúde. Relatório das atividades PMCD 2015. Itabuna: Secretaria Municipal de Saúde; 2015.
 - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010. Informações completas [Internet]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2018 [citado 2018 dez 4]. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=291480&search=bahialitabuna%20infograficos%20informacoes%20completas>
 - Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Rede nacional de monitoramento da resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas (MoReNAa): metodologia de amostragem. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
 - World Health Organization. WHOPEs-recommended compounds and formulations for control of mosquito larvae [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 [updated 2017 Jul 28; cited 2013 Oct 25]. Available in: http://www.who.int/whopes/Mosquito_Larvicides_25_Oct_2013.pdf
 - World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2005 [cited 2018 Dec 4]. 44 p. Available in: https://www.who.int/whopes/resources/who_cds_whopes_gcdpp_2005.13/en/
 - Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. *J Am Mosq Control Assoc* [Internet]. 1987 Jun [cited 2018 Dec 4];3(2):302-3. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3333059>
 - Kruskal WH. A nonparametric test for the several sample problem. *Annals of Mathematical Statistics* [Internet]. 1952 Dec [cited 2018 Dec 4];23(4):535-40. Available in: <https://www.jstor.org/stable/2236578>
 - Graphpad Prism 1999. User's guide version 3.0: the fast, organized way to analyze and graph scientific data. San Diego. Available in: <http://www.graphpad.com>
 - Polo PC: probit or logit analysis [computer program]. Berkeley: LeOra Software; 1987.
 - Gambarra WPT, Martins WFS, Lucena Filho MLL, Albuquerque IMC, Apolinário OKS, Beserra EB. Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos. *Rev Soc Bra Med Trop* [Internet]. 2013 mar-abr [citado 2018 dez 4];46(2):178-84. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822013000200178&lng=en. doi: 10.1590/0037-8682-1727-2013
 - Braga IA, Mello CB, Peixoto AA, Valle D. Evaluation of methoprene effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) development in laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2005 Jul [cited 2018 Dec 4];100(4):435-40. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16113894>

20. Fontoura NG, Bellinato DE, Valle D, Lima, JBP. The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2012 May [cited 2018 Dec 4];107(3):387-95. Available in: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000300014. doi: 10.1590/S0074-02762012000300014
21. Marina CE, Bond G, Muñoz J, Valle J, Chirino N, Williams T. Spinosad: a biorational mosquito larvicide for use in car tires in southern Mexico. Parasit Vectors [Internet]. 2012 May [cited 2018 Dec 4];5:95. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22608138>. doi: 10.1186/1756-3305-5-95
22. Resende MC, Gama RA. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti*. Rev Soc Bras Med Trop [Internet]. 2006 jan-fev [citado 2018 dez 4];39(1):72-5. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822006000100014. doi: 10.1590/S0037-86822006000100014
23. Garcia Neto LJ. Efeito residual do Diflubenzuron sobre larvas de *Aedes aegypti* em condições simuladas de campo, no laboratório [dissertação]. Fortaleza (CE): Universidade Estadual do Ceará; 2011.
24. Chena CD, Andy-Tana WA, Lokea SR, Lee HL, Yasmin AR, Sofian-Azirun M. Effectiveness of pyriproxyfen-controlled release block against larvae of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* in Kuala Lumpur, Malaysia. Dengue Bull [Internet]. 2008 [cited 2018 Dec 4];32:199-206. Available in: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/170713/db2008v32p199.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
25. Oliveira S, Villela DAM, Dias FBS, Moreira LA, Maciel de Freitas R. How does competition among wild type mosquitoes influence the performance of *Aedes aegypti* and dissemination of *Wolbachia pipiensis*? PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2017 Oct [cited 2018 Dec 4];11(10):e0005947. Available in: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005947>. doi: 10.1371/journal.pntd.0005947

Abstract

Objective: to evaluate, under simulated field conditions, the efficacy of pyriproxyfen (juvenile hormone), novaluron (chitin inhibitor) and spinosad (biolarvicide) in controlling *Aedes aegypti*. **Methods:** periodic exposition of *Ae. aegypti* larvae collected in Itabuna, BA, Brazil, to recipients treated with larvicides and comparison of residual effect of treatment with the Rockefeller strain. **Results:** the inhibitory effect on adult emergence after 60 days was spinosad 89.5%, novaluron 96.5% and pyriproxyfen 75.4% for Itabuna larvae, with no statistical difference ($p=0.412$) between treatments; spinosad and novaluron had a higher percentage of mortality in the larval stage, 98.8% and 97.9% respectively; pyriproxyfen showed higher mortality (95.1%) in the pupal stage. **Conclusion:** the three larvicides demonstrated similar control; however, pyriproxyfen might give a false impression of breeding ground positivity as it acts at the pupal stage, compromising the indicators of infestation that are strategic parameters for control actions.

Keywords: *Aedes*; Arbovirus Infections; Control; Larvicides.

Resumen

Objetivo: evaluar en condiciones simuladas de campo la eficacia del piriproxifén (hormona juvenil), novaluron (inhibidor de quitina) y spinosad (biolarvicide) en el control del *Ae. Aegypti*. **Métodos:** exposición periódica de larvas obtenidas de Itabuna, BA, Brasil, a recipientes tratados con larvicide y comparación del efecto residual con cepa Rockefeller. **Resultados:** el efecto inhibidor en la emergencia de adultos, después de 60 días, fue de 89,5% spinosad, 96,5% novaluron y 75,4% piriproxifén para larvas de Itabuna, no habiendo diferencia estadística ($p=0,412$) entre los tratamientos; spinosad y novaluron presentaron mayor mortalidad en la fase larval, 98,8% y 97,9% respectivamente; piriproxifén presentó mayor mortalidad en la fase de pupa, 95,1%. **Conclusión:** los tres larvicidas fueron eficaces en el control de larvas de *Ae. Aegypti*; sin embargo, piriproxifén puede dejar falsa positividad de los criaderos, por actuar en fase de pupa, comprometiendo los indicadores de infestación, parámetros estratégicos para las acciones de control.

Palabras clave: *Aedes*; Infecciones por Arbovirus; Control; Larvicidas.

Recebido em 24/04/2018
Aprovado em 12/10/2018