

Monitoramento e Redução da População do Mosquito da Dengue *Aedes Aegypti* Utilizando Fungos Entomopatogênicos: Uma Parceria Entre a Uenf, Núcleo de Controle de Zoonoses e Moradores de São João da Barra – RJ

Anderson Ribeiro ¹

Wellington Sérgio Silva Idalino ²

Adriano Rodrigues de Paula ³

Jose Henrique Mendes Crizostomo ⁴

Leila Eid Imad da Silva ⁵

Jonathan Willian Alves Bastos dos Santos ⁶

Richard Ian Samuels ⁷

¹ Bolsista de Extensão. LEF/CCTA/UENF: andersonribeiro@yahoo.com.br

² Bolsista de Extensão. LEF/CCTA/UENF: welington.sergio@hotmail.com

³ Pós-Doutorando - Orientação dos bolsistas. LEF/CCTA/UENF: biodepaula@yahoo.com.br

⁴ Bolsista de Extensão Universidade Aberta. LEF/CCTA/UENF: jhenrique.jh@gmail.com

⁵ Bolsista de Doutorado – Colaborador. LEF/CCTA/UENF: leila-psique@hotmail.com

⁶ Bolsista de Mestrado – Colaborador. LEF/CCTA/UENF: jonatan_o_kara@hotmail.com

⁷ Coordenador do Projeto de Extensão PROEX/UENF. LEF/CCTA/UENF: richard@uenf.br

Resumo

Os fungos entomopatogênicos são potenciais candidatos para o controle de *Aedes aegypti*. O presente trabalho é uma seqüência de estudos realizados desde 2013 até os dias atuais no município de São João da Barra – RJ (SJB). Os resultados mostrados aqui foram coletados de janeiro a setembro de 2015. Foram selecionadas 30 residências para o trabalho. As

casas estavam dispostas em duplas com distancia de aproximadamente 50 m cada. Totalizando 15 duplas de residências. Em todas as residências foram colocadas duas ovitrampas feitas de vaso de plástico preto de 500 ml com 4 palhetas de eucatex de 10 x 3 cm e 250 ml de água. Uma ovitrampa foi colocada no ambiente intradomiciliar e outra extradomiciliar. Em cada uma das duplas de residências foram colocadas três armadilhas feitas de garrafa PET com pano preto de algodão (100%) impregnado com *Metarhizium anisopliae* (F) formulado com óleo vegetal (V) e óleo isoparafina (I). Essa armadilha foi feita com garrafa PET transparente de 2 l com um corte lateral de 16 x 12 cm e 3 cm de gesso na base para dar estabilidade. O pano preto com FVI foi pendurado com auxilio de um arame na parte superior da armadilha PET. Quinzenalmente as ovitrampas e as armadilhas com fungo foram substituídas das residências. De janeiro a setembro de 2015 foram coletados 196.116 ovos do mosquito *A. aegypti* em SJB. Nesse período a menor quantidade de ovos 38.242 (que representa 19,4%) foi quantificada nas ovitrampas que estavam dentro das residências tratadas com o fungo. O maior número de ovos 60.470 (30,8%) foi contabilizado nas ovitrampas que estavam dentro das casas sem o tratamento com fungo. É provável que a redução da população de *A. aegypti* diminua a transmissão da doença dengue.

Palavras-chave: Campo; *Metarhizium anisopliae*; Controle Biológico.

Introdução

O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor da doença dengue. O aumento da incidencia de dengue tem sido constantemente noticiado pelas principais organizações mundiais de saúde e, atualmente, o aumento de casos de chikungunya e zica, também vetoriado por *A. aegypti*, tem sido amplamente divulgado. A resistência de *A. aegypti* aos inseticidas químicos organofosforados e piretroides foi mostrada vários estudos (Da-Cunha et al., 2005; Montella et al., 2007; Lima et al., 2011) e novas abordagens para o

controle do vetor precisam ser urgentemente investigados. Nosso grupo tem realizado importantes estudos utilizando fungos entomopatogênicos para infecção de *A. aegypti*. No laboratório foi verificado que fêmeas de *A. aegypti* (Paula et al., 2008) e larvas (Pereira et al., 2009) foram suscetíveis ao *Metarhizium anisopliae* ou *Beauveria bassiana*. A combinação de *M. anisopliae* com inseticida químico Imidacloprid (IMI) reduziu significativamente a sobrevivência de fêmeas de *A. aegypti*, comparado com testes feitos somente com fungo (Paula et al., 2011a). Em 2011b Paula et al., observaram que fêmeas de *A. aegypti* alimentadas com sangue foram menos suscetíveis ao *M. anisopliae* comparado com fêmeas alimentadas com sacarose. Posteriormente verificaram que combinar *M. anisopliae* + IMI reduzia a sobrevivência de *A. aegypti* ingurgitadas com sangue (Paula et al. 2013a). Utilizando salas simulando um cômodo residencial Paula et al. (2013b) observaram significativa diminuição da sobrevivência de fêmeas de *A. aegypti* alimentadas com sacarose expostas ao pano preto impregnado com *M. anisopliae* ou com IMI. Carolino et al. (2014) verificaram que conídios de *M. anisopliae* impregnados em pano preto deixados numa varanda coberta por até 18 dias infectavam significativamente fêmeas de *A. aegypti* e, numa simulação de um cômodo residencial, observaram que a combinação de fungo + óleo vegetal + óleo isoparafina aumentava a persistência do fungo e consequentemente taxa de infecção dos mosquitos. Nenhum trabalho no mundo foi feito em condições de campo utilizando fungos para infectar *A. aegypti*. Nosso estudo é inédito, foi avaliado se residências de São João da Barra-RJ (SJB) com armadilhas PET com pano preto impregnado com a formulação de *M. anisopliae* teriam menor quantidade de ovos de *A. aegypti* em ovitrampas, comparado com tratamento controle (residências sem tratamento com fungo).

Material e Métodos

O atual trabalho foi feito no bairro Centro I de SJB. Nos anos de 2013 e 2014 foram realizadas entrevistas com os moradores esclarecendo dúvi-



das sobre a biologia, monitoramento e controle do mosquito *A. aegypti* utilizando fungos entomopatogênicos o que possibilitou a formação de uma rede de voluntários. Testes preliminares também foram realizados. De janeiro a setembro de 2015 trinta residências foram selecionadas para o estudo. As residências foram selecionadas em duplas (uma utilizada para tratamento controle e outra para o fungo). Quinze duplas foram formadas. Cada dupla tinha aproximadamente 50 m de distância. Em todas as residências foram colocadas ovitrampas. Uma dentro da casa (sala de televisão ou sala de jantar) e outra fora (jardim, garagens ou varandas). As ovitrampas (Figura 1 A) foram feitas de vaso de plástico preto de 500 ml com 250 ml de água de torneira e 4 palhetas de eucatex 10 x 3 cm fixadas na borda do vaso com por um elástico. As ovitrampas serviram para quantificar o número de ovos de *A. aegypti* coletado nas residências. O tratamento fungo foi feito utilizando armadilha PET com pano preto (100% algodão) impregnado com *Metarhizium anisopliae* formulado com óleo vegetal e óleo isoparafina 50:50 (FVI). O pano preto foi imerso na formulação de FVI, depois mantido num varal de chão por 24 horas dentro de uma sala do LEF/CCTA/UENF com temperatura e luminosidade ambiente. A armadilha PET foi feita com garrafa transparente de 2 l (Figura 1 B) com um corte lateral de 16 x 12 cm e 3 cm de gesso na base para dar estabilidade. O pano preto impregnado com FVI foi pendurado com auxílio de um arame na parte superior da garrafa. As ovitrampas e as armadilhas PET com fungo foram levadas para SJB, colocadas nas residências e quinzenalmente substituídas. As quantificações de ovos de *A. aegypti* nas palhetas das ovitrampas foram realizadas no laboratório LEF/CCTA/UENF utilizando uma Lupa da marca Labomed®. Após contabilização dos ovos, as palhetas foram lavadas com água corrente, esfregadas com uma bucha e detergente neutro, enxaguadas e autoclavadas. Mensalmente o total de ovos encontrados em cada residência foi enviado para NCZ que direcionou os agentes de saúde para as casas com maior foco de *A. aegypti*. Cada morador foi informado da quantidade de ovos de *A. aegypti* contabilizados na sua residência. O posicionamento das armadilhas (Fi-

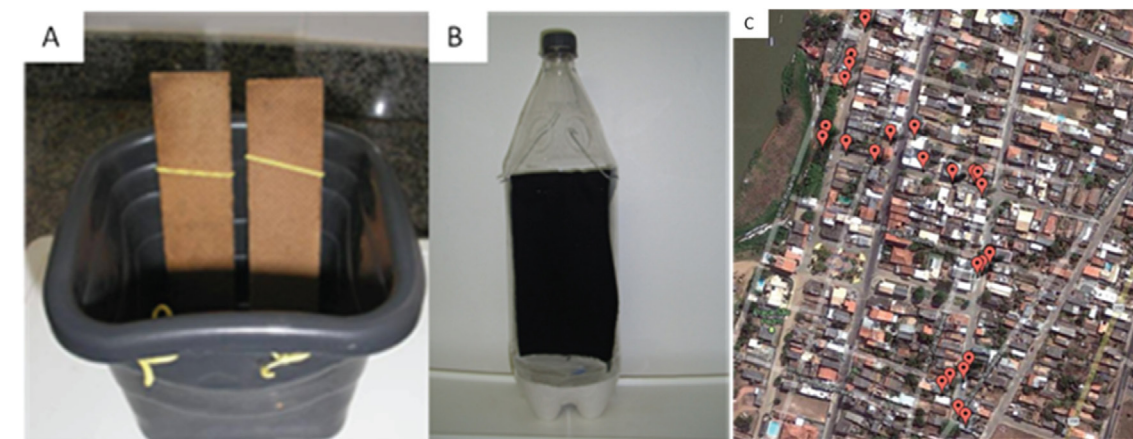


Figura 1: A – Ovitrapa. B – Armadilha PET com pano preto + FVI. C - Localização das residências em SJB onde foram colocadas as ovitrampas e armadilhas PET.

gura 1 C) foi feito usando GPS e foi criado um mapa usando “Google Map” e o programa TrackMaker.

Resultados e Discussão

Os resultados mostrados foram referentes aos testes realizados de janeiro a setembro de 2015. Nesse período foi coletado um total de 196.116 ovos do mosquito *A. aegypti* em SJB. A Figura 2 mostra o número de ovos coletados nos tratamentos feitos nas residências. A menor quantidade de ovos 38.242 (o que representa 19,4%) foi quantificada nas ovitrampas que estavam dentro das casas tratadas com o fungo. O total do número de ovos contabilizados nas ovitrampas extradomiciliares das casas tratadas com fungo 44.548 (22,7%) não diferiu estatisticamente do número de ovos das ovitrampas intradomiciliares no mesmo tratamento ($F_{3, 35} = 17467$; $p < 0,01$). O maior número de ovos 60.470 (30,8%) foi contabilizado nas ovitrampas colocadas dentro das casas sem o fungo. Apesar de muito pesquisada ainda não está disponível uma vacina para doença dengue, chikungunya e zica, com isso novas estratégias de controle do vetor *A. aegypti* são urgentemente necessárias. Fungos entomopatogênicos parecem ser promissores para redução da população de mosquitos. Vários



estudos têm observado a redução da população do mosquito vetor da malária *Anopheles* em condições de semicampo ou campo. Scholte et al., 2005 demonstraram significativa redução de *An. gambiae* num vilarejo da Tanzânia na África após fixar panos pretos impregnados com *M. anisopliae* em habitações humanas. O uso de reservatórios de água impregnados com *M. anisopliae* foi eficaz para diminuição de *An. gambiae* e *Anopheles funestus* (Farenhorst et al., 2008). Darbro et al., 2012 mostrou a redução da sobrevivência de *A. aegypti* em condições de semicampo. Nosso grupo mostrou pela primeira vez utilizando uma gaiola grande que um pano preto impregnado com fungo reduziu significativamente a sobrevivência do mosquito *A. aegypti*, comparado com tratamento controle (Paula et al., 2008). Depois numa sala grande simulando um cômodo residencial foi observada a diminuição da sobrevivência de mosquitos *A. aegypti* expostos a panos pretos impregnados com fungo ou formulados com IMI (Paula et al., 2013a; Carolino et al. 2014).

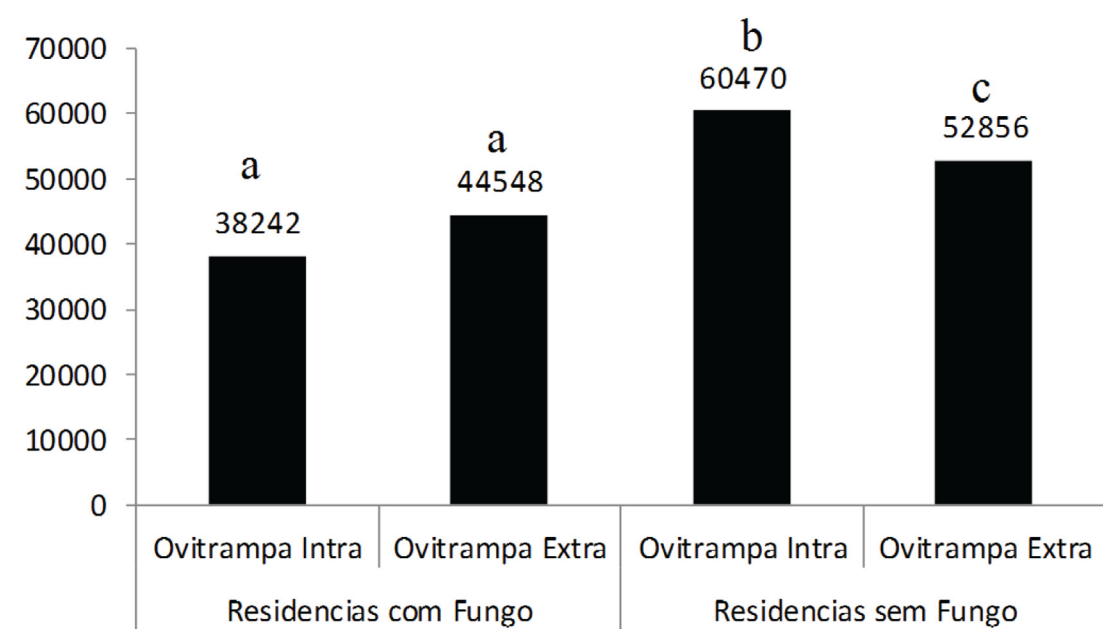


Figura 2: Número de ovos contabilizados nos tratamentos feitos em SJB. Letras diferentes significam que o valor diferiu significativamente dos demais valores quando comparados usando o teste post-hoc de Duncan (5% probabilidade). Intra: dentro das residências. Extra: fora das residências.

A armadilha feita de garrafa PET com pano preto + fungo tem potencial para ser utilizado em programas de controle do mosquito da dengue, reduzindo a população desse vetor, podendo ser distribuída para grandes redes de voluntários. Certamente mais testes precisam ser realizados, esse foi um estudo preliminar.

Conclusões

- As ovitrampas foram eficazes para verificação de ovos de *A. aegypti* em SJB.
- Residências de SJB tratadas com PET com pano preto + fungo tiveram menor taxa de ovos do mosquito da dengue, comparado com ensaios controles.

Agradecimentos

À Coordenação de Extensão PROEX/UENF pela concessão bolsas. À FAPERJ E-26/102.860/2011. À prefeitura de SJB e aos funcionários do NCZ. À comunidade de SJB que colabora com o projeto.

Referências

Carolino, A. T., Paula, A. R., Silva, C. P., Butt, T. M. Samuel, R. I. (2014) Monitoring persistence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* under simulated field conditions with the aim of controlling adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Parasites and Vectors. 3(7): 2 – 7.

Da-Cunha M. P., Lima J. B., Brogdon W. G., Moya G. E., Valle D. (2005) Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* populations collected between 2001 and 2003.



Farenhorst M., Farina, D., Scholte, E. J., Takken, W., Hunt, R. H., Coetzen, M., Knols, B. G. J. (2008) African Water Storage Pots for the Delivery of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* to the Malaria Vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 78 (6): 910–916.

Lima, E. P., Paiva, M. H. S., Araújo, A. P., Silva, E. V. G., Silva, U. M., Oliveira, L. N., Santana, A. E., Barbosa, C. N., Neto, C. C. P., Goulart, M., Wilding, C. S., Ayres, C. F. J., Santos, M. A. V. N. (2011) Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. Parasites & Vectors. 4 (5): 2-12.

Montella I. R., Martins A. J., Viana-Medeiros P. F., Lima J. B., Braga I. A., Valle D (2007) Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 77: 467-477.

Paula, A. R., Paula, A. R., Carolino, A. T., Silva, C. P., Samuels, R. I. (2013a) Efficiency of fungus impregnated black cloths combined with Imidacloprid for the control of adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Letters in Applied Microbiology. 1 (7): 157-163.

Paula, A. R., Paula, A. R., Carolino, A. T., Silva, C. P., Samuels, R. I. (2013b) Testing fungus impregnated cloths for the control of adult *Aedes aegypti* under natural conditions. Parasites & Vectors. 6 (256): 2-6.

Paula, A. R., Carolino, A. T., Paula, C. O., Samuels, R. I. (2011a) The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide Imidacloprid increases virulence against the Dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Parasites & Vectors 4(8): 2-8.

Paula, A. R., Carolino, A. T., Silva, C. P., Samuels, R. I. (2011b) Susceptibility of adult females *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to the entomopathogenic

fungus *Metarhizium anisopliae* is modified following blood feeding. Parasites & Vectors. 4 (91): 2-7.

Paula, A. R., Brito, E., Pereira, C., Carrera, M.P., Samuels, R.I. (2008) Susceptibility of adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to infection by *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*: Prospects for Dengue vector control. Biocontrol Science Technology. 18: 1-21.

Pereira, C. R., Paula, A. R., Gomes, S. A., Pedra Jr, P. C. O, Samuels, R.I. (2009) The potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* isolates for the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larval. Biocontrol Science and Technology. 19: 1-6.

Scholte, E., Ng`habi, K., Kihonda, J., Takken, W., Paaijmans, K., Abdula, S., Killeen, G. F., Knols, B. G. J. (2005) An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. Science. 308: 1641– 642.

