

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS

**EDNILSON LOPES DA SILVA**

**Avaliação da susceptibilidade e resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) ao inseticida Natular™ (Espinosade) e aos inseticidas Temephos, Malathion e Alfacipermetrina utilizados nos municípios de Maracaju, Dourados e Naviraí, MS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
AMBIENTAL**

**DOURADOS-MS  
OUTUBRO/2012**

**EDNILSON LOPES DA SILVA**

**Avaliação da susceptibilidade e resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) ao inseticida Natular™ (Espinosade) e aos inseticidas Temephos, Malathion e Alfacipermetrina utilizados nos municípios de Maracaju, Dourados e Naviraí, MS**

Orientador: Dr. Eduardo José de Arruda  
Co-Orientador: Dr. Carlos Fernando Salgueirosa  
de Andrade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia e Ambiental na área de concentração de Tecnologia Ambiental.

**DOURADOS-MS  
OUTUBRO/2012**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD**

614.571      Silva, Ednilson Lopes da.  
S586a              Avaliação da susceptibilidade e resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) ao inseticida Natular™ (Espinodade) e aos inseticidas Temephos, Malathion e Alfacipermetrina utilizados nos municípios de Maracaju, Dourados e Naviraí, MS / Ednilson Lopes da Silva – Dourados, MS : UFGD, 2012.  
54 f.

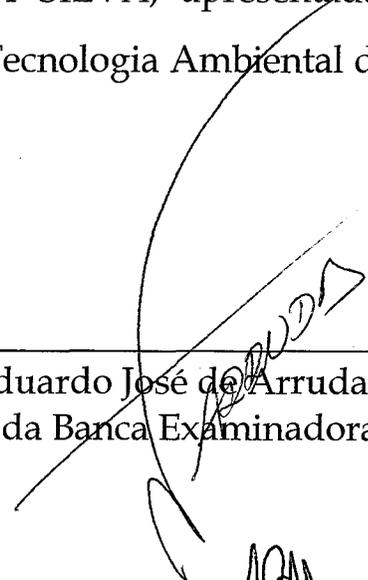
Orientador: Prof. Dr. Eduardo José de Arruda.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Dengue – Mato Grosso do Sul. 2. Dengue – Prevenção. 3. *Aedes aegypti*. 4. Inseticida. 5. Bioensaios.  
I. Título.

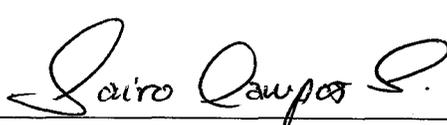


## TERMO DE APROVAÇÃO

Após apresentação, argüição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO para a dissertação intitulada: **"Avaliação de Susceptibilidade e Resistência do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) aos inseticidas nos Municípios de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS"**, de autoria de EDNILSON LOPES DA SILVA, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eduardo José de Arruda (Orientador- UFGD)  
Presidente da Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antônio Pancrário de Souza (UFMS)  
Membro Examinador

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jairo Campos Gaona (UFGD)  
Membro Examinador

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre me apoiaram na conquista dos meus sonhos e não pouparam esforços para garantir que eu chegasse ao final desta etapa de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida e por ter me dado sabedoria, ter-me feito perseverante e colocado em meu caminho pessoas como vocês...

Ao Prof. Dr. Eduardo José de Arruda, pela orientação na realização deste trabalho, pela confiança depositada e por todo incentivo ao longo do mestrado.

Ao Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade e sua equipe do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP pela colaboração e pelos treinamentos ministrados, para que todos os bioensaios fossem possíveis.

A bióloga MSc. Magda Freitas Fernandes pelas discussões, atenção e dedicação a mim dispensadas nas coletas e treinamentos, o meu muito obrigado por compartilhar sua experiência e conhecimentos durante o mestrado.

A Faculdade de Ciências exatas e Tecnológicas (FACET), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), pela oportunidade de realização desse trabalho de pesquisa.

As colegas de turma, Tatiane Zaratini Teixeira e Cintia Granzotti da Silva Scudeler pela colaboração durante as coletas e nos bioensaios de toxicidade realizados.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida para que eu pudesse me dedicar a este trabalho.

A Divisão de Transporte da UFGD, na pessoa do Sr. Carlos Paulino Ramos e aos motoristas que dirigiram para a execução do trabalho de campo no município de Dourados, MS.

A minha turma de mestrado que dividimos momentos felizes e contribuímos cada um para o crescimento do outro, levo um pouco de cada um de vocês comigo.

... Enfim, agradeço a todos que puderam de alguma forma colaborar para o êxito deste trabalho, mas que não foram citados.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Maracaju de 2007 a 2012.....	18
Tabela 2. Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Dourados de 2007 a 2012.....	19
Tabela 3. Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Naviraí de 2007 a 2012.....	20
Tabela 4. Susceptibilidade de amostras populacionais de larvas de <i>Ae. aegypti</i> de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos, para a concentração diagnóstica de 0,008 mg/L, para 4 repetições de 30 indivíduos.....	32
Tabela 5. Susceptibilidade de amostras populacionais de <i>Ae. aegypti</i> de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos (0,012 mg/L) .....	33
Tabela 6. Comparação da Susceptibilidade de amostras populacionais de <i>Ae. aegypti</i> de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos nas gerações F1 (0,008 mg/L) e F2 (0,012 mg/L). .....	34
Tabela 7. Média de número de indivíduos e desvio padrão (DP) para a mortalidade em larvas de 3 <sup>o</sup> e 4 <sup>o</sup> estádios de <i>Ae. aegypti</i> para 3 populações do Mato Grosso do Sul e para 4 avaliações após a aplicação da concentração de 0,012 mg/L do produto Temephos (organofosforado).....	36
Tabela 8. Mortalidade média (%) de larvas de <i>Ae. aegypti</i> (linhagem susceptível) expostas ao produto Natular DT (pastilha) em 4 caixas d'água.....	38
Tabela 9. Mortalidade média (%) de larvas de <i>Ae. aegypti</i> (linhagem susceptível) expostas por 24 ou 48 h ao produto Natular DT (pastilha) em cano de PVC 200 mm para 3 efeitos residuais em dias (d). O primeiro ponto representa o orifício onde foi feita a aplicação da pastilha.....	38
Tabela 10. Avaliação da susceptibilidade de amostras populacionais de adultos de <i>Ae. aegypti</i> de Dourados ao Malathion, organofosforado (292 mg i.a./m <sup>2</sup> ) e de Maracaju e Naviraí à Alfacipermetrina, piretróide (36,5 mg i.a./m <sup>2</sup> ):.....	40

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do levantamento do índice de infestação nos estados brasileiros. ...	03
Figura 2. Imagem da incidência de dengue por 100.000 habitantes segundo município de residência, Mato Grosso do Sul, 2011. ....	06
Figura 3. Gráfico de casos notificados de dengue por semana epidemiológica em Mato Grosso do Sul nos anos de 2011 e 2012. ....	07
Figura 4. Incidência de dengue por 100.000 habitantes segundo município de residência até a semana 12 em Mato Grosso do Sul, 2012. ....	08
Figura 5. Armadilha de oviposição (modificada) utilizada na coleta de ovos de <i>Ae. aegypti</i> . ....	21
Figura 6. Distribuição dos pontos de coleta no município de Maracaju. ....	22
Figura 7. Distribuição dos pontos de coleta no município de Naviraí. ....	22
Figura 8. Distribuição dos pontos de coleta no município de Dourados. ....	23
Figura 9. Recipiente plástico para eclosão das larvas. ....	25
Figura 10. Recipientes plásticos onde foram realizados os bioensaios de toxicidade. .	25
Figura 11. Forma das garrafas plásticas utilizadas no teste com Natular EC. ....	27
Figura 12. Tubo PVC de 200mm utilizado para os testes com Natular DT (pastilha representada em vermelho, na abertura número 1). ....	28
Figura 13. Caixa d'água utilizada nos testes com Natular DT. (pastilha representada em vermelho). ....	29
Figura 14. Gaiolas construídas de armação de alumínio e acrílico, usadas na criação dos mosquitos. ....	30
Figura 15. Tubo padronizados para avaliação de inseticidas em mosquitos adultos. ....	31

## RESUMO

A dengue é classificada em escala mundial entre as mais importantes doenças infecciosas, sendo a arbovirose de maior incidência no mundo. O vírus é transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti*. Os inseticidas ainda figuram como importante ferramenta nos programas de controle do mosquito, porém a estratégia encontra-se ameaçada pelo desenvolvimento de populações resistentes aos piretróides e organofosforados. Nos bioensaios realizados com larvas da geração F<sub>1</sub> de *Ae. aegypti* ao Temephos sob concentração diagnóstica de 0,008 mg/L, a amostra populacional de Maracaju apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 16,7% e 4,99, respectivamente. A amostra de Dourados apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 73,3% e 3,40, respectivamente e para a amostra de Naviraí obteve-se média de mortalidade e desvio padrão de 46,6% e 1,00, respectivamente, após 24 h de exposição. Testes estatísticos comprovaram que os municípios diferiram entre si neste bioensaio. As amostras populacionais da geração F<sub>2</sub> foram expostas à concentração diagnóstica recomendada pela OMS para o Temephos (0,012 mg/L), onde a amostra populacional de *Ae. aegypti* de Maracaju-MS apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 23,7% e 0,95, respectivamente. A amostra de Dourados apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 78,7% e 1,70 respectivamente e Naviraí apresentou uma média e desvio padrão de 67,5% e 1,00, após 24 h de exposição ao inseticida, sendo que o tempo efetivo de toxicidade do produto iniciou-se após 8 h de exposição. Os testes efetuados, segundo a OMS, sugerem uma alteração na susceptibilidade indicando a necessidade de verificação com bioensaios de concentrações múltiplas para estas populações para a determinação da razão de resistência. Os municípios não diferiram entre si neste bioensaio. Nos dois bioensaios a linhagem susceptível (Rockefeller, CDC) apresentou 100% de mortalidade, validando os testes. Comparando os bioensaios das gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, percebe-se que em ambas as concentrações as amostras populacionais se mostraram com baixa mortalidade, confirmando a suspeita de resistência destas populações. Foram também realizados bioensaios com o inseticida Natular EC aplicado em spray sobre linhagens susceptíveis de larvas em garrafas plásticas de três formas diferentes. O Natular DT em pastilha foi

aplicado em caixas d'água e também em um cano de PVC de 200 mm, todos com 200 litros de água. Os resultados para Natular EC mostraram que as larvas das garrafas cortadas tanto longitudinalmente como verticalmente apresentaram 100% de mortalidade. Entre as larvas das garrafas não cortadas, onde o produto entrou pela área do orifício da tampa houve uma mortalidade média 47,02%. Discute-se que do ponto de vista operacional, é necessário uma maior aproximação do recipiente ou um aumento no tempo de aspersão. O experimento comprovou a eficácia do produto e a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti* ao ingrediente ativo. Nos bioensaios realizados nas caixas d'água, não se registrou mortalidade nas testemunhas, validando assim o teste. Percebeu-se a eficiência do produto e uma proporcionalidade na porcentagem de mortalidade das larvas, com 2, 30 e 60 dias após o tratamento, porém, o efeito residual esperado e indicado pelo fabricante não foi alcançado. Para o cano de PVC, a avaliação após 2 dias mostrou a eficiência do produto, porém, este teste também demonstra uma proporcionalidade na mortalidade e no efeito residual do produto com 2 dias e 60 dias. Seu efeito residual aos 60 dias foi baixo, assim, a forma e o ponto de aplicação da pastilha devem ser melhor avaliados. Nos Bioensaios com adultos da geração F<sub>2</sub>, foram utilizados papéis impregnados de acordo com protocolo da OMS. Verificou-se a resposta das amostras populacionais de adultos de *Ae. aegypti* de Maracaju, Dourados e Naviraí expostas aos seguintes inseticidas e respectivas concentrações: Alfacipermetrina, piretróide (36,5 mg i.a./m<sup>2</sup>) para Maracaju e Naviraí; Malathion, organofosforado (292 mg i.a./m<sup>2</sup>) para Dourados, conforme OMS. Para a população de Maracaju as amostras demonstraram uma média e desvio padrão de 96,4% (2,92) de mortalidade e a população de Naviraí apresentou média e desvio padrão de 98% (3,45) de mortalidade, ambas expostas à Alfacipermetrina. Na população de Dourados, exposta ao Malathion, as amostras mostraram uma média e desvio padrão de 94% (4,24) de mortalidade. A linhagem susceptível apresentou 100% de mortalidade, validando este bioensaio. Os resultados demonstram uma amostra populacional (Naviraí) susceptível ao inseticida testado, porém foi verificada a suspeita de resistência para os municípios de Maracaju e Dourados. Não houve diferenças entre os três municípios neste bioensaio. Em todos os testes apresentados, foram utilizados de 20 a 30 indivíduos em cada repetição. A avaliação do impacto dos inseticidas sobre

a susceptibilidade da população ajuda a compreender seu papel no desenvolvimento da resistência e também ajuda na escolha de um produto mais eficiente. A contribuição ambiental desta pesquisa foca na toxicidade dos químicos e em sua eficiência. Os resultados indicam a necessidade urgente do monitoramento destas populações e adoção de estratégias preventivas que possam diminuir a seleção de resistência dos insetos. Também sugerem mais estudos sobre o Natular como um produto promissor no controle do *Ae. aegypti*, pois os resultados sugerem desenvolvimento de resistência aos inseticidas sintéticos nas populações testadas.

**Palavras-chave:** dengue, vetores, inseticidas.

## ABSTRACT

Dengue is ranked among the most globally important infectious diseases, with a higher incidence of arbovirus in the world. The virus is transmitted by the bite of the mosquito *Aedes aegypti*. Insecticides is still listed as an important tool in mosquito control programs, but the strategy is threatened by the development of populations resistant to pyrethroids and organophosphates. In bioassays conducted with larvae of the F<sub>1</sub> generation of *Ae.aegypti* to temephos in Diagnostic Concentration of 0.008 mg/L, the sample population of Maracaju had respective average of mortality and standard deviation 16.7% (4.99), the sample of Dourados presented as average and standard deviation of 73.3% (3.40) and the sample of Naviraí was obtained average and standard deviation of 46.6% (1) for mortality after 24 h of exposure. Statistical tests showed that the municipalities have differed in this bioassay. Samples of the F<sub>2</sub> population were exposed to the concentration recommended by WHO Diagnostic for Temephos (0.012 mg/L), where the sample population of *Ae. aegypti* Maracaju-MS showed respective average and standard deviation of 23.7% (0.95) mortality, the sample showed Dourados average and standard deviation of 78.7% (1.70) and Naviraí had an average and standard deviation of 67.5% (1) after 24 h exposure to the insecticide, and the effective time toxicity of the product began after 8 h of exposure. The tests presented according to the WHO, suggest a change in susceptibility indicating the need to check with multiple concentrations of bioassays for these populations to determine the resistance reason. The municipalities did not differed in this bioassay. In both bioassays the susceptible lineage (Rockefeller, CDC) showed 100% mortality, validating the tests. Comparing the F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub>, it is clear that in both concentrations, the population samples showed low mortality, confirming the suspicion of resistance of these populations. The Bioassays were also conducted with the insecticide being sprayed Natular EC lineages on susceptible larvae in plastic bottles in three different ways. The Natular DT pellet(tablet) was applied in water tanks and in a PVC pipe of 200 mm, each one with 200 liters of water. The results for EC Natular larvae showed that both cylinders cut longitudinally and vertically were 100% of mortality. Among larvae the cylinders not cut, where the product penetrated by the orifice area of the lid, the average mortality was

47.02%. It is argued that the operational point of view, it is necessary to move closer towards the container and an increase in the time of sprinkling. The experiment proved the effectiveness of the product and the susceptibility of *Ae. aegypti* to the active ingredient. In bioassays performed on water tanks, there was no mortality in witnesses, thus, validating the test. It was noticed that the product's efficiency and a proportionality in a mortality rate of larvae at 2, 30 and 60 days after treatment, however, the residual effect expected and indicated by the manufacturer was not reached. For the PVC pipe, the evaluation after 2 days showed the efficiency of the product, however, this test also shows a proportionality in the mortality and the residual effect of the product with 2 days and 60 days. Its residual effect in 60 days was low, thus the shape and point of application of the tablet should be better evaluated. In bioassays with adults of the F<sub>2</sub> generation, impregnated papers were used according to WHO guidelines. The responses of adults populations samples were checked of *Ae. aegypti* from Maracaju, Dourados and Naviraí exposed to the insecticides and their following concentrations: Alphacypermethrin, pyrethroid (36.5 mg ia/m<sup>2</sup>) for Maracaju and Naviraí, Malathion, organophosphorus (292 mg ia/m<sup>2</sup>) for Dourados, as WHO. For the people of Maracaju samples showed an average and standard deviation of 96.4% (2.92) mortality and the population of Naviraí had an average and standard deviation of 98% (3.45) mortality, both exposed to Alphacypermethrin. The population of Dourados, exposed to Malathion, the samples showed an average and standard deviation of 94% (4.24) mortality. The susceptible lineage showed 100% mortality, validating this bioassay. The results show a population sample (Naviraí) susceptible to the insecticide tested, but was checked a suspected resistance to the towns of Maracaju and Dourados. There were no differences between the three municipalities in bioassay. In all the tests presented were used 20-30 individuals in each repetition. The evaluation of the impact of insecticides on the susceptibility of the population helps to understand their role in the development of resistance and also helps in choosing a product more efficient. The environmental contribution of this research focuses on the toxicity of chemicals and their efficiency. The results indicate the urgent need for monitoring these populations and adoption of preventive strategies that can reduce the selection of insect resistance. They also suggest further studies on the Natular as a promising product in

*Ae. aegypti*, because the results suggest the development of resistance to synthetic insecticides in the tested populations.

**Key-words:** dengue, vectors, insecticides.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VIII
1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	1
1.1 A DENGUE NO BRASIL E NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL .	1
1.2 MATO GROSSO DO SUL .....	4
1.3 <i>Aedes Aegypti</i> , CRIADOUROS, MEDIDAS DE CONTROLE E TRABALHO SOCIAL .....	9
1.4 INSETICIDAS – MODOS DE AÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE DO INSETO .....	13
2 METODOLOGIA .....	17
2.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MUNICÍPIOS ENVOLVIDOS NA PESQUISA	17
2.1.1 Município de Maracaju-MS .....	18
2.1.2 Município de Dourados-MS .....	18
2.1.3 Município de Naviraí-MS .....	19
2.2 COLETA DE OVOS DE <i>AE. AEGYPTI</i> NOS MUNICÍPIOS .....	20
2.3 BIOENSAIOS DE TOXICIDADE COM LARVAS DE <i>AE. AEGYPTI</i> (DIPTERA: CULICIDAE).....	23
2.3.1 Ensaio biológico com Organofosforado Temephos.....	24
2.3.2 Ensaio biológico com Natular™ (Espinósade) .....	26
2.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS COM INSETOS ADULTOS DE <i>AE. AEGYPTI</i> (DIPTERA: CULICIDAE).....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
3.1 AVALIAÇÃO DE SUSCEPTIBILIDADE DE <i>AE. AEGYPTI</i> NA FASE DE LARVA AO TEMEPHOS.....	31
3.2 AVALIAÇÃO DE SUSCEPTIBILIDADE DE <i>AE. AEGYPTI</i> NA FASE DE LARVA AO NATULAR™ (ESPINOSADE) .....	37
3.2.1 Natular™ (EC).....	37
3.2.2 Natular™ (DT) .....	37

3.3 BIOENSAIOS COM ADULTOS DE <i>AE. AEGYPTI</i> .....	39
4 CONCLUSÕES .....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

# 1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## 1.1 A DENGUE NO BRASIL E NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL

A dengue é a arbovirose de maior incidência no mundo; presente em todos os continentes, exceto na Europa (CLARO *et al.*, 2004). É uma doença infecciosa aguda e seu agente etiológico é um vírus pertencente à família *Flaviridae*, de genoma de RNA, o qual se expressa em quatro sorotipos (DEN 1 a 4), que podem ocorrer simultaneamente. O vírus é transmitido pela picada do *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762), que possui hábitos diurnos. A dengue qualifica-se como uma enfermidade característica de países onde as condições do ambiente, urbanas e o estilo de vida favorecem o desenvolvimento dos insetos vetores. A dengue pode ser transmitida por espécies de mosquitos do gênero *Aedes*, sendo, entretanto, o *Ae. aegypti* o principal vetor da doença (DEGALLIER, 2001; ROCHA e TAUILL, 2009).

A infecção pode ser causada por qualquer um dos quatro sorotipos, protegendo o indivíduo de forma permanente para o sorotipo infectante e conferindo imunidade parcial e/ou temporária aos outros três sorotipos (desde que o vírus não sofra mutação). O amplo espectro clínico inclui formas subclínicas, não graves e graves. Depois do período de incubação, a doença começa de forma aguda e pode ser seguida de três fases: Fase Febril, Fase Crítica e Fase de Recuperação (OPAS, 2010).

A dengue em escala mundial está classificada entre as mais importantes doenças infecciosas. O International Vaccine Institute (IVI) em 2011 estimou que mais de 3,6 bilhões de pessoas (até 55% da população mundial) estão em áreas de riscos, com a ocorrência de dengue registrada em 124 países, com mais de 36 milhões de casos de dengue sem gravidade e 2,1 milhões de casos de dengue grave, além de estimar em mais de 20.000 mortes por ano, registrando que a população infantil é severamente afetada pela doença (ANDERSON *et al.*, 2007; IVI, 2011).

Shepard *et al.* (2011) demonstraram que a dengue tornou-se nos últimos anos a mais importante doença viral transmitida por mosquitos. O estudo revelou que a dengue causa prejuízo de até 2 bilhões de dólares por

ano nas Américas. O Brasil arca com mais de 40% do custo total de dengue. A análise do custo supera os prejuízos causados por outras doenças virais, como o HPV e o rotavírus. Os pesquisadores afirmam que entender o impacto econômico da dengue constitui uma importante ferramenta para a formulação de políticas públicas que priorizem o combate e controle do vetor e da doença.

A dengue é classificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como "*doença tropical negligenciada e reemergente*", o que significa a sua prevalência em áreas tropicais, mas que não recebe atenção devida no que diz respeito à prevenção e controle efetivo, nem a devida divulgação pelos órgãos de Saúde Pública (ESTADÃO, 2011). No Brasil, os custos para controle do inseto vetor são estimados em gastos de mais de R\$ 1,2 bilhão de reais por ano, não incluído os custos econômicos indiretos de horas/trabalho, internação hospitalar e morte (SUAYA *et al.*, 2009).

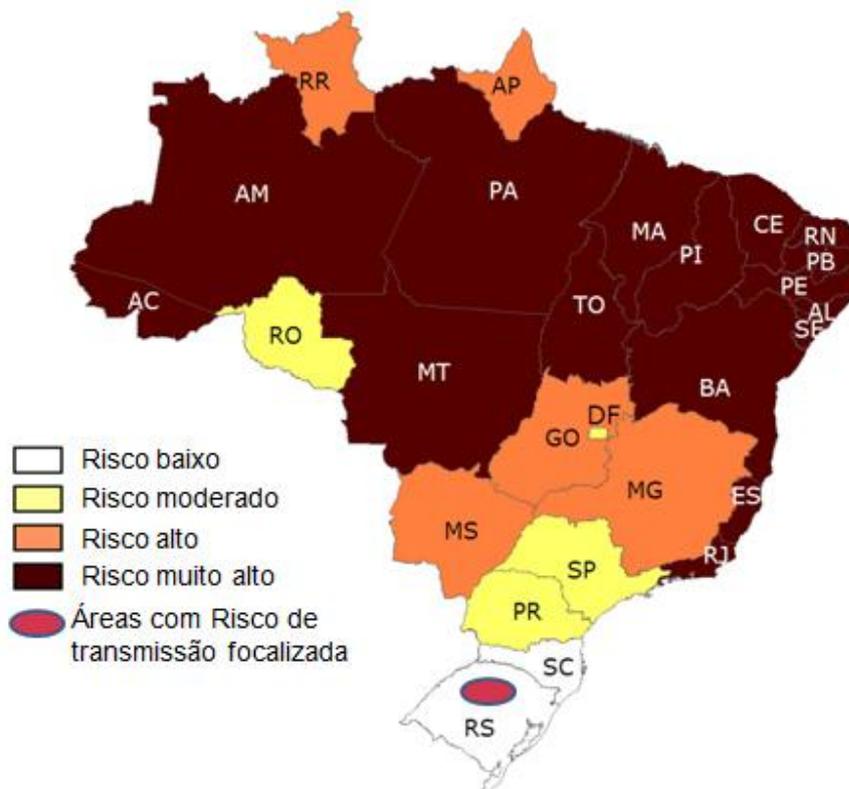
Especialistas apontam que entre os fatores que contribuem para a recorrência das epidemias de dengue nos países, destacam-se a proliferação, adaptabilidade, plasticidade e resiliência do mosquito *Ae. aegypti*, o crescimento demográfico associado à intensa e desordenada urbanização, a inadequada infraestrutura urbana, principalmente sanitária, o aumento da produção de resíduos não-orgânicos, os estilos e modos de vida das populações na cidade, falta de Educação em Saúde e controle preventivo, a debilidade dos serviços e ineficácia das campanhas de Saúde Pública entre outros relacionados. O modo de controle corretivo e não preventivo e a utilização de inseticidas convencionais organoclorados, organofosforados, piretróides, carbamatos e outros que são ineficazes para controle populacional do vetor, induzem o desenvolvimento de resistência no inseto. Estas constatações tornam-se cada vez mais evidentes a partir das reincidências das epidemias e dificultam o controle populacional do vetor (MENDONÇA *et al.*, 2009).

Enquanto não se puder contar com uma vacina polivalente de proteção da dengue para os quatro sorotipos, o elo vulnerável da cadeia epidemiológica da dengue e suas variantes é o inseto (TAUIL, 2001). Neste cenário, a chave para a não ocorrência de epidemias seria o controle vetorial eficiente e o

conhecimento sobre o perfil dos criadouros, as condições ambientais e a percepção das alterações climáticas (PENNA, 2003; MEDRONHO, 2006).

A região Centro-oeste do Brasil registrou 46.604 casos de dengue no ano de 2002, havendo um aumento considerado em 2009 com 109.187 casos, chegando a 216.051 casos de dengue no ano de 2010 (BRASIL, 2012a).

Em 2010, a região Nordeste do Brasil concentrava o maior número de municípios em risco de surto, seguido da região Norte com três municípios em risco e região Sudeste com um único município em risco de surto (BRASIL, 2010). Conforme o mapa na Figura 1, no ano de 2011, os estados da região Nordeste estavam sob risco muito alto de surto de dengue e o estado de MS encontrava-se em risco alto (BRASIL, 2011c).



**Figura 1.** Imagem do levantamento do índice de infestação nos estados brasileiros. Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE (2011c).

O Balanço do Ministério da Saúde em relação a dengue em 2011 indicou queda de 64% nas mortes, de 69% nos casos graves e de 43% nas notificações de dengue sem gravidade em relação ao mesmo período de 2010. Ainda no ano de 2011, o estado do Rio de Janeiro liderou no número de casos

de Dengue no Brasil, grandes regiões e unidades federadas, registrando um total de 165.787 casos confirmados de dengue, seguido pelos estados de São Paulo com 114.884, Ceará com 63.206 e o estado do Amazonas com 61.986 casos confirmados de dengue (BRASIL, 2011 b; BRASIL, 2012a).

Segundo o Portal da Saúde do Ministério da Saúde no Brasil, os óbitos por dengue no ano de 2011 foram maiores no estado do Rio de Janeiro com 134 mortes e Ceará com 62 casos. A região Sudeste apresentou o maior número de óbitos, com 227 mortes e a região Sul o menor número de óbitos, com 12 casos (BRASIL, 2012b).

Segundo o balanço da Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, até a nona semana de 2012 foram registrados 76.906 casos da doença no país, contra 195.894 no mesmo período do ano passado. Os casos graves reduziram em 96% quando comparado com a mesma época de 2011. Fortaleza (CE) figura entre os municípios com maior número de casos da doença, seguido por Rio de Janeiro (RJ), Palmas (TO); Goiânia (GO), Recife (PE); Aparecida de Goiânia (GO); Juazeiro do Norte (CE); Rio Branco (AC); Araguaína (TO) e Salvador (BA) (BRASIL, 2012c).

Analisando as características epidemiológicas observadas e os dados da vigilância epidemiológica, conclui-se que houve, em 2011, o segundo ano de recirculação do sorotipo DEN-1, como tendência principal no país, porém com uma circulação importante de outros sorotipos, como o DEN-2 e DEN-4. Esses dados alertam para a possibilidade de persistência da transmissão em níveis elevados no verão de 2012 (BRASIL, 2011c).

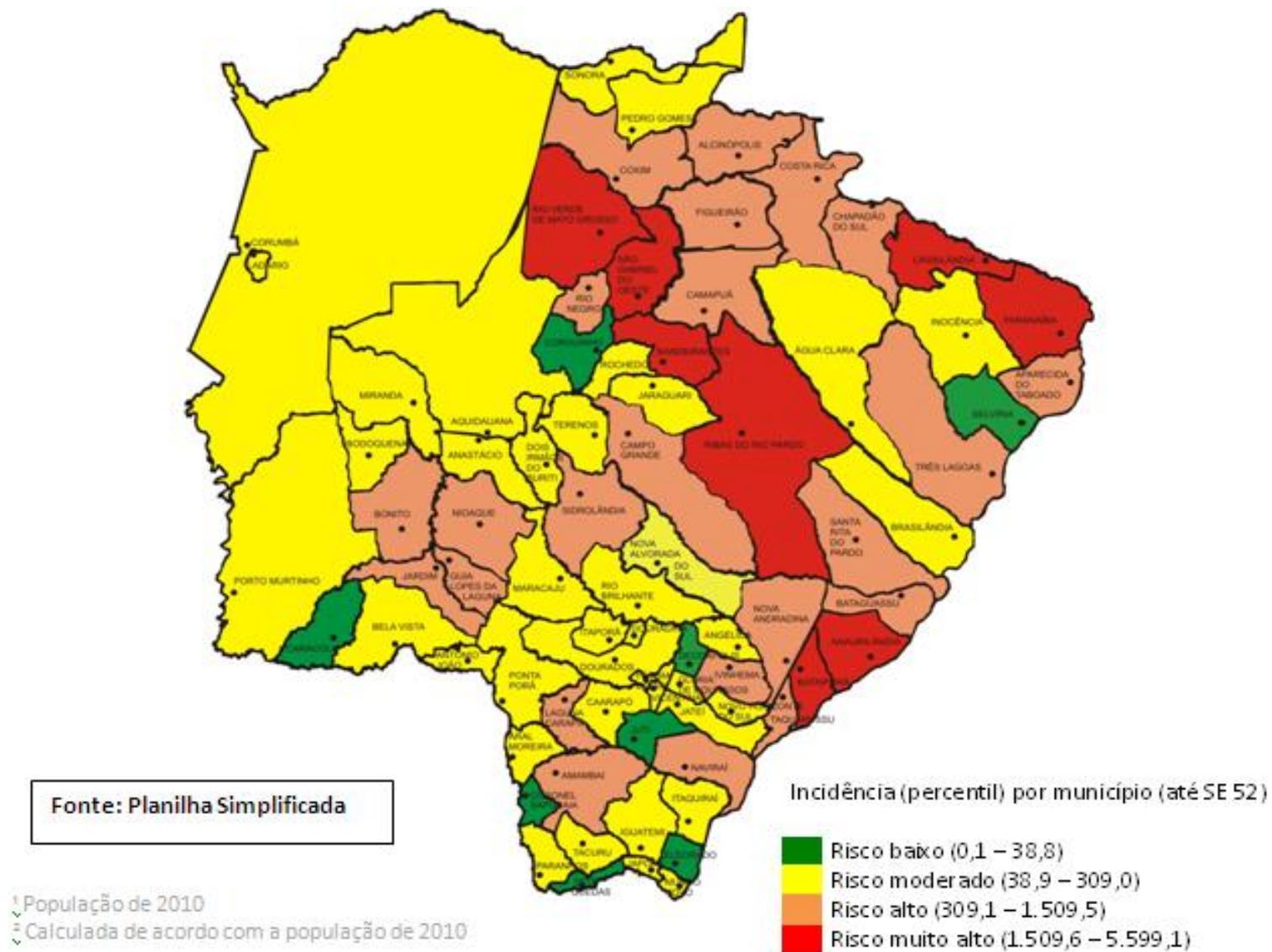
## **1.2 MATO GROSSO DO SUL**

A dengue também é considerada um grave problema para o estado de Mato Grosso do Sul, visto a ocorrência de constantes epidemias nos últimos 20 anos, além dos altos custos de controle, caracteriza um problema de Saúde Pública para o estado.

O estado de Mato Grosso do Sul passou por uma epidemia de dengue no ano de 2007, onde o estado registrou mais de 69 mil casos de dengue, sendo 45 mil casos de dengue só na capital do estado (ESTADO, 2012d).

No ano de 2010, o estado passou por outra epidemia de dengue, na qual vários municípios sofreram com um alto índice de casos confirmados, mais de 65 mil casos (BRASIL, 2012a).

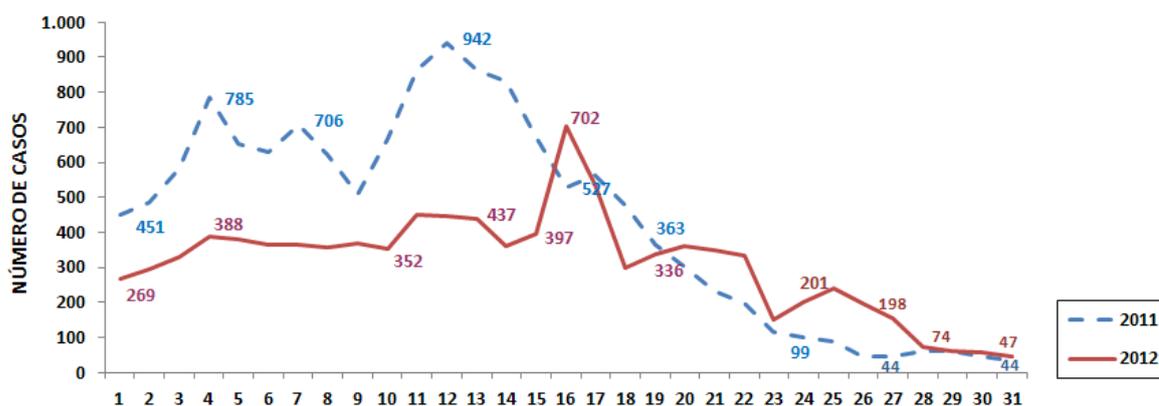
No ano de 2011, segundo o Boletim de Resposta Coordenada no Monitoramento da Dengue, divulgado pela Secretaria de Estado de Saúde juntamente com as secretarias municipais de Saúde, mostra que as notificações de casos de dengue somam 15.689 sendo que todos os municípios do Estado informaram os casos suspeitos da doença registrados na última semana epidemiológica, conforme Figura 2, constam ainda 4 óbitos confirmados (ESTADO, 2012a).



**Figura 2.** Imagem da incidência de dengue por 100.000 habitantes segundo município de residência, Mato Grosso do Sul, 2011 (ESTADO, 2012a).

Conforme Figura 2, em 2011, apenas 8 municípios no estado encontravam-se sob risco muito alto e 9 municípios sob risco baixo de surto da doença. Os municípios de Maracaju e Dourados mostraram-se com risco moderado e o município de Naviraí com risco alto.

A Figura 3 mostra o numero de casos de dengue notificados por semana epidemiológica até a semana 31 dos anos de 2011 e 2012, de acordo com a Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso do Sul (ESTADO, 2012e).



**Figura 3.** Gráfico de casos notificados de dengue por semana epidemiológica em Mato Grosso do Sul nos anos de 2011 e 2012 (ESTADO, 2012e).

Pelos dados na Figura 3 pode-se perceber que os picos de notificações ocorreram entre as semanas 4 a 15 de 2011 e também semanas 4 a 17 de 2012, coincidindo com o período chuvoso e quente, típico do verão na região.

O Boletim de Resposta Coordenada no Monitoramento da Dengue da Secretaria de Estado de Saúde, com a contribuição das secretarias de saúde dos vinte (20) municípios prioritários, sendo eles Anastácio, Aquidauana, Bataguassu, Bonito, Campo Grande, Cassilândia, Corumbá, Coxim, Dourados, Ivinhema, Jardim, Naviraí, Nova Alvorada do Sul, Nova Andradina, Paranaíba, Ponta Porã, Rio Verde de Mato Grosso, São Gabriel do Oeste, Sidrolândia e Três Lagoas, mostra a situação atual dos municípios de Mato Grosso do Sul até a semana 31 de 2012, conforme Figura 3 (ESTADO, 2012c).



Conforme o mapa mostrado na Figura 4, uma dezena de municípios de Mato Grosso do Sul encontravam-se sob risco muito alto da doença e 42 municípios encontravam-se sob risco baixo. Os municípios de Dourados e Naviraí encontravam-se sob risco alto de surto da doença e Maracaju com risco baixo.

O levantamento dos dados de dengue do ano de 2012 (semana 1 a 31) somam 10.685 notificações de casos suspeitos no estado de Mato Grosso do Sul. Conforme a planilha simplificada atualizada dos casos de dengue no estado, o município de Dourados encontra-se com baixa incidência (abaixo de 100 casos por 100.000 habitantes) e os municípios de Maracaju e Naviraí estão com média incidência da doença (100 a 300 casos por 100.000 habitantes) (ESTADO, 2012e).

Estes dados subsidiam, com informações epidemiológicas do Estado e de vinte municípios prioritários, a respeito do cenário e a percepção dos riscos da doença no período e regiões analisadas, sendo importante instrumento de auxílio para a elaboração de ações de controle da doença (ESTADO, 2012c).

### **1.3 AEDES AEGYPTI, CRIADOUROS, MEDIDAS DE CONTROLE E TRABALHO SOCIAL**

Considera-se o *Ae. aegypti* o mosquito mais amplamente distribuído no mundo e de importância médica e sanitária como inseto vetor da dengue e da febre amarela, além de ter a capacidade de vetorizar outros vírus e doenças. Pode-se afirmar que há mais estudos sobre a sua biologia do que qualquer outra espécie de mosquito (SERVICE, 1992).

Historicamente, registra-se que o mosquito estabeleceu-se a mais de 400 anos em ambientes tropicais e subtropicais do mundo, desenvolveu na trajetória evolutiva comportamento estritamente sinantrópico e antropofílico, sendo reconhecido entre os culicídeos como a espécie mais associada ao homem, disseminando os vírus da dengue e provocando doenças (NATAL, 2002). Em consequência, o *Ae. aegypti* está estabelecido em todas as regiões tropicais e subtropicais (MORENS e FAUCI, 2008). No Brasil, a história do mosquito *Ae. aegypti*, provavelmente, iniciou-se com os navios negreiros no período colonial. No final da década de 70 foi detectada novamente sua presença nas principais

metrópoles, tomando dimensões epidêmicas, e em 2002 já era encontrado em mais de 4 mil municípios do país (TAUIL, 2002).

Estudos mostram que as diferentes áreas geográficas de incidência do *Ae. aegypti* permitem diferenciação no comportamento do inseto. Desse modo, os estudos regionais em ecologia populacional são fatores fundamentais para orientação das ações de controle local contra o inseto e relatos de variações da espécie e até de hábitos diferenciados (VEZZANI *et al.*, 2005).

O vírus é transmitida através da picada da fêmea do mosquito, na hematofagia que realiza para a continuidade da reprodução. O ciclo se segue com o amadurecimento dos ovos, desenvolvimento das larvas, pupa e inseto adulto. Este processo reprodutivo ou a continuidade do ciclo de vida do inseto depende, estritamente, de criadouros que contenham água com parâmetros físico-químicos e biológicos adequados, em água parada ou de baixa movimentação para o desenvolvimento do inseto.

O habitat do mosquito parece indicar preferência por ambientes com maior diversidade de microorganismos, matéria orgânica e nutrientes (BARRERA, 1996). Segundo Cunha *et al.* (2002), as bromélias constituem um *microhabitat* ideal no qual podem se desenvolver as formas imaturas do *Ae. aegypti*, por apresentarem muitas vezes disponibilidade do material orgânico e outros nutrientes na água reservada. O vetor da dengue está altamente adaptado ao ambiente doméstico e peridoméstico, e pode reproduzir-se em diferentes tipos de recipientes que armazenam água, incluindo vasos e outros recipientes (GOMES-DANTÉS e WILLOQUET, 2009).

Para o controle do inseto recomenda-se eliminar os criadouros no ambiente doméstico, como pratos de vasos de planta, calhas obstruídas e outros recipientes reservatórios como embalagens plásticas e garrafas. As medidas preventivas devem ser adotadas para evitar a infestação do *Ae. aegypti* em locais como caixas d'água e outros recipientes que possam armazenar água nos domicílios.

Estudos mostraram que os mosquitos da espécie *Ae. aegypti* também emergem de habitats contentores de superfície, assim, recomenda-se que os programas de prevenção da dengue incluam a inspeção e manutenção de fossas sépticas em comunidades carentes de esgoto (MACKAY *et al.*, 2009).

O Ministério da Saúde monitora as populações de *Ae. aegypti* no Brasil através do LIRAA (Levantamento de Índice Rápido do *Ae. aegypti*). Este índice de infestação é dado pelo cálculo dos índices de Breteau (Porcentagem de recipientes

positivos com larvas por domicílio) e Predial (Percentagem de edifícios positivos para larvas). Estes índices são importantes, apesar de controversos, e são os mais utilizados para mensurar os níveis de infestação e indicadores de risco à transmissão de dengue (GOMES, 1998).

Assim, defende-se que um programa eficaz deve centrar o controle dos criadouros a partir de formas imaturas do inseto (ovos e larvas) e, não apenas no controle do mosquito adulto, pois o controle de formas imaturas é fundamental para redução da densidade populacional do vetor, embora o uso de inseticidas para o controle de ambos é preocupante devido aos efeitos tóxicos e não benéficos para organismos não alvos, como artrópodes, vertebrados aquáticos, mamíferos e até o homem (ROSE, 2001; AUGUSTO *et al.*, 1998).

É importante considerar que, na maioria dos países, tem ocorrido uma deterioração da infra-estrutura de Saúde Pública, com redução dos recursos humanos e financeiros. As autoridades sanitárias têm privilegiado ações emergenciais de combate às epidemias da doença em detrimento de medidas para a sua prevenção (TAUIL, 2001).

O processo de urbanização desorganizado leva a regiões de alta densidade demográfica, a ocorrência de invasões de terra e a falta de saneamento básico, associado às condições climáticas de alta umidade e temperatura, índices variáveis de chuva, intenso trânsito de pessoas entre as áreas urbanas e a dificuldade no controle do vetor permitem a reprodução e proliferação do mesmo e o controle da dengue torna-se tarefa árdua. Portanto, neste cenário torna-se essencial repensar as estratégias de controle do inseto para a prevenção da doença, isso requer a adoção de políticas de manejo integradas entre os setores da saúde, pois não se trata de um problema específico de um órgão da saúde. As políticas de combate à doença devem alcançar novos horizontes, principalmente com ações de Educação em Saúde para a população. As ações de controle do vetor devem ser elaboradas e iniciar-se no âmbito das secretarias estadual e municipal de saúde, para assegurar integração entre a vigilância epidemiológica e a vigilância entomológica (MEDRONHO, 2006; COSTA *et al.*, 2009).

Em decorrência das discontinuidades das políticas de prevenção e controle do mosquito *Ae. aegypti*, o Brasil é, de acordo com a Organização Pan-americana da Saúde (OPAS), responsável por 81,7% de todos os casos da doença registrados nas três Américas. Os estudos realizados tiveram por objetivo evidenciar os gastos

com a prevenção e controle da dengue, assim, se faz necessária a continuidade dos estudos para a avaliação dos impactos econômicos da doença, a fim de suprir as lacunas de conhecimento existentes. Os recursos destinados à prevenção da doença e combate ao *Ae. aegypti* priorizam a capacitação de recursos humanos, aquisição de inseticidas, pagamento de agentes de saúde, veículos e equipamentos e campanha publicitária, entre outras estratégias que podem ser adotadas (GOMES *et al.*, 2010).

Ao longo de 25 anos em que a população brasileira vivencia epidemias de dengue, o país já gastou consideráveis recursos para combater o vetor, com adoção de programas de controle integrado destinado a sinergia das atividades (TEIXEIRA *et al.*, 2009a).

Os programas de combate a dengue devem envolver a participação da população juntamente com o poder público no combate ao vetor, seguindo todas as orientações para reduzir a população do mosquito nos domicílios e colaborar com o trabalho desenvolvido pelos agentes de saúde na vigilância entomológica, uma vez que ela direciona as ações de controle do vetor e de sua densidade populacional na transmissão de doenças e podem determinar as estratégias e medidas de otimização e eficácia dos programas de saúde (PEDROSA *et al.*, 2001; GOMES, 1998).

No intuito de integrar o conhecimento e envolver os diferentes interesses para a criação de projetos locais que visem melhorar as condições de saúde humana (NETO *et al.*, 2003; TEIXEIRA *et al.*, 2009b), as instituições de ensino podem contribuir grandemente na formação de jovens com perspectivas e informações para a saúde pública, abordando doenças endêmicas e epidêmicas de maneira interdisciplinar, criativa e adequada às suas realidades sociais e locais, somada a visão integrada da situação da doença e do inseto vetor para o estabelecimento de uma estrutura de vigilância entomológica eficiente, que considere de forma organizada e integrada o manejo do inseto, reforçando o trabalho conjunto entre a escola, universidade e município (LIBORIO *et al.*, 2004; GOMES, 2002).

#### 1.4 INSETICIDAS – MODOS DE AÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE DO INSETO

Dentre os vários componentes e fatores de um programa de saúde eficaz contra a dengue, o controle de vetores deve contar com a adoção de medidas preventivas, culturais e sócio-ambientais no âmbito dos municípios, somadas às condições adequadas de saneamento básico e a utilização de inseticidas.

Os inseticidas são bastante utilizados, tanto na agricultura e agropecuária quanto na área da Saúde Pública. O uso continuado e indiscriminado, entretanto, tem provocado o desenvolvimento de resistência e ocasionado problemas para o controle de vetores, incluindo impactos ambientais ao meio ambiente. A resistência tem sido detectada para várias classes de inseticidas, favorecendo, direta e profundamente, a reemergência das doenças transmitidas por insetos vetores (BROGDON e McALLISTER, 1998).

O aumento nos casos de dengue e epidemias influencia a busca por novas estratégias e novos inseticidas para o controle do vetor, onde incluem-se os programas de Educação em Saúde da população, mudança de hábitos e a utilização de inseticidas, principalmente de produtos químicos sintéticos, que continuam sendo importante ferramenta nos programas integrados de controle do *Ae. aegypti* (ROSE, 2001). Porém, esta estratégia encontra-se ameaçada pelo surgimento de populações resistentes aos inseticidas utilizados no Brasil e tal fato deve ser considerado no planejamento das ações e estratégias de prevenção da dengue com ênfase às atividades de manejo para o controle integrado, incluindo se necessário o uso limitado de inseticidas convencionais (MACORIS *et al.*, 2007).

A resistência a inseticidas pode ser pensada como um processo de evolução acelerada de uma população que responde a intensa pressão seletiva, com a conseqüente sobrevivência dos indivíduos que possuem alelos que conferem resistência. A resistência é pré-adaptativa, e resultado de mutações fortuitas. Assim, um pequeno número de indivíduos possui características que permitem sua sobrevivência sob concentrações de inseticidas, que seriam, normalmente, letais. O próprio inseticida não produz uma mudança genética; o uso continuado, entretanto, pode selecionar indivíduos resistentes da população. Apesar dos vários relatos e estudos documentados sobre a resistência, o número de mecanismos envolvidos é pequeno, e inclui várias condições, incluindo até a modificação do organismo com a diminuição da taxa de penetração do inseticida pela cutícula, detoxificação

metabólica aumentada e diminuição da sensibilidade do sítio-alvo (BRAGA e VALLE, 2007).

Inúmeros fatores genéticos, biológicos e operacionais influenciam o desenvolvimento da resistência aos inseticidas (BROGDON e McALLISTER, 1998).

Os principais compostos utilizados nos programas de controle do vetor são compostos orgânicos pertencentes ao grupos dos organofosforados, carbamatos e piretróides. Quanto ao modo de ação destes compostos, os organofosforados, inseticidas que contém fósforo, são produtos biodegradáveis e possuem instabilidade química, o que resulta em baixo efeito residual. Tanto os organofosforados quanto os carbamatos atuam inibindo as colinesterases, enzima do sistema nervoso central (SNC). Essa enzima é irreversivelmente inativada pelo inseticida e tal inibição resulta no acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas, consequentemente, causando o aumento dos impulsos nervosos, ocasionando a morte do inseto. Os organofosforados podem agir tanto por contato como por ingestão (SUCEN, 2012; BRAGA e VALLE, 2007).

Os Piretróides são compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância existente nas flores do *Chrysanthemum (Pyrethrum) cinerariaefolium* e são facilmente absorvidos pelo trato digestivo. Atuam em pequenas doses e de maneira similar aos organoclorados. Estes inseticidas atuam mantendo abertos os canais de sódio das membranas dos neurônios e afetam o sistema nervoso periférico (SNP) e central (SNC) do inseto, onde estimulam as células nervosas a produzir descargas repetitivas causando paralisia e morte nos insetos (FUNASA, 1998; BRAGA e VALLE, 2007).

A eficácia do Temephos, organofosforado, foi comprovada em 1972, e tem sido utilizado desde então como inseticida para o controle do vetor da dengue por mais de 30 anos e ainda é utilizado até hoje. Neste aspecto é necessário o diagnóstico e monitoramento, de forma contínua, da susceptibilidade das populações do vetor nas diferentes regiões do país para garantir a eficácia dos inseticidas nos programas de controle do vetor e monitorar a presença de indivíduos resistentes nas populações de mosquitos silvestres ou urbanos (BARRETO, 2005; JIRAKANJANAKIT *et al.*, 2007).

O inseticida Temephos pode sofrer decomposição hidrolítica em um pH alcalino. Ainda hoje é utilizado como inseticida base para controle de formas imaturas de *Ae. aegypti*, estudos relatam que a eficácia pode ser prejudicada no

campo e/ou no tratamento, pois os recipientes podem sofrer alterações nos parâmetros físico-químicos e pH, um fator que parece interferir na degradação do larvicida, além da presença de íons metálicos que podem catalisar a degradação das moléculas dos inseticidas por via fotoquímica a partir da incidência de luz solar. Em vista disto, existe a necessidade de constante monitoramento do produto, desde o efeito residual do larvicida até sua presença efetiva nos recipientes. Portanto, é essencial considerar que o tratamento focal é a principal estratégia para a redução da densidade populacional do *Ae. aegypti* (PINHEIRO & TADEI, 2002).

A freqüente exposição do *Ae. aegypti* aos inseticidas e os registros sobre a resistência do vetor ao Temephos explicam a necessidade do monitoramento dessas populações em relação aos produtos utilizados no controle. As Secretarias de Saúde dos estados e municípios precisam destas informações, pois a avaliação de resistência faz-se necessária para o planejamento das estratégias e ações eficazes no controle do inseto vetor (CARVALHO *et al.*, 2001). Os relatos de resistência de *Ae. aegypti* ao Temephos em vários estados do Brasil, a diferença de pressão de seleção para níveis de resistência e susceptibilidade e sua importância dentro dos programas de controle do vetor mostram sua importância prática (BESERRA *et al.*, 2007).

Os larvicidas de origem vegetal e ativos protéicos ou não protéicos oriundos de bactérias tem sido considerado como elementos importantes nos programas de controle de insetos vetores (SILVA *et al.*, 2001). São produtos alternativos às medidas de controle pela baixa toxicidade aos mamíferos e com reduzido impacto ambiental (BARRETO, 2005), podendo ser utilizados para o controle de outros vetores, como *Anopheles sp.* e *Culex sp* (GOVINDARAJAN *et al.*, 2011).

Os inseticidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* var. *israeliensis* (*Bti*) possuem intensa atividade larvicida e efeito residual prolongado nas larvas de *Aedes spp*, assim, apresentam-se como alternativa importante para o controle de culicídeos, podendo ser utilizados no controle integrado de insetos e mosquitos vetores (LUZ *et al.*, 2001).

Mesmo com tantos avanços no controle da dengue, ainda existem lacunas de conhecimento sobre a utilização dos inseticidas, formas de controle, mecanismos de toxicidade e aspectos adaptativos para os insetos, além da estabilidade e impacto ambiental. Há também escassez de estudos científicos que determinem a toxicidade dos produtos ao homem e ambiente, e a necessidade de utilização e

comercialização, pois, na base do conhecimento atual, exceto o *Bti*, todos os outros inseticidas usados nas campanhas de controle de mosquitos são de origem sintética. O uso de toxinas de bactérias no controle biológico das larvas de mosquitos tem se mostrado promissor entre as diversas estratégias que compõem os programas de controle de vetores, pois os produtos biológicos mostram-se eficazes, específicos quanto ao alvo, não impactando outros organismos, assim, o risco de danos ao meio ambiente é reduzido, além de ser biodegradável, de baixa toxicidade aos mamíferos e ainda com menores probabilidades de aquisição de resistência pelo vetor (BARRETO, 2005).

Neste contexto, o Natular™ (Clarke Mosquito Control Products, USA) se apresenta como um promissor inseticida. Segundo o fabricante, é o único produto que contém o Espinosade como ingrediente ativo, combinado com ingredientes inertes. Composto de Espinosina A e Espinosina D, o princípio ativo forma um produto de controle de insetos altamente seletivo com alta potência para os insetos-alvo, porém baixa toxicidade para mamíferos e outros organismos não-alvos, além de ser considerado seguro e que se decompõe rapidamente, evitando sua bioacumulação no meio ambiente. É obtido a partir da bactéria *Sacharopolyspora spinosa*. Seu modo de ação (atua no sistema digestório da larva, causando infecções, danos celulares e morte do inseto) previne o desenvolvimento da resistência nos organismos alvo. Comparado aos inseticidas sintéticos, Natular é eficaz em taxas de uso de duas a 10 vezes menor do que os inseticidas sintéticos tradicionais além de ser 15 vezes menos tóxico aos mamíferos que os compostos organofosforados.

Possui seis formulações, sendo as mais utilizadas no controle de *Ae. aegypti* o Natular DT e Natular EC. O Natular DT se apresenta na forma de uma pastilha em camadas sobrepostas. Segundo o fabricante, uma pastilha é capaz de tratar um volume de até 200 L de água. O Natular EC se apresenta na formulação emulsionável e é utilizado com a ajuda de pulverizadores. Suas formulações DT (pastilha) e EC (líquida) são indicadas para o controle de *Ae. aegypti*, *Anopheles spp* e *Culex spp*.

A qualificação contínua dos agentes nos programas de controle é muito importante, pois são eles que lidam diretamente com a população nas orientações de combate ao vetor, assim, os produtos químicos são apenas uma parte das técnicas de controle disponíveis para o mosquito. Para obter sucesso no controle ou

erradicação do *Ae. aegypti*, tais métodos devem ser integrados com a redução da população do inseto nos criadouros e a educação ambiental e controle químico e/ou biológico (SCHOOFF, 1967). Assim, para o controle de endemias, aponta-se a participação popular como indispensável especialmente onde esta estratégia se impõe como condição para o controle, como no caso da dengue (FERREIRA *et al.*, 2009).

Segundo trabalhos realizados pela Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN) sobre a susceptibilidade do *Ae. aegypti* a inseticidas utilizados de forma contínua no controle dos insetos, o principal problema identificado foi o uso excessivo dos mesmos no controle químico, adicionalmente às más condições de saneamento e falta de ações educativas. Observou-se também que o uso do inseticida em longo prazo e de forma inadequada, comprometeria a sustentabilidade das ações de combate ao vetor, dessa forma, a SUCEN tendeu a verificar o nível de resposta à exposição do mosquito aos produtos e a definição do momento da substituição dos mesmos (LEFEYRE *et al.*, 2003).

Neste contexto, a presente pesquisa teve por objetivo: Avaliar a susceptibilidade de larvas e adultos de *Ae. aegypti* das cidades de Maracaju-MS (região fragmento de Cerrado), Dourados-MS (região fragmento de transição Cerrado-Mata Atlântica) e Naviraí-MS (região fragmento de Mata Atlântica) num raio de aproximadamente 100 km a partir de Dourados-MS aos inseticidas Temephos e Malathion (organofosforados) e à Alfacipermetrina (piretróide); Avaliar a eficácia de Natular™ (Clarke Mosquito Control Products, USA) composto de espinosade, nas formulações DT (pastilha) e EC (líquida) sobre populações susceptíveis de *Ae. aegypti* (Rockfeller, CDC).

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 CARACTERIZAÇÃO DOS MUNICÍPIOS ENVOLVIDOS NA PESQUISA**

As coletas de ovos e exemplares de *Ae. aegypti* foram realizadas nos municípios de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS, exatamente por estarem localizados em regiões de ligação entre o estado do Paraná e capital de Mato

Grosso do Sul e por questão logística das coletas. As coletas ocorreram nos períodos de Março a Maio de 2011, final do verão, após as campanhas de controle.

### 2.1.1 Município de Maracaju-MS

O Município de Maracaju localiza-se no sudoeste do estado de Mato grosso do Sul. Possui área de 5.299,2 km<sup>2</sup>, possui população de 37.405 habitantes. A densidade demográfica é de 5,83 habitantes/km<sup>2</sup> (BRASIL, 2011).

O clima tropical predomina no município e seu bioma possui remanescentes fragmentos de Cerrado (IBGE, 2011a).

A Tabela 1 a seguir mostra os índices Breteau e Predial de Maracaju e a situação da doença nos últimos 6 anos.

**Tabela 1.** Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Maracaju de 2007 a 2012.

<b>Ano</b>	<b>Notificações</b>	<b>Confirmações</b>	<b>Índice Breteau</b>	<b>Índice Predial</b>
<b>2007</b>	547	3	0,48	0,46
<b>2008</b>	18	01	1,37	1,36
<b>2009</b>	70	43	1,26	1,26
<b>2010</b>	2.583	560	0,75	0,75
<b>2011</b>	29	3	0,68	0,68
<b>2012*</b>	22	06	1,40	1,40

\*Semanas epidemiológicas de 1 a 11.

Fonte: ESTADO (2012b).

### 2.1.2 Município de Dourados-MS

O município de Dourados localiza-se no estado de Mato Grosso do Sul e possui 196.035 habitantes, área de 4.086,2 km<sup>2</sup>, com densidade demográfica de 47,97 habitantes/km<sup>2</sup>. O clima tropical predomina no Município e sua vegetação predominante é remanescente/ fragmento de Cerrado e algum remanescente de Mata Atlântica, constitui-se num ambiente altamente modificado de transição entre o Cerrado e Mata Atlântica. (IBGE, 2011b).

A Tabela 2 mostra dados da situação da dengue no Município do ano de 2007 a 2012, segundo a Secretaria Municipal de Saúde, onde constam também os índices Breteau e Predial de Dourados.

**Tabela 2.** Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Dourados de 2007 a 2012.

<b>Ano</b>	<b>Notificações</b>	<b>Confirmações</b>	<b>Índice Breteau</b>	<b>Índice Predial</b>
<b>2007</b>	4573	3698	0,45	0,47
<b>2008</b>	232	30	0,52	0,51
<b>2009</b>	1226	843	1,04	0,94
<b>2010</b>	8193	4768	0,86	0,80
<b>2011</b>	89	8	0,57	0,53
<b>2012*</b>	35	6	1,07	0,99

\*Semanas epidemiológicas de 1 a 11.

Fonte: ESTADO (2012b).

Este levantamento dos dados da doença é realizado semanalmente pela Secretaria de Estado de Saúde (SES) com a contribuição das secretarias municipais (SMS), com o intuito de obter informações e elaborar estratégias para o combate ao inseto para a redução da doença.

### **2.1.3 Município de Naviraí-MS**

O município de Naviraí localiza-se no estado de Mato Grosso do Sul, possui 46.424 habitantes atualmente, uma área de 3.193,5 km<sup>2</sup>, com densidade demográfica de 14,54 habitantes/km<sup>2</sup>. O clima tropical predomina no Município e sua vegetação predominante é de remanescente de Mata atlântica (IBGE, 2011c).

A Tabela 3 mostra os índices Breteau e Predial de Naviraí e a situação da doença no município nos últimos 6 anos.

**Tabela 3.** Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Naviraí de 2007 a 2012.

<b>Ano</b>	<b>Notificações</b>	<b>Confirmações</b>	<b>Índice Breteau</b>	<b>Índice Predial</b>
<b>2007</b>	636	281	0,81	0,85
<b>2008</b>	266	15	0,59	0,55
<b>2009</b>	116	12	0,95	0,94
<b>2010</b>	1381	946	0,95	0,95
<b>2011</b>	331	37	1,16	1,15
<b>2012*</b>	66	04	1,26	1,24

\*Semanas epidemiológicas de 1 a 11.

Fonte: ESTADO (2012b).

## **2.2 COLETA DE OVOS DE *AE. AEGYPTI* NOS MUNICÍPIOS**

A coleta de ovos de *Ae. aegypti*, foi realizada através da instalação de armadilhas de oviposição adaptada por Fay & Eliason (1966) e distribuídas no peridomicílio de residências, em vários bairros dos municípios, no período de março a maio de 2011. A armadilha consiste em um recipiente na forma de um vaso preto, de plástico, com boca larga, volume de 1L e com orifícios laterais para escoamento d'água em caso de precipitação pluvial. Como suporte para oviposição foi colocada verticalmente no interior do vaso, uma palheta de Eucatex com dimensão de 2,5 cm x 12,5 cm, sendo que uma das faces da superfície era rugosa. Cada palheta foi enumerada e as armadilhas foram inspecionadas a cada cinco ou seis dias, fazendo-se a troca de palhetas e reposição do volume d'água.

A escolha do local das armadilhas de oviposição baseou-se em locais com plantas e sombreados em geral (Figura 5).



**Figura 5.** Armadilha de oviposição (modificada) utilizada na coleta de ovos de *Ae. aegypti*.

Segundo Consoli e Oliveira (1994), a seleção do local de oviposição por parte das fêmeas é o principal fator responsável pela distribuição dos mosquitos nos criadouros e é da maior relevância para a distribuição das espécies na natureza.

As armadilhas foram distribuídas em vários pontos nos municípios de Maracajú-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS (Figuras 6, 7 e 8).

No município de Maracaju e Navirai foram distribuídas 15 armadilhas, sendo que em Maracaju e Naviraí foram distribuídas em pontos estratégicos (Figura 6 e 7). No município de Dourados, utilizou-se 20 armadilhas também em pontos estratégicos (Figura 8). Foram coletados em média de 1.500 a 2.000 ovos por município.

Devido á área de coleta dos municípios, que abrangeu áreas centrais ou pontos estratégicos e ao pequeno número de armadilhas instaladas, considera-se as populações coletadas como amostras populacionais.



Figura 6. Distribuição dos pontos de coleta no município de Maracaju.

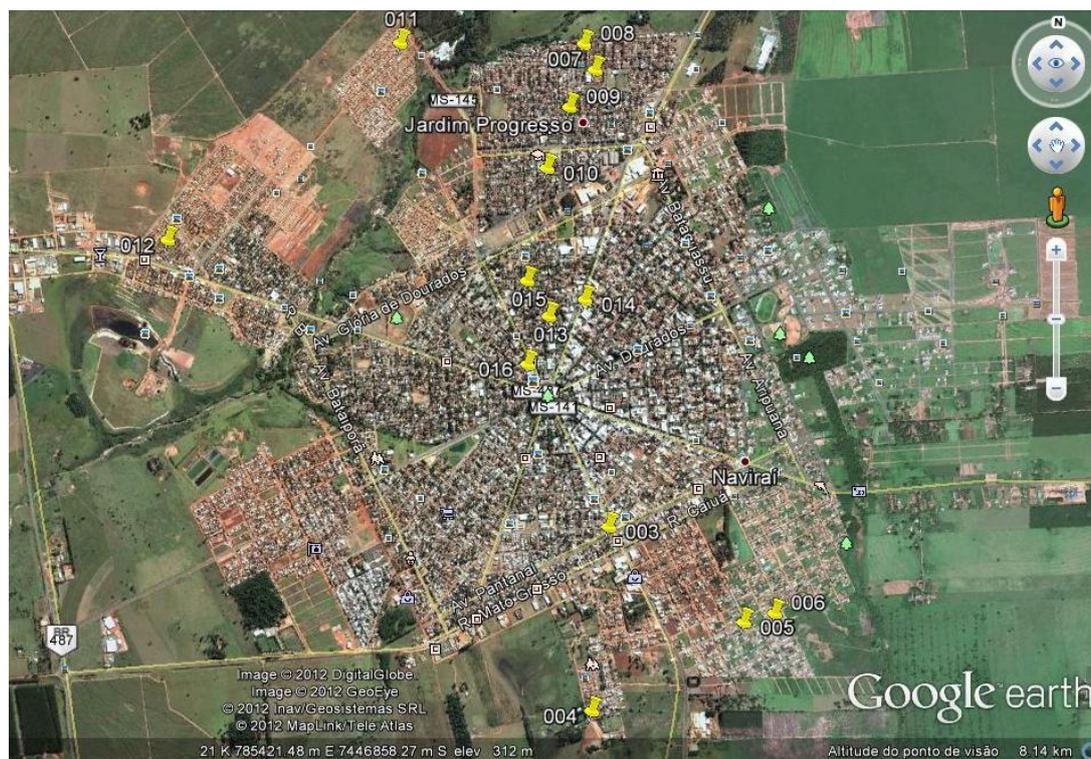
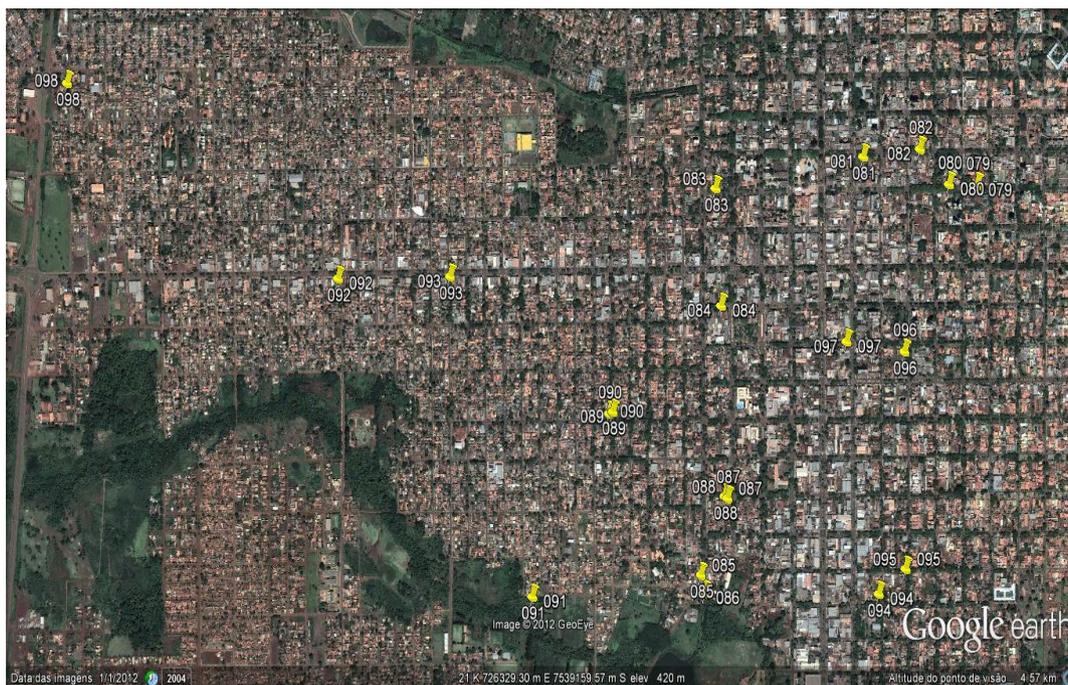


Figura 7. Distribuição dos pontos de coleta no município de Naviraí.



**Figura 8.** Distribuição dos pontos de coleta no município de Dourados.

### **2.3 BIOENSAIOS DE TOXICIDADE COM LARVAS DE *AE. AEGYPTI* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Os inseticidas utilizados para os bioensaios foram o organofosforado Temephos (Abate 1G, BASF, a 1% de ingrediente ativo (i.a), o piretróide Alfacipermetrina (FERSOL 200 sc, 200g de i.a / Litro) e o organofosforado Malathion (UL CHEMINOVA, 96% i.a). As Concentrações empregadas foram as recomendadas pela SUCEN e pela OMS para avaliar resistência aos inseticidas de uso normal no controle de insetos. Assim, para Temephos (organofosforado), foram testadas as concentrações diagnóstico (CD) recomendada pela Organização Mundial de saúde de 0,008 ppm (ingrediente ativo), ou seja (0,008 mg.L<sup>-1</sup>) e a recomendada pela SUCEN, de 0,012 ppm (ingrediente ativo), ou seja (0,012 mg.L<sup>-1</sup>), para Alfacipermetrina (36,5 mg i.a./m<sup>2</sup>) e Malathion (292 mg i.a./m<sup>2</sup>) (WHO, 1992; MACORIS, 2002; MACORIS *et al.*, 2005).

Os produtos foram avaliados por meio de bioensaios de toxicidade em larvas em dias diferentes. Para a realização dos experimentos foram separadas larvas entre o final do terceiro e início do quarto estágio da geração F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> para o larvicida Temephos (organofosforado) e indivíduos adultos da geração F<sub>2</sub> obtidos para os

testes, tanto para Malathion (organofosforado) e Alfacipermetrina (piretróide) como ativos adulticidas.

Para a interpretação de resistência foram utilizados os seguintes critérios: a) 98% a 100% de mortalidade = Susceptível (S); b) entre 80 e 98% de mortalidade = Requer Verificação (RS) e c) abaixo de 80% de mortalidade = Presença de Indivíduos Resistentes (R) (DAVIDSON e ZAHAR, 1973).

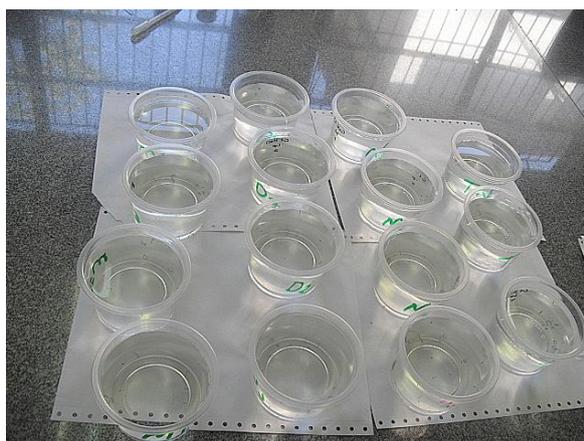
### **2.3.1 Ensaio biológico com Organofosforado Temephos**

Os bioensaios de laboratório e as criações das populações de *Ae. aegypti* foram conduzidos no laboratório de Entomologia Aplicada do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-UNICAMP, Campinas-SP) em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h, utilizando-se as gerações P, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> das populações de *Ae. aegypti* coletadas nos municípios de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS. Para a incubação dos ovos de *Ae. aegypti* e realização dos bioensaios de toxicidade com larvas, usou-se estufa BOD, com temperatura ( $T = 27 \pm 2^\circ\text{C}$ ), Umidade Relativa ( $UR = 70 \pm 5\%$ ) e fotoperíodo 12 h. Nessas condições as larvas dentro dos ovos eclodem e dão origem às larvas do mosquito *Ae. aegypti*. Aproximadamente 1.000 indivíduos foram colocados em recipientes plásticos e as larvas receberam ração de peixe Alcon Goldfish (alcon pet) como alimento, na proporção de um grama de ração por litro (m/v) e após atingirem o 3º estágio de desenvolvimento larval, as mesmas foram utilizadas no teste larvicida (Bioensaio de toxicidade) (GADELHA e TODA, 1985; WHO, 1981). Nos bioensaios foi utilizada água destilada como testemunha e no controle larvas de mosquitos da linhagem susceptível Rockefeller (CDC, Atlanta - EUA).



**Figura 9.** Recipiente plástico para eclosão das larvas.

A solução padrão do ativo inseticida ou amostra do composto químico a ser utilizado no teste foi obtida para facilitar as sucessivas diluições. Foram pesadas 20 mg do princípio ativo em balança analítica e solubilizado em água para preparação da solução-estoque ou padrão que posteriormente foi diluída para a preparação das concentrações menores a serem utilizadas no bioensaio. Esta solução (padrão ou estoque) a 10.000 ppm foi mantida em temperatura ambiente (25° C a 27° C) até o momento das diluições. Volumes de 18 mL de água isenta de cloro foram utilizadas para a diluição e distribuídos as concentrações menores em 250 mL por copo plástico, à temperatura ambiente.



**Figura 10.** Recipientes plásticos onde foram realizados os bioensaios de toxicidade.

Estas soluções foram utilizadas, em cada série do experimento, com as concentrações propostas pela SUCEN e OMS, sendo os bioensaios de toxicidade realizados em quadruplicata (4X). Grupos de 20 larvas no final de terceiro estágio e

início do quarto estágio foram separados e transferidos para copos plásticos com 250 ml da solução para análise da toxicidade no controle, no tratamento e na testemunha.

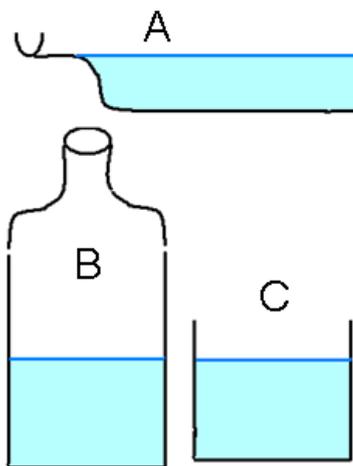
Após 24 h de exposição foi registrado o número de larvas mortas (sendo consideradas mortas aquelas que não apresentaram movimentos ou as larvas que não responderam a estímulo de toque pela ponta de uma pipeta Pasteur).

Todos os experimentos foram repetidos em dias diferentes e com larvas da geração F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>. Paralelamente, todos os experimentos foram acompanhados de tratamento, controle e testemunha. O programa estatístico utilizado pra o tratamento dos dados foi o Bioestat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

### **2.3.2 Ensaio biológico com Natular™ (Espinósade)**

Os bioensaios com Natular™ nas formulações DT (pastilha) e EC (líquida) foram conduzidos no LEPAC (laboratório de estudos e pesquisas em artes e ciências) da UNICAMP em Paraty, RJ em Janeiro de 2012.

Nos bioensaios com o Natular™ EC (líquida) a aplicação do larvicida foi feita por aspersão sobre garrafas plásticas com capacidade de 3 litros simulando criadouros de larvas do vetor da dengue. Os tratamentos, em 4 réplicas, foram: **a-** garrafas cortadas longitudinalmente **b-** garrafas inteiras (sem tampa) e **c-** garrafas cortadas verticalmente ao meio (Figura 11). Estes recipientes foram abastecidos com 1 litro de água mineral e dispostos no chão em uma área de 3 m<sup>2</sup> de superfície e arranjados de forma a receberem a quantidade de produto recomendada no catálogo do produto, para “Recipientes naturais ou artificiais – Vasos de plantas ou partes destes (pratos) que acumulam água”.



**Figura 11.** Forma das garrafas plásticas utilizadas no teste com Natular EC.

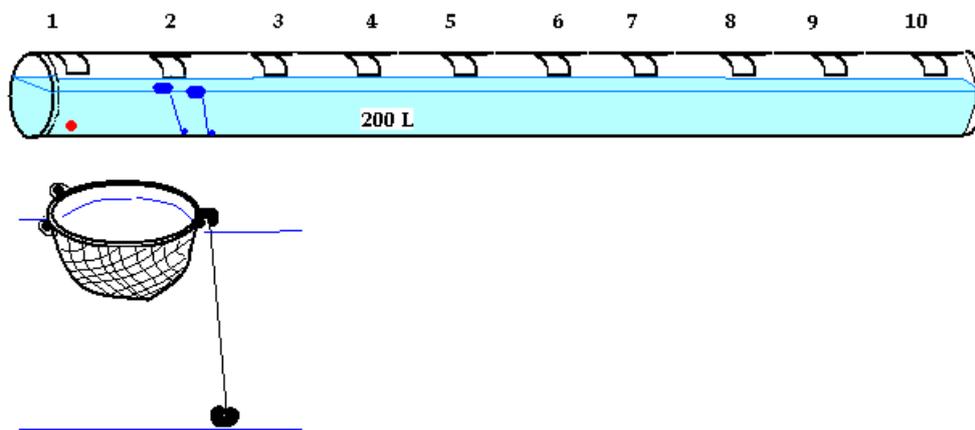
Foram feitos os cálculos de concentração do produto a partir da área, tempo e vazão da calda, por meio da aplicação por Pulverizador de Pressão Prévia com capacidade para 3 L (Worker). O produto foi aplicado a uma altura de 50 cm sobre as garrafas, à concentração de  $1,43 \text{ ml}/100\text{m}^2$ , equivalente ao ponto médio da faixa de recomendação do fabricante ( $0,81$  a  $2,05 \text{ ml}/100\text{m}^2$ ).

Trinta larvas de *Ae. aegypti* (linhagem Rockefeller, CDC - Atlanta, EUA) entre o final do terceiro e início do quarto estágio foram colocadas em cada recipiente, perfazendo 3 tratamentos com 4 réplicas cada e 4 testemunhas. Um período de 30 min foi aguardado, antes dos tratamentos, para permitir a ambientação das larvas. O experimento avaliou a mortalidade final após 24 h de exposição ao produto.

Nos bioensaios com o Natular™ DT (pastilha), os testes com o larvicida foram feitos em caixas d'água de 310 L de capacidade ou em um tubo de PVC de 200 mm fechado em suas extremidades.

Nos bioensaios onde a aplicação do larvicida foi feita utilizando um tubo de PVC de 200 mm de diâmetro e 9 m de comprimento, este tubo foi preenchido com 200 L de Água Mineral e suas extremidades foram isoladas para evitar a saída de água. Ao longo do cano foram feitas 10 aberturas de aproximadamente  $40 \text{ cm}^2$ , com uma distância de aproximadamente 90 cm entre uma abertura e outra. Foram colocadas 2 peneiras de chá, flutuantes e ancoradas por uma esfera de chumbo e presa por uma linha em cada abertura, totalizando 20 peneiras. Após este procedimento, uma pastilha foi aplicada no orifício número 1 (Figura 12).

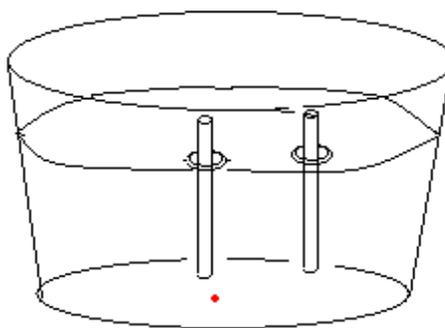
Aproximadamente trinta larvas de *Ae. aegypti* (linhagem Rockefeller, CDC - Atlanta, EUA) entre o final do terceiro e início do quarto estágio foram colocadas em cada peneira. Foi aguardado um período de 30 min, antes dos tratamentos, para permitir a ambientação das larvas.



**Figura 12.** Tubo PVC de 200mm utilizado para os testes com Natular DT (pastilha representada em vermelho, na abertura número 1).

Após este procedimento foi adicionado uma pastilha de Natular™ DT em uma das extremidades do tubo para avaliar o efeito do produto ao longo do comprimento do tubo. O experimento avaliou a mortalidade final após 24 ou 48 h de exposição ao produto. Foram feitas duas repetições para este teste.

Nos bioensaios onde a aplicação do larvicida foi feita utilizando caixas d'água de 310 L, foram utilizadas 8 caixas d'água, perfazendo 4 tratamentos e 4 testemunhas. Cada caixa d'água foi abastecida com 200 L de água. Canos de PVC de 60 mm foram cortados com 48 cm de comprimento e telados na extremidade inferior para evitar a saída das larvas. Dois canos foram colocados em cada caixa d'água de forma vertical e estes canos foram suspensos flutuando com a ajuda de placas de isopor em sua superfície superior (Figura 13).



**Figura 13.** Caixa d'água utilizada nos testes com Natular DT. (pastilha representada em vermelho).

Cada cano recebeu aproximadamente trinta larvas de *Ae. aegypti* (linhagem Rockefeller, CDC - Atlanta, EUA) entre o final do terceiro e início do quarto estágio. Foi aguardado um período de 30 min, antes dos tratamentos, para permitir a ambientação das larvas. Em seguida, foi adicionado uma pastilha de Natular™ DT em cada caixa d'água para avaliar o efeito do produto em 200 L de água. O experimento avaliou a mortalidade final após 48 h de exposição ao produto.

#### **2.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS COM INSETOS ADULTOS DE *AE. AEGYPTI* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Os mosquitos adultos dos mosquitos foram obtidos a partir de armadilhas de oviposição, posicionadas no interior das residências e no peridomicílio de residências escolhidas. Após um período de 48 h de incubação dos ovos, as palhetas de Eucatex foram colocadas em bandejas plásticas (40 cm x 27 cm x 7,5 cm) para a eclosão das larvas. No momento da eclosão, as bandejas foram colocadas dentro de gaiolas, até o momento da empupação e eclosão dos adultos. Os adultos foram mantidos em gaiolas construídas de alumínio e acrílico (Figura 14), contendo tecido organza nas portas das gaiolas e nas portas de acesso do laboratório para evitar uma possível dispersão ou fuga dos mosquitos, fornecendo-se diariamente, uma solução glicosada de mel a 20%, sendo permitido o repasto sanguíneo, em codornas, três vezes por semana, onde as codornas eram simplesmente colocadas dentro das gaiolas por uma hora para o repasto dos mosquitos.

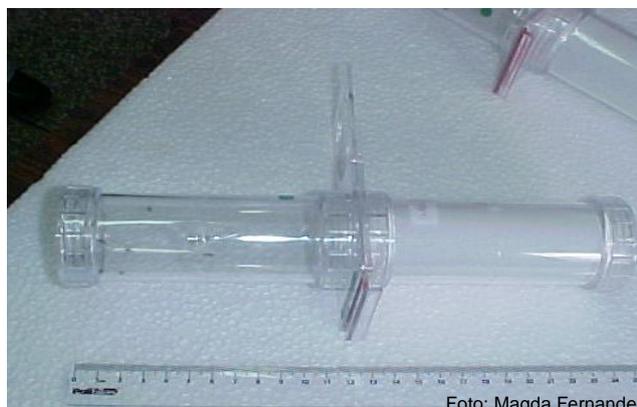


**Figura 14.** Gaiolas construídas de armação de alumínio e acrílico, usadas na criação dos mosquitos.

Na pesquisa foram realizados bioensaios de toxicidade para avaliar a susceptibilidade da população de *Ae. aegypti* de Maracaju-MS, de Naviraí-MS e Dourados-MS, tratados com os inseticidas Alfacipermetrina (piretróide) e Malathion (organofosforado) ambas formulações comerciais dos produtos utilizados no controle químico foram obtidas através do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Dourados. Para tal avaliação foram feitos bioensaios com papéis impregnados (WHO, 1981; BROGDON e McALLISTER, 1998).

Os bioensaios de toxicidade foram realizados no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (IB-UNICAMP, Campinas-SP), em sala com temperatura controlada, variando de 25° C a 27° C. Para todos os testes foi utilizada a cepa-referência de susceptibilidade como controle (linhagem Rockefeller, CDC - Atlanta, EUA).

Os bioensaios foram realizados com mosquitos da geração F<sub>2</sub>, assim os mosquitos foram expostos às seguintes concentrações de Alfacipermetrina (36,5 mg i.a./m<sup>2</sup>) e Malathion (292 mg i.a./m<sup>2</sup>) (WHO, 1992; MACORIS, 2002) em tubos cilíndricos plásticos contendo em seu interior o papel impregnado com a concentração de inseticida proposta, diluída em óleo de silicone (Figura 15) (WHO, 1963; KARUNARATNE e HEMINGWAY, 2001; WHO, 2006). Foi realizado apenas um bioensaio para estas amostras populacionais de insetos dos três municípios, devido ao pequeno número de mosquitos na colônia, contemplando quatro réplicas em cada bioensaio.



**Figura 15.** Tubo padronizados para avaliação de inseticidas em mosquitos adultos.

Cada tubo de exposição recebeu em média de 25 a 30 indivíduos adultos que foram expostos por um período de 1 h. Os mosquitos utilizados no controle foram expostos a papéis sem inseticida, contendo apenas óleo de silicone. A porcentagem de mortalidade final foi avaliada 24 h após o início da exposição ao inseticida.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 AVALIAÇÃO DE SUSCEPTIBILIDADE DE *AE. AEGYPTI* NA FASE DE LARVA AO TEMEPHOS

A susceptibilidade de *Ae. aegypti* ao larvicida organofosforado Temephos foi avaliada para as amostras populacionais de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS, durante o período de junho a setembro de 2011 nas gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>. Na geração F<sub>1</sub>, foi testada a concentração recomendada pela SUCEN (Marília, SP) de 0,008 mg/L. Neste bioensaio a amostra populacional de Maracaju apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 16,7% (4,90), a amostra de Dourados apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 73,3% (3,40) e na amostra de Naviraí obteve-se média de mortalidade e desvio padrão de 46,6% (1,00), conforme Tabela

4. As 3 amostras populacionais foram expostas à mesma concentração e em 24 h de exposição ao produto.

**Tabela 4.** Susceptibilidade de amostras populacionais de larvas de *Ae. aegypti* de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos, para a concentração diagnóstica de 0,008 mg/L, para 4 repetições de 30 indivíduos.

<b>Amostras populacionais</b>	<b>Indivíduos (n)</b>	<b>Mortalidade (n)</b>	<b>Mortalidade (%)</b>	<b>Desvio padrão</b>
Maracaju	30	10,2	16,7	4,90
Dourados	30	21,7	73,3	3,40
Naviraí	30	13,5	46,6	1,00
Rockfeller*	30	30	100	0,00
Testemunhas	30	0	0	0,00

\*Linhagem susceptível (CDC, Atlanta, USA).

Conforme critérios estabelecidos por Davidson e Zahar (1973), os testes sugerem uma resistência para todas as amostras populacionais testadas, devido a baixa porcentagem de mortalidade. A linhagem susceptível apresentou 100% de mortalidade, validando os testes.

Comparando os valores médios e desvios-padrões encontrados, os testes demonstraram que a população de Maracaju-MS apresentou o menor percentual de mortalidade e a maior variação (4,90), se mostrando ser a população menos homogênea. O menor desvio padrão foi visto na população de Naviraí-MS, demonstrando ser, entre as 3 populações, a mais homogênea.

As diferenças após comparar os valores médios e desvios-padrões encontradas, permitem indicar o diagnóstico de populações resistentes para estas amostras populacionais.

Para comparar a mortalidade nos 3 municípios foi utilizado o teste ANOVA. Podemos afirmar que há diferenças significativas entre o percentual de mortalidade nos 3 municípios ( $p=0,0055$ ). O pós-teste Tukey nos mostrou que o índice de mortalidade em Dourados é significativamente maior que em Maracaju ( $p<0,01$ ) e maior que em Naviraí ( $p<0,05$ ); apesar do percentual de mortalidade em Naviraí ser maior que em Maracaju, essa diferença não é significativa ( $p>0,05$ )

As amostras populacionais também foram expostas a concentração recomendada pela OMS (0,012 mg/L). A população de *Ae. aegypti* de Maracaju-MS apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 23,7% (0,90). A população de

Dourados apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 78,7% (1,70) e a população de Naviraí apresentou média de mortalidade e desvio padrão de 67,5% (1,00), conforme Tabela 5. Todas as populações foram expostas a concentração recomendada e em 24 h de exposição ao produto.

**Tabela 5.** Susceptibilidade de amostras populacionais de *Ae. aegypti* de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos (0,012 mg/L) para 4 repetições.

<b>Amostras populacionais</b>	<b>Indivíduos (n)</b>	<b>Mortalidade (n)</b>	<b>Mortalidade (%)</b>	<b>Desvio padrão</b>
Maracaju	20	4,3	23,7	0,90
Dourados	20	15,6	78,7	1,70
Naviraí	20	13,5	67,5	1,00
Rockfeller*	20	20	100	0,00
Testemunhas	20	0	0	0,00

\*Linhagem susceptível (CDC, Atlanta, USA).

O teste efetuado com larvas de *Ae. aegypti* nas 3 localidades, utilizando a Concentração Diagnóstico (CD) 0,012 ppm do organofosforado Temephos, segundo a OMS, confirmam uma alteração na susceptibilidade (Resistência) indicando a necessidade de verificação com bioensaios de concentrações múltiplas para esta população para determinação da razão de resistência.

Foi verificado que a população da linhagem Rockefeller apresentou 100% de mortalidade em todos os testes realizados com Concentração de 0,012 ppm em menos de 24 h, comprovando a susceptibilidade ao Temephos e validando os resultados obtidos para as populações coletadas nas cidades de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS.

O teste ANOVA (fator duplo) mostrou que não há diferenças significativas entre os municípios, com ( $p=0,2617$ ). O nível de significância foi de 0,05.

Os testes demonstraram que a população de Dourados-MS apresentou o maior percentual de mortalidade e a maior variação (1,70), se mostrando ser a população menos homogênea neste teste. O menor desvio padrão foi visto na população de Maracaju-MS, em média de 1,00, confirmando a homogeneidade desta população.

As diferenças após comparar os valores médios e desvios-padrões encontradas, permitem indicar padrões de resistência para estas populações que foram coletadas em cidades que distam num raio aproximado de 100 km e em

ambientes urbanos com diferentes vegetações remanescentes ( Cerrado, Transição e Cerrado-Mata Atlântica). Os resultados permitem supor um semelhante histórico do uso do produto nessas localidades, com semelhantes intensidades e/ou freqüências de aplicações, submetendo as populações à equivalentes pressões de seleção, com conseqüente aumento dos graus de resistência, e até permite sugerir, semelhantes mecanismos de resistência desenvolvidos pelas amostras populacionais analisadas e comparadas (BESERRA *et al.*, 2007), entretanto para confirmações seriam necessários trabalhos mais aprofundados para verificar estas hipóteses.

Comparando os bioensaios das gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> na Tabela 6, percebe-se que em ambas as concentrações as amostras populacionais se mostraram com baixa mortalidade, confirmando a suspeita de resistência destas amostras populacionais.

Para comparar as gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> foi utilizado o teste Binomial que mostra que não há diferenças significativas entre F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> nos 3 municípios (Tabela 6).

**Tabela 6.** Comparação da Susceptibilidade de amostras populacionais de *Ae. aegypti* de diferentes regiões do Mato Grosso do Sul ao larvicida Temephos nas gerações F<sub>1</sub> (0,008 mg/L) e F<sub>2</sub> (0,012 mg/L).

Geração	Mortalidade		
	Maracaju	Dourados	Naviraí
F <sub>1</sub> (0,008 mg/L)	16.7%	73.3%	46.6%
F <sub>2</sub> (0,012 mg/L)	23.7%	78.7%	67.5%
TESTE BINOMIAL	0.5186	0.5416	0.0668

Com base nestes dados, percebeu-se que quando as amostras foram expostas a uma concentração maior, no caso da geração F<sub>2</sub>, a mortalidade aumentou proporcionalmente.

Bioensaios realizados no ano de 1998/1999 já evidenciavam a susceptibilidade de *Ae. aegypti* ao Temephos em Campo Grande-MS sob a concentração de 0.040 ppm (CAMPOS E ANDRADE, 2001).

Em resultados obtidos em 2004 com larvas F<sub>1</sub> de *Ae. aegypti*, em Dourados, MS, foi verificada susceptibilidade ao organofosforado Temephos à concentração diagnóstico quando comparado à linhagem padrão Rockefeller (FERNANDES, 2004). Em comparação aos bioensaios realizados neste trabalho, percebe-se que

resultou em 78,7% de mortalidade, assim, constata-se que houve uma alteração no padrão de susceptibilidade da população de *Ae. aegypti* de Dourados ao Temephos.

O número de casos de resistência relatados para inseticidas tem sido crescente em países da Ásia, Caribe, America Central e América do Sul.

Os resultados presentes confirmam o que se tem verificado em outras regiões do país, como por exemplo, no Estado da Paraíba onde, segundo Beserra *et al.* (2007) quando diferentes populações foram expostas a mesma concentração do produto, todas as populações de *Ae. aegypti* mostraram-se resistentes ao Temephos.

No estado do Rio de Janeiro, populações de sete municípios apresentaram mortalidades entre 23,5% e 74%, consideradas resistentes ao Temephos (LIMA *et al.*, 2003). Resultados semelhantes foram obtidos por Campos e Andrade (2001) para uma população de *Ae. aegypti* da região de Campinas-SP, onde a sobrevivência para a concentração de 0,012 ppm foi de 24,5%, sendo essa população considerada resistente ao Temephos.

O mesmo bioensaio foi realizado em Curitiba-PR, e os resultados apresentados indicaram a susceptibilidade do mosquito ao Temephos e a viabilidade ao tratamento. Os resultados sugerem o constante monitoramento da população de insetos vetores (LUNA *et al.*, 2004). Outro trabalho realizado em municípios do estado do Paraná com Temephos, avaliado a uma concentração de 0,006 mg/L, a população de Foz do Iguaçu apresentou resistência a esta concentração, já as populações dos municípios de Uiratã e Santa Helena foram susceptíveis à mesma concentração de Temephos (PROPHIRO *et al.*, 2011).

Outro estudo determinou a susceptibilidade do mosquito em sete cidades da região do Distrito Federal-DF e verificaram mudanças no padrão de susceptibilidade, utilizando a CD da OMS para Temephos, onde somente três municípios apresentaram resistência ao produto, sendo eles o município de Taguatinga (76,3%), Guará (61,7%) e Núcleo Bandeirante (56,2%) (CARVALHO *et al.*, 2001).

Os resultados apresentados por Macoris *et al.* (2003) para resistência de *Ae. aegypti* em 10 localidades no estado de São Paulo, demonstram resistência ao Temephos nas populações de Araçatuba (97%), Barretos (94%), Campinas (91%), Pirituba (85%), Ribeirão Preto (88%), São José do Rio preto (96%) e Santos (79%), todas com mortalidade abaixo de 98%.

No Brasil, estudos da resistência do *Ae. aegypti* a inseticidas foram conduzidos nos estados de São Paulo, Goiás, Paraná e Mato Grosso do Sul, onde se destacam os organofosforados e piretróides, como Temephos, Malathion, Alfacipermetrina e outros, que requerem atenção e monitoramento constante (CARVALHO *et al.*, 2004; LUNA *et al.*, 2004; FURTADO *et al.*, 2005)

Na Tabela 7 são mostradas as médias e os desvios padrão das mortalidades de larvas de terceiro e quarto estádios de *Ae. aegypti* para quatro avaliações ao longo do tempo de exposição, para a concentração diagnóstico de 0,012 ppm de Temephos.

**Tabela 7.** Média de número de indivíduos e desvio padrão (DP) para a mortalidade em larvas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> estádios de *Ae. aegypti* para 3 populações do Mato Grosso do Sul e para 4 avaliações após a aplicação da concentração de 0,012 mg/L do produto Temephos (organofosforado).

Tempo (h)	Maracaju	Dourados	Naviraí	Rockefeller*
4	0	0	0	20
8	1,5 (0,70)	2,7 (0,90)	1,5 (0,50)	20
20	4,25 (0,50)	14,5 (1,20)	12,5 (0,50)	20
24	4,33 (0,95)	15,6 (1,70)	13,5 (1,00)	20

\*Linhagem susceptível (CDC, Atlanta, USA).

Pode-se observar que o tempo efetivo para a toxicidade do produto iniciou-se após 8 h de exposição, com uma média de mortalidade de 1,5 (0,70) para Maracaju-MS, com uma média de 2,75 (0,90) para Dourados-MS e média de 1,5 (0,50) para Naviraí-MS. Na população Rockefeller não houve mortalidade, o que assegura a validade dos bioensaios.

Usando o teste de Kruskal-Wallis, podemos observar que em relação às amostras há uma diferença significativa entre os tempos de mortalidade ( $p < 0,0001$ ); entre o número de larvas mortas na amostra com 8 h de exposição para a amostra com 20 h de exposição ( $p = 0,0001$ ) e com 18 h para as 24 h de exposição ao produto ( $p < 0,0001$ ), mas não há diferença significativa entre o nº de larvas mortas com 20 h e 24 h de exposição ( $p = 0,5546$ ), o que permite indicar que após 20 h dos tratamentos, a atividade inseticida do produto já teria sido praticamente completa.

Em uma pesquisa realizada no município de Dourados utilizando a concentração diagnóstico de Temephos, a população de *Ae. aegypti* obteve 100% de mortalidade em 8 h de exposição ao inseticida (FERNANDES, 2004).

Utilizando o teste ANOVA de dupla entrada para analisar as diferenças entre os tempos de mortalidade, percebe-se que não há diferenças significativas entre as amostras de Maracaju ( $p=0,4444$ ), Dourados ( $p=0,6553$ ) e em Naviraí ( $p=0,0772$ ).

### **3.2 AVALIAÇÃO DE SUSCEPTIBILIDADE DE *AE. AEGYPTI* NA FASE DE LARVA AO NATULAR™ (ESPINOSADE)**

#### **3.2.1 Natular™ (EC)**

Os resultados demonstraram que houve 0,8% de mortalidade entre as larvas mantidas como testemunhas, dispensando qualquer correção de mortalidade nos tratamentos. As larvas das garrafas cortadas longitudinalmente e verticalmente apresentaram 100% de mortalidade. Entre as larvas das garrafas não cortadas, onde o produto entrou pela área do orifício da tampa ( $12,5 \text{ cm}^2$  de diâmetro) houve uma mortalidade média de 47,02% (DP=23,81). Criadouros com aberturas em pequenos orifícios podem conter tantas larvas quanto recipientes totalmente abertos.

Discute-se que do ponto de vista operacional, portanto, em aplicações por aspersão baseadas em área do criadouro, é necessário fazer com que mais produto passe pelas aberturas, aproximando-se mais a barra de aplicação e/ou dedicando-se mais tempo de aspersão sobre esses recipientes para que o produto disperse-se na água dos criadouros.

O experimento comprovou a eficácia do produto e a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti* ao ingrediente ativo. Os resultados obtidos permitem sugerir cuidados na operacionalização das aplicações, caso haja a introdução deste larvicida nos programas de controle de *Ae. aegypti* no Brasil.

#### **3.2.2 Natular™ (DT)**

Os resultados do bioensaio com Natular DT com utilização de caixas d'água estão expressos na Tabela 8.

**Tabela 8.** Mortalidade média (%) de larvas de *Ae. aegypti* (linhagem susceptível) expostas ao produto Natular DT (pastilha) em 4 caixas d'água.

<b>Tempo</b>	<b>Exposição</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>
2 dias	48h	85,8	92,6	63,8	76,8	79,7	12,4
30 dias	24h	68,3	28,3	58,2	35,8	47,6	18,1
60 dias	48h	39,9	29,9	49,9	36,8	39,1	8,3

No teste não foi registrada mortalidade nas testemunhas. Para a avaliação após 30 dias de exposição, o mais correto seria ter avaliado o experimento 48h depois de colocar as larvas em contato com a água tratada, portanto as mortalidades dessa avaliação podem estar subestimadas, pois foram feitas com 24 h. Esses valores são aparentemente baixos, pois não permitiram controle total. O experimento foi feito sem qualquer movimentação horizontal das larvas, que foram colocadas em tubos de PVC, com livre movimentação vertical. Percebeu-se uma proporcionalidade na porcentagem de mortalidade das larvas, com 2, 30 e 60 dias, porém, o efeito residual esperado e indicado pelo fabricante não foi alcançado, obtendo-se uma razoável mortalidade dois dias após o tratamento e uma baixa mortalidade em 30 e 60 dias após, indicando reduzido efeito residual.

A Tabela 9 expõe o resultado para Natular DT no cano de PVC de 200 mm de diâmetro, com 200 litros de água.

**Tabela 9.** Mortalidade média (%) de larvas de *Ae. aegypti* (linhagem susceptível) expostas por 24 ou 48 h ao produto Natular DT (pastilha) em cano de PVC 200 mm para 3 efeitos residuais em dias (d). O primeiro ponto representa o orifício onde foi feita a aplicação da pastilha.

<b>Residual</b>	<b>Ponto&gt; Exposição</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>2 d</b>	48h	95,0	88,3	37,7	30,6	27,3	22,9	11,6	9,4	6,6	10,0
<b>30 d</b>	24h	94,5	91,6	55,0	66,6	25,0	43,3	16,6	13,3	16,6	11,6
<b>60 d</b>	48h	43,1	38,3	20,0	8,1	6,6	3,3	0	0	0	0

Para este experimento não foram utilizadas testemunhas devido às dificuldades na preparação do mesmo. Para a avaliação após 30 dias, o mais correto teria sido fazer a avaliação 48h depois de colocar as larvas em contato com a água tratada. Por ser um larvicida novo no mercado, faltam ainda protocolos para sua avaliação. Percebeu-se na terceira avaliação (60 dias após), que uma exposição de 24 h não é suficiente para toda a expressão do efeito do larvicida, e que cerca de

10 a 20% de mortalidade ainda pode ocorrer se fosse permitida uma exposição por 48 h. Assim, as mortalidades da avaliação após 30 dias estão subestimadas.

Este teste também demonstra uma proporcionalidade na mortalidade e no efeito residual do produto com 2 dias e 60 dias, porém, seu efeito residual aos 60 dias foi baixo, representado por apenas cerca de 43% de mortalidade na região do cano onde foi feita a aplicação. Quanto aos pontos de aplicação ainda, os valores para o primeiro e segundo pontos indicam que o produto atuou de forma aceitável. A porcentagem de mortalidade a partir do ponto 3 foi decrescente, como esperado, indicando assim que para a dose recomendada de uma pastilha para 200 litros de água, deverá sempre ser considerada em função do formato do recipiente a ser tratado. Esse experimento se fundamenta no sentido de que calhas coletoras de chuva entupidas são um dos principais criadouros de mosquitos hoje em dia em vários municípios, como em Paraty-RJ por exemplo. E permite recomendar, considerando as eficiências atingidas no ponto 1 e 2 (distante 90 cm) e a água parada das calhas, que nesses casos sejam aplicadas pastilhas a cada um metro ou um metro e meio.

Estudos com outros produtos à base de espinosade no México também evidenciaram sua eficácia (BOND *et al.*, 2004; PÉREZ *et al.*, 2007; MARINA *et al.*, 2011), onde o princípio ativo provou ser altamente tóxico para as larvas de *Ae. aegypti* em bioensaios laboratoriais, resultando sua  $CL_{50}$  entre 0,025 ppm e 0,026 ppm.

O espinosade é conhecido por ser altamente ativo contra dípteros e é também registrado para o controle de pragas de dípteros minadores de colheitas em muitos países (BOND *et al.*, 2004). Comparado com *Bti*, o espinosade parece fornecer proteção mais duradoura contra a reprodução do vetor urbano como o *Ae. aegypti* (PÉREZ *et al.*, 2007). Testes equipararam a ação de produtos à base de espinosade ao Temephos formulado (PÉREZ *et al.*, 2007; MARINA *et al.*, 2011), onde ambos se mostraram eficazes.

### **3.3 BIOENSAIOS COM ADULTOS DE *AE. AEGYPTI***

Quanto aos bioensaios de toxicidade com insetos adultos, a população de Maracaju avaliada com alfacipermetrina obteve uma média de 96,4% de mortalidade

com desvio padrão de 2,90. A população de Naviraí apresentou respectivos média e desvio padrão de 98% (3,40) de mortalidade, ambas expostas ao Alfacipermetrina nas 4 repetições. Na população de Dourados, exposta ao Malathion, as amostras obtiveram uma média de 94% de mortalidade com desvio padrão de 4,20, também em 4 repetições. A linhagem susceptível apresentou 100% de mortalidade nas 4 réplicas, validando este bioensaio.

A Tabela 10 mostra a resposta das populações de adultos de *Ae. aegypti* de Maracaju, Dourados e Naviraí expostas ao inseticida Alfacipermetrina (piretróide) e Malathion (organofosforado), na concentração diagnóstico proposta pela OMS:

**Tabela 10.** Avaliação da susceptibilidade de amostras populacionais de adultos de *Ae. aegypti* de Dourados ao Malathion, organofosforado (292 mg i.a./m<sup>2</sup>) e de Maracaju e Naviraí à Alfacipermetrina, piretróide (36,5 mg i.a./m<sup>2</sup>):

Amostras Populacionais	Produtos	Média de indivíduos por repetição (Desvio Padrão)	% Média de mortalidade (Desvio Padrão)
Maracaju	Alfacipermetrina	26,7 (1,70)	96,4 (2,90)
Dourados	Malathion	27,5 (1,73)	94 (4,20)
Naviraí	Alfacipermetrina	27,7 (2,21)	98 (3,40)
Rockfeller*	Alfacipermetrina e Malathion	28,1 (1,23)	100 (0,00)

\*Linhagem susceptível (CDC, Atlanta, USA).

Os resultados demonstram que as populações de *Ae. aegypti* de Maracaju e Dourados necessitam de verificação para aos inseticidas testados, porém a amostra de Naviraí mostrou-se susceptível à Alfacipermetrina, segundo critérios estabelecidos por Davidson e Zahar (1973). Uma maior homogeneidade foi percebida na amostra populacional de Maracaju, porém, as diferenças são pouco significativas. Utilizando o teste ANOVA para analisar as diferenças entre os três municípios, percebe-se que as diferenças entre os mesmo não são significativas.

O inseticida Alfacipermetrina apresentou eficiência em testes com *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* na Austrália e Malásia e também em outros mosquitos na África (PETTIT *et al.*, 2010; SULAIMAN, 1995; CHIREBVU e NZIRA, 2000).

Outros estudos demonstraram a eficiência do uso de Alfacipermetrina em *Anopheles culicifacies*, *An. fluviatilis* e *An. Gambiae*, também *Culex quinquefasciatus* e outros culicídeos (ANSARI e RAZDAN, 2003; SHARMA, 2010; JAWARA, 1998).

Em outros trabalhos, Cuba apresentou níveis moderados de resistência a Alfacipermetrina para *Anopheles sp.*(RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

Outros trabalhos com Alfacipermetrina mostraram que o inseticida apresentou toxicidade aguda para peixes (CHONG *et al.*, 1997).

A resistência à Alfacipermetrina, preparado de Cipermetrina com isômeros mais ativos (MARCONDES, 1989) já foi registrada em outros municípios do estado de Mato Grosso do Sul, como Corumbá e sua substituição aconteceu em 2010 (NUNES, 2010).

Os valores obtidos em Curitiba-PR mostraram que o piretróide Cipermetrina não deve ser mais utilizado no município, obtendo 65% de mortalidade nos testes realizados com a concentração diagnóstico, sugerindo a necessidade da substituição imediata do inseticida por outro aos quais os insetos tenham maior susceptibilidade (LUNA *et al.*, 2004).

Em avaliações nas regiões do estado de São Paulo (SP) e no Nordeste, os resultados mostraram que quase todas as populações de *Ae. aegypti* de SP foram resistentes aos dois inseticidas piretróides utilizados (Mortalidade abaixo de 70%), com excessão de populações de Campinas-SP e Marília-SP, que apresentaram média de mortalidade de 88% para Cipermetrina. As populações da região Nordeste foram mais susceptíveis aos inseticidas piretróides, com exceção de Itabaiana (Permetrina) e Recife (Cipermetrina e Permetrina). No entanto, a população não apresentou taxa de mortalidade acima de 98%, o que a classifica como população suspeita de resistência (MACORIS *et al.*, 2007).

Os resultados para Malathion (organofosforado) em Dourados-MS mostraram a inviabilidade de seu uso, sugerindo a resistência nesta população. Estudos de Macoris *et al.* (2007) com o organofosforado Malathion, demonstraram que as populações de *Ae. aegypti* do estado de São Paulo nas cidades de Bauru, Barretos, Marília e Presidente Prudente (da região central de São Paulo para a região Centro-Oeste onde há aumento crescente de temperatura e umidade) apresentaram mortalidade de 98%, porém um nível mais baixo de sensibilidade foi observado para as populações do Nordeste, classificando como resistentes as populações das cidades de Aracaju-SE, Itabaiana-BA, e Recife-PE. No estado de São Paulo (SP), as populações das cidades de Araçatuba-SP (região central do estado de São Paulo) e Santos-SP (litoral) foram consideradas resistentes ao Malathion (MACORIS *et al.*, 2007).

No estado de São Paulo, utilizam-se inseticidas organofosforados desde 1980, quando começou a aplicação de Malathion. Este inseticida foi utilizado até 1988, e neste período o uso foi intensificado na primavera e verão. As pesquisas mostram também a resistência em populações de *Culex quinquefasciatus* ao Malathion e a ocorrência de resistência cruzada a organofosforados e carbamatos devida a utilização excessiva do Malathion (BRACCO *et al.*, 1997).

Estudos na Venezuela apresentaram baixos níveis de resistência ao Malathion (RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

A oportunidade de avaliar o impacto dos diferentes grupos de inseticidas sobre a suscetibilidade da população pode ajudar a compreender seu papel no desenvolvimento da resistência e também auxilia na escolha de um produto mais eficiente no controle de vetores e detectar uma possível resistência cruzada de piretróides e organofosforados (MACORIS *et al.*, 2007).

Segundo Macoris *et al.* (2007), à medida que populações apresentam altos níveis de resistência para Temephos e apresentam menor susceptibilidade a inseticidas piretróides, caracterizam o fenômeno de resistência cruzada. Trabalhos no estado de São Paulo, onde organofosforados foram usados para larvas e inseticidas piretróides para o controle de adultos, após dez anos de uso demonstraram níveis de alta resistência a inseticidas piretróides em adultos e baixos níveis de resistência a organofosforados em larvas. Na região Nordeste, onde inseticidas organofosforados foram usados durante um longo período tanto para controle de larvas e adultos, com inseticidas piretróides, estudos comprovaram que havia níveis mais elevados de resistência a organofosforados em larvas e adultos e maior susceptibilidade de inseticidas piretróides em adultos pelo tempo da introdução deste grupo de inseticidas.

Embora nos bioensaios seja recomendado a avaliação de produtos em grau técnico seguindo-se procedimentos padrão (BROWN, 1971; BROGDON & MCALLISTER, 1998), as formulações dos produtos comerciais devem ser analisadas quimicamente (% i.a.) ou avaliadas por meio de bioensaios quanto à sua eficiência em populações padrão (susceptíveis) para serem utilizadas em bioensaios com populações urbanas (CAMPOS e ANDRADE, 2011).

Ainda segundo Campos e Andrade (2011), recomenda-se usar as gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> das amostras de campo para descartar interferências ambientais nas

avaliações. Desta forma as respostas aos produtos são mais homogêneas, garantindo a comparação com as linhagens padrão usadas como referência.

Assim, justifica-se que nos bioensaios realizados, as repetições, o número de repetições e/ou o número de larvas utilizadas em cada tratamento não foram exatamente conforme o protocolo de World Health Organization (WHO). Porém, os resultados obtidos e a homogeneidade das respostas de susceptibilidade e desvio padrão em cada amostra populacional asseguram a eficácia dos bioensaios, assim, a sobrevivência indica a existência de resistência de cada população aos inseticidas testados.

A contribuição ambiental da pesquisa se foca na toxicidade dos químicos, e na eficácia da utilização dos mesmos. Pois, segundo o fabricante, os produtos Malathion e Alfacipermetrina apresentam toxicidade para peixes, organismos aquáticos, abelhas e pássaros. Também podem ser tóxicos ao homem, porém, são rapidamente degradados no solo. Vale ressaltar que inseticidas químicos são tóxicos aos mamíferos e ao meio ambiente (BARRETO, 2005). Ao contrário do Natular, que é biodegradável e não se trata de um produto sintético, mas de um produto de fermentação bacteriana, não tóxico ao meio e eficaz como inseticida.

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados de susceptibilidade larval de *Ae. aegypti* ao Temephos obtidos sugerem a resistência das amostras populacionais dos municípios de Maracaju-MS, Dourados-MS e Naviraí-MS, tanto na dose diagnóstico proposta pela SUCEN (0,008 mg/L) como na dose diagnóstico proposta pela OMS (0,012 mg/L).

Os bioensaios realizados em ambas as concentrações confirmam uma alteração na susceptibilidade (Resistência) indicando a necessidade de verificação com bioensaios de concentrações múltiplas para estas amostras populacionais. Não foi evidenciada nenhuma diferença entre as amostras dos municípios testados com a concentração diagnóstico da OMS (0,012 mg/L), porém na concentração de 0,008 mg/L foi evidenciada esta diferença entre os municípios. Comparando os bioensaios nas gerações  $F_1$  e  $F_2$  sob diferentes concentrações, não houve diferença entre elas. Estes resultados necessitam de estudos futuros para avaliar a razão de resistência destas populações, a fim de confirmar esta resistência.

As avaliações de susceptibilidade em mosquitos adultos sugeriram a necessidade de verificação de resistência das amostras populacionais de Maracaju e Dourados e sugerem a susceptibilidade da população de Naviraí, sem diferenças entre eles. Estes dados requerem investigação para aferir a razão de resistência destas populações.

Nos bioensaios com Natular EC, os resultados obtidos permitem sugerir cuidados na operacionalização das aplicações por aspersão, pois se percebe diferenças nas mortalidades entre as três formas de recipientes. Ainda assim, é indicada a introdução deste larvicida nos programas de controle de *Ae. aegypti* no Brasil.

Nos bioensaios com Natular DT, o produto mostrou-se eficiente contra larvas susceptíveis, porém, a forma, monitoramento e ponto de aplicação devem ser avaliados. Seu efeito residual não foi o esperado pelo fabricante, porém, se faz necessária nova avaliação do teste para confirmar essa suspeita.

Estes resultados indicam a implementação rápida do sistema de monitoramento destas populações e adoção de estratégias preventivas e até de métodos alternativos de controle que possam diminuir a seleção de resistência dos insetos, pois os resultados sugerem desenvolvimento de resistência nas populações de *Ae. aegypti* testadas.

O monitoramento constante do vetor da dengue é de extrema importância, agregado a temáticas como meio ambiente e condições de vida, de forma integrada e participativa, com o apoio de outras áreas do conhecimento, de tal forma que estes conteúdos abrangentes tornem as medidas de controle e prevenção mais eficazes e menos impactantes ao ambiente, contribuindo para o sucesso dos programas de controle de vetores adotados pelos governos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, K.B.; CHUNSUTTIWAT, S., NISALAK, A.; MAMMEN, P.M.; H LIBRATY, D.H.; ROTHMAN, A.L.; GREEN, S.; VAUGHN, D.W.; ENNIS, F.A.; ENDY, T.P. Burden of symptomatic dengue infection in children at primary school in thailand: a prospective study. **Lancet**, v. 28, n. 369, p. 1452–1459, 2007.

ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K. Bio-efficacy and operational feasibility of alphacypermethrin (Fendona) impregnated mosquito nets to control rural malaria in northern India. **Journal of Vector Borne Diseases**, n. 40, p. 33–42, 2003.

AUGUSTO, L. G. S.; TORRES, J. P. M.; COSTA, A. M.; PONTES, C.; NOVAES, T. C. P. N. Programa de erradicação do *Aedes aegypti*: inócuo e perigoso (e ainda perdulário). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, n. 4, p. 876-876, 1998.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. Bioestat – aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. ONG Mamiraua. Belém, 2007.

BARRERA, R. Competition and resistance to starvation in larvae of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes. **Ecological Entomology**, v. 21, p. 117-27, 1996.

BARRETO, C. F. *Aedes aegypti*: resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v. 1, n. 2, p. 62-73, 2005.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M. F. C.; CASTRO, J. R. F. P. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 303-307, 2007.

BOND, J. G.; MARINA, C. F.; WILLIAMS, T. The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 50–56, 2004.

BRACCO, J. E.; DALBON, M.; MARINOTTI, O.; BARATA, J. M. S. Resistência a inseticidas organofosforados e carbamatos em população de *Culex quinquefasciatus*. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 182-3, 1997.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Saúde divulga novo mapa de infestação pelo mosquito da dengue e lança campanha nacional de combate à doença. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id\\_area=124&CO\\_NOTICIA=11839](http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=11839). Acesso realizado em 16 Nov. 2010.

BRASIL(a). Ministério da Saúde. Ministério da Saúde divulga novo mapa de risco da dengue no Brasil. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2011. Disponível em:

[http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id\\_area=1450&CO\\_NOTICIA=12073](http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=1450&CO_NOTICIA=12073). Acesso em 18 Set. 2011.

BRASIL(b). **Ministério da Saúde**. Mortes por dengue caem 64% no primeiro trimestre do ano de 2011. Disponível em:<  
[http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id\\_area=124&CO\\_NOTICIA=12395](http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=12395). Acesso realizado em 28 Set. 2011.

BRASIL(c). **Ministério da Saúde**. Ministério da Saúde apresenta mapa da dengue no país em 2011. Disponível em:<  
<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/3562/162/ministerio-da-saude-apresenta-mapa-da-dengue-no-pais.html>>. Acesso realizado em 18 Dez. 2011.

BRASIL(a). **Ministério da saúde**. Casos de Dengue. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Disponível em  
[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1525](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1525). Acesso em 20 de Mar. 2012.

BRASIL(b). **Ministério da saúde**. Óbitos por Dengue. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Disponível em  
[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/fhd\\_obito\\_90\\_11\\_10\\_02\\_12.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/fhd_obito_90_11_10_02_12.pdf). Acesso em 20 de Mar. 2012.

BRASIL(c). **Ministério da Saúde**. Casos de dengue caem 61% no primeiro bimestre de 2012. Disponível em:<  
<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4452/162/numero-de-casos-de-dengue-cai-61-no-primeiro-bimestre.html>>. Acesso realizado em 23 Mar. 2012.

BROGDON, W. G.; McALLISTER, J. C. Insecticide Resistance and Vector Control. **Emerging Infectious Diseases**, v. 4, n. 4, p. 605-613, 1998.

BROWN, A. W. A. Pest resistance to pesticides. In: "**Pesticides in the Enviroment**," ed. White-Stevens, v. 1, p. 457-552, 1971.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 232-6, 2001.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Larval susceptibility of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* populations to chemical inseticides. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 523-527, 2003.

CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. S. Avaliação da sensibilidade a inseticidas em mosquitos *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* e *Culex quinquefasciatus* por meio de bioensaios: Protocolo para avaliação de susceptibilidade e monitoramento da resistência a inseticidas químicos usados no controle. 4ª ed. Apêndice 5 In: CAMPOS, J. Análise Citológica de populações de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera, Culicinae). **Tese Doutorado**, Área de Biologia Celular Estrutural, Instituto de Biologia-Unicamp. Campinas-Brasil, 2002. 4.1ª ed, UNICAMP/UFGD, Dourados, 22p, 2011.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; YOSHIZAWA, M. A. C.; DEGALLIER, N.; OLIVEIRA, C.; KNOX, M. B. Susceptibilidade do *Aedes aegypti* ao Inseticida *Temephos* no Distrito Federal, em 2000. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, p. 41-43, 2001.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, p. 623-629, 2004.

CHIREBVU, E.; NZIRA, L. The efficacy and residual life span of two alphacypermethrin insecticide formulations (Fendona 6% suspension concentrate and Fendona Dry 15%) treated on mosquito bed nets. **Central African Journal of Medicine**, v. 46, n. 7, p. 190-194, 2000.

CHONG, A. S. C.; KHOO, K. H.; ALI, A. B. Comparative acute toxicity of Alphacypermethrin, a persistent pyrethroid against juvenile of five fish species. **Malaysian applied biology**, v. 26, n. 2, p. 63-67, 1997.

CLARO, L. B. L.; TOMASSINI, H. B. C.; ROSA, M. L. G. Prevenção e controle do dengue: uma revisão de estudos sobre conhecimentos, crenças e práticas da população. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 6, p. 1447-1457, 2004.

CONSOLI, R. A. G. B; OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: **Fiocruz**. 225p. 1994.

COSTA, C. A. C.; SANTOS, I. G. C.; BARBOSA, M. G. Detecção e tipagem de vírus dengue em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) na Cidade de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 677-681, 2009.

Criteria and meaning of tests for determining susceptibility or resistance of insects to insecticides. In: Insecticide resistance and vector control. Tenth Report of the WHO Expert Committee on Insecticides. Geneva, **World Health Organization**, p. 135–138 (WHO Technical Report Series, 265), 1963.

CUNHA, S. P.; ALVES, J. R. C.; LIMA, M. M.; DUARTE, J. R.; BARROS, L. C. V. Presença de *Aedes aegypti* em Bromeliaceae e depósitos com plantas no Município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, p. 244-5, 2002.

DAVIDSON, G.; ZAHAR, A. R. The practical implications of resistance of malaria vectors to insecticides. **Bulletin WHO**, v. 29, p. 475-483, 1973.

DEGALLIER N.; TEIXEIRA, J. M. S.; CHAIB, A. J. M.; BARBOSA, H. F. Estudos Experimentais sobre Competência Vetorial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* para os Vírus da Dengue e Febre Amarela. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, p. 9-11, 2001.

ESTADÃO. **Dengue causa prejuízo de US\$ 2 bilhões por ano na América, diz estudo.** Disponível em: [http://www.estadao.com.br/noticias/vidae,dengue-causa-prejuizo-de-U\\$-2-bilhoes-por-ano-na-america-diz-estudo,676377,0.htm](http://www.estadao.com.br/noticias/vidae,dengue-causa-prejuizo-de-U$-2-bilhoes-por-ano-na-america-diz-estudo,676377,0.htm). Acesso realizado em 20 Fev. 2011.

FAY, R. W.; ELIASON, D. A. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. **Mosquito News.** , v. 26, p. 531-535, 1966.

FERNANDES, M. F. Avaliação da resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) a inseticidas químicos e biológicos, na cidade de Dourados-MS, Brasil. 2004. 33f. [**Dissertação de Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade**]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dourados, MS.

FERREIRA, I. T. R. N.; VERAS, M. A. S. M.; SILVA, R. A. Participação da população no controle da dengue: uma análise da sensibilidade dos planos de saúde de municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 12, p. 2683-2694, 2009.

FUNASA, **Fundação Nacional de Saúde.** Guia de vigilância epidemiológica. Brasília: FNS; 1998.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; NETO, M. A.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843-847, 2005.

GADELHA D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. **Revista brasileira de malariologia e doenças tropicais**, v. 37, p. 29-36, 1985.

GOMES, A. C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em programas de Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do Sistema Único de Saúde**, v. 7, p. 49-57, 1998.

GOMES, J. P.; PASTRANA, R. M. S.; TEIXEIRA, M. C. P.; SANTOS, C. G. Dengue no Brasil: o que se sabe sobre o impacto econômico da doença? **Medwave**. v. 10, n. 8, 2010.

GÓMEZ-DANTÉS, H.; WILLOQUET, J. R. Dengue in the Americas: challenges for prevention and control. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 1, p. 19-31, 2009.

GOMES, A. C. Vigilância Entomológica. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 11, n. 2, p. 79-90, 2002.

GOVINDARAJAN, M.; MATHIVANAN, T.; ELUMALAI, K.; KRISHNAPPA, K.; ANANDAN, A. Mosquito larvicidal, ovicidal, and repellent properties of botanical extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 109, n. 2, p. 353-67, 2011.

IBGE(a). Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Sinopse município de Maracaju, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=ms>. Acesso em 20 Set. 2011.

IBGE(b). Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Sinopse município de Dourados, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=ms>. Acesso em 20 Set. 2011.

IBGE(c). Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Sinopse município de Naviraí, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=ms>. Acesso em 20 Set. 2011.

IVI – Internacional Vaccine Institute. IVI and Sanofi-Pasteur partner to advance accessibility of dengue vaccines. **News release**. geneva, switzerland, feb. 21. disponível em: [http://www.ivi.org/event\\_news/news\\_view.asp?enid=118](http://www.ivi.org/event_news/news_view.asp?enid=118). Acesso em 12 Out. 2011.

JAWARA, M. Comparison of bednets treated with alphacypermethrin, permethrin or lambda-cyhalothrin against *Anopheles gambiae* in the Gambia. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 12, n. 1, p. 60-66, 1998.

JIRAKANJANAKIT, N.; SAENGTHARATIP, S.; RONGNOPARUT, P.; DUCHON, S.; BELLEC, C.; YOKSAN, S. Trend of Temephos Resistance in *Aedes (Stegomyia)* Mosquitoes in Thailand During 2003–2005. **Environmental Entomology**, v. 36, n. 3, p. 506-11, 2007.

KARUNARATNE, S. H. P. P.; HEMINGWAY, J. Malathion resistance and prevalence of the malathion carboxylesterase mechanism in populations of mosquito vectors of disease in Sri Lanka. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 79, p. 1060–1064, 2001.

LEFEVRE, A. M. C.; LEFEVRE, F.; SCANDAR, S. A. S.; YASUMARO, S.; SAMPAIO, S. M. P. Representações dos agentes de combate ao *Aedes aegypti* sobre a estratégia de retirada do inseticida nas ações de controle do vetor. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 4, p. 359-372, 2003.

LIBORIO, M.; TOMISANI, A. M.; MOYANO, C. B.; SALAZAR, R.; BALPARDA, L. R. Estratégias de prevención de dengue – Rosario, Argentina. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 311-327, 2004.

LIMA, J. B. P.; PEREIRA DA CUNHA, M.; SILVA JR, R. C. S.; GALARDO, A. K. R.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the states of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, v. 68, p. 329-333, 2003.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephós e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 842-3, 2004.

LUZ, C.; ASSIS, V. C.; SILVA, N. R.; SILVA, H. H. G.; Efeito de Biolarvicidas à Base de Bactérias sobre *Aedes spp.* **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, p. 47-48, 2001.

MACKAY, A. J.; AMADOR, M.; DIAZ, A.; SMITH, J.; BARRERA, R. Dynamics of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in septic tanks. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 25, n. 4, p. 409–416, 2009.

MACORIS, M. L. G. Avaliação do nível de susceptibilidade de linhagens de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) aos inseticidas utilizados para seu controle. 2002. **Dissertação (mestrado)** – Faculdade de Medicina de Botucatu, SP.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V. C.; BRACCO, J. E. Resistência de *Aedes aegypti* do estado de São Paulo, Brasil, para inseticidas organofosforados. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 703-708, 2003.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; NALON, K. C. R.; GARBELOTO, V. C.; CALDAS JUNIOR, A. L. Standardization of bioassays for monitoring resistance to insecticides in *Aedes aegypti*. **Dengue Bulletin**, v. 29, p. 176-182, 2005.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; OTRERA, V. C. G.; CARVALHO, I. R.; CALDAS-JUNIOR, A. L.; BROGDON, W. G. Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 8, p. 895-900, 2007.

MARCONDES, C. B. Eficiência de alfacipermetrina e cipermetrina no controle de triatomíneos em Camalaú, no sul da Paraíba (Hemiptera: Reduviidae). **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. , p. 343-347, 1989.

MARINA, C.F.; BOND, J.G.; CASAS, M.; MUÑOZ, J.; OROZCO, A.; VALLE, J.; WILLIAMS, T. Spinosad as an effective larvicide for control of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*, vectors of dengue in southern Mexico. **Pest Management Science**, v, 67, p. 114–121, 2011.

MATO GROSSO DO SUL(a). **Secretaria de Estado de Saúde**. Boletim epidemiológico nº 52 – dengue – semanas 1 a 52 de 2011. Disponível em <[http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=544&id\\_reg=165078&voltar=home&site\\_reg=116&id\\_comp\\_orig=544](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_reg=165078&voltar=home&site_reg=116&id_comp_orig=544)>. Acesso em 25 Jan. 2012.

MATO GROSSO DO SUL(b). **Secretaria de Estado de Saúde** – Diretoria Geral de Unidades de Saúde. SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Notificações e confirmações de casos de dengue e índices Breteau e Predial de Maracaju, Dourados e Naviraí de 2007 a 2012. Acesso em 20 Mar. 2012.

MATO GROSSO DO SUL(c). **Secretaria de Estado de Saúde**. Boletim epidemiológico nº 11 – dengue – semana 12 de 2012. Disponível em <[http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=544&id\\_re](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_re)

g=170807&voltar=home&site\_reg=116&id\_comp\_orig=544>. Acesso em 04 Abr. 2012.

MATO GROSSO DO SUL(d). **Secretaria de Estado de Saúde**. Dengue em Mato Grosso do Sul: lições da epidemia de 2007. Disponível em <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/deciframeoudevorote/files/sabermais/materiais/apresentacao\\_16\\_04\\_07.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/deciframeoudevorote/files/sabermais/materiais/apresentacao_16_04_07.pdf)>. Acesso em 05 Mai. 2012.

MATO GROSSO DO SUL(e). **Secretaria de Estado de Saúde**. Boletim epidemiológico nº 11 – dengue – semana 31 de 2012. Disponível em <[http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id\\_comp=544&id\\_reg=183225&voltar=home&site\\_reg=116&id\\_comp\\_orig=544](http://www.saude.ms.gov.br/index.php?templat=vis&site=116&id_comp=544&id_reg=183225&voltar=home&site_reg=116&id_comp_orig=544)>. Acesso em 30 Ago. 2012.

MAZZARI, M. B.; GEORGHIO, G. P. Caracterização da resistência a organofosforados, carbamatos e piretróides inseticidas em populações de campo de *Aedes aegypti* a partir de Venezuela. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 11, p. 315-322, 1995.

MEDRONHO, R. A. Dengue e o Ambiente urbano. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, n. 2, p. 159-161, 2006.

MENDONÇA, F. A.; SOUZA, A. V.; DUTRA, D. A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. **Revista Sociedade e natureza**, v. 21, n. 3, p. 257-269, 2009.

MIYAZAKI, R. D.; RIBEIRO, A. L. M.; PIGNATTI, M. G.; CAMPELO-JÚNIOR, J. H.; PIGNATI, M. Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 392-397, 2009.

MORENS, D. M.; FAUCI, A. S. A Potential Threat to Public Health in the United States. **Journal of the American Medical Association**, v. 299, n. 2, 2008.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Jornal Biológico**, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

NETO, F. C.; FIORIN, A. M.; CONVERSANI, D. T.; CESARINO, M. B.; BARBOSA, A. A. C.; DIBO, M. R.; MORAIS, M. S.; BAGLINI, V.; FERRAZ, A. A.; ROSA, R. S.; BATTIGAGLIA, M.; CARDOSO-JUNIOR, R. P. Controle do vetor do dengue e participação da comunidade em Catanduva, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 6, p. 1739-749, 2003.

NUNES, ROSANA. Dengue: novos produtos serão utilizados para combater doença em Corumbá. **Diário online de 01 de Setembro de 2010**. Disponível em <http://www.diarionline.com.br/index.php?s=noticia&id=18691>. Acesso em 10 Jan. 2012.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Dengue: guías de atención para enfermos en la región de las Américas. La Paz: OPAS/OMS, Bolívia, 2010.

PEDROSA, J. I. S.; CASTRO, J. Z. A.; MARTINS, T. C. M.; OLIVEIRA, R. N.; MELO, F. O. Indicadores de Risco Ambiental como Dispositivo na Luta Contra Dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, p. 29-31, 2001.

PENNA, L. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 305-309, 2003.

PEREZ, C. M.; MARINA, C. F.; BOND, J. G.; ROJAS, J. C.; VALLE, J.; WILLIAMS, T. Spinosad, a naturally derived insecticide, for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): efficacy, persistence and elicited oviposition response. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, p. 631-638, 2007.

PETTIT, W. J.; WHELAN, P. I.; MCDONNELL, J.; JACUPS, S. P. Efficacy of alpha-cypermethrin and lambda-cyhalothrin applications to prevent *Aedes* breeding in tires. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 26, n. 4, p. 387-97, 2010.

PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 6, p. 1529-1536, 2002.

PROPHIRO, J. S.; SILVA, O. S.; LUNA, J. E. D.; PICCOLI, F. C.; KANIS, L. A.; SILVA, M. A. N. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 300-305, 2011.

ROCHA, L. A.; TAUIL, P. L. Dengue em criança: aspectos clínicos e epidemiológicos, Manaus, Estado do Amazonas, no período de 2006 e 2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 2, n. 1, p. 18-22, 2009.

RODRÍGUEZ, M. M.; BISSET, J.; DE FERNANDEZ, D. M.; LAUZÁN, L.; SOCA, A. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 623-8, 2001.

ROSE, R. I. Pesticides and Public Health: Integrated Methods of Mosquito Management. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 1, 2001.

SCHOOOF, H. F. Insecticides for use against *Aedes aegypti*. **Bulletin World Health Organization**, v. 36, p. 618-622, 1967.

SERVICE, M. W. Importance of ecology in *Aedes aegypti* control. Southeast Asian, **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 23, p. 681-690, 1992.

SHARMA, S. K. Wash-resistance and field evaluation of Alphacypermethrin treated long-lasting insecticidal net (Interceptor) against malaria vectors *Anopheles culicifacies* and *Anopheles fluviatilis* in a tribal area of Orissa, India. **Acta Tropica**, v. 116, n. 1, p. 24-30, 2010.

SHEPARD, D. S.; COUDEVILLE, L.; HALASA, Y. A.; ZAMBRANO, B.; DAYAN, G. H. Economic Impact of Dengue in the Américas. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 2, p. 200–207, 2011.

SILVA, I. G.; SILVA, H. H. G.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; PEREIRA, A. L. RODRIGUES-FILHO, E. Prospecção da Atividade Inseticida de Plantas do Cerrado, visando ao combate do *Aedes aegypti*. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, p. 51-52, 2001.

SUAYA, J. A.; SHEPARD, D. S.; SIQUEIRA, J. B.; MARTELLI, C. T.; LUM, L. C. S.; TAN, L. H.; KONGSIN, S.; JIAMTON, S.; GARRIDO, F.; MONTOYA, R.; ARMIEN, B.; HUY, R.; CASTILLO, L.; CARAM, M.; SAH, B. K.; SUGHAYYAR, R.; TYO, K. R.; HALSTEAD, S. B. Cost of dengue cases in eight countries in the Americas and Asia: a prospective study. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 80, n. 5, p. 846-855, 2009.

SUCEN. **Superintendência de controle de endemias**. Segurança de controle químicos de vetores: Toxicologia de Praguicidas, cap. 5. Disponível em <<http://www.sucen.sp.gov.br/down/segtrb/sequi5.pdf>>. Acesso em: 20 de Janeiro de 2012.

SULAIMAN, S.; KARIM, M. A.; OMAR, B. Field evaluation of alphacypermethrin and lambda-cyhalothrin against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Malaysia. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 11, n. 1, p. 54-58, 1995.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 1, p. 99-102, 2001.

TAUIL, P. L. Aspectos físicos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 867-871, 2002.

TEIXEIRA(a), M. G.; BOISCHIO, A.; COSTA, M. C. N. Ecosystem approaches to controlling of vector-borne diseases: dengue and Chagas disease. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 1, p. 4-5, 2009.

TEIXEIRA(b), M. G.; BOISCHIO, A.; COSTA, M. C. N.; BARRETO, F.; BARRETO, M. L. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 1, p. 7-18, 2009.

VEZZANI D.; RUBIO A.; VELÁZQUEZ S. M.; SCHWEIGMANN, N.; WIEGARD, T. Detailed assessment of microhabitat suitability for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires, Argentina. **Acta Tropica**, v. 95, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides: **WHO-VBC**, n. 81.807, p. 1-6, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Vector Resistance to Pesticides. Geneva, **WHO-Technical Report Series**, v. 818, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. Geneva, Suíça, **WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP**, 2006.