

# A Resistência de Piolhos aos Inseticidas Químicos e Avaliação de uma Amostra Shampoo Piolhida

Campinas, março de 1998

Carlos Fernando S. Andrade & Luciana U. dos Santos  
Depto. de Zoologia, IB – UNICAMP.

Publicados principalmente no final da década de setenta e início da de oitenta, trabalhos relatando a suspeita de falha nos tratamentos por produtos a base de Lindane ou Piretrinas preocupavam na época, e a busca por novas opções já havia começado.

Piolhos alimentam-se exclusivamente do sangue de seus hospedeiros, e excluindo-se algumas drogas administradas oralmente (e.g. Cotrimazol), os agentes piolhidas têm ação por contato. Nesse sentido várias questões precisam ser levadas em consideração no sentido de se desenvolver novas fórmulas e de avaliá-las.

São apresentados também os resultados da avaliação de uma amostra piolhida, cujo segredo de fórmula foi solicitado pelo fabricante.

## **1. A Resistência à Piolhidas e sua Avaliação.**

Classicamente, resistência em insetos é entendida como sobrevivência à concentrações ou doses de um produto que deveriam causar mortalidade total. E cabe lembrar que quando não se conhece a quantidade de produto que realmente entrou em contato com o inseto alvo, devem-se analisar os resultados em termos de Concentração. Se a quantidade de produto em contato ou em alguns casos ingerida for conhecida, os resultados podem ser expressos em termos de Dose. De qualquer forma, para se discutir resistência ou não, é imperativo se conhecer que

concentração seria essa, necessária e suficiente para causar mortalidade total. Em alguns casos, como no controle das larvas de borrachudos em riachos, por exemplo, e no caso dos piolhos, um segundo fator passa a ser importante: o tempo de contato dos insetos com os agentes letais. Assim, baixas concentrações de larvicidas, gotejados por longos períodos de tempo nos riachos (20 a 60 min), podem matar mais larvas de borrachudos do que altas concentrações aplicadas por digamos um minuto. Com relação aos piolhidas, Dr. Maunder, por ocasião da V Conferência Britânica de Controle de Pragas em 1977 foi bastante enfático nessa questão do tempo de exposição. Aparentemente irritado com o que ele denominou “*taboo syndrome*”, referiu-se à exacerbação mostrada por professores e enfermeiras à crianças piolhentas como tão insólita quanto ao “faz de conta” que piolhos não existem. Na tentativa de mostrar que piolhos de certa forma devem ser aceitos como uma realidade nas crianças, e que shampoos não irão nunca funcionar bem contra piolhos, faz uma analogia com um hipotético tratamento contra baratas. Literalmente ele propõe: “*Pegue uma centena de baratas boas e grandes, coloque sobre as costas de cada, uma gota de uma dose letal de um inseticida apropriado. Espere exatos dois minutos e então cuidadosamente, mas vigorosamente, lave e limpe cada inseto em água morna com sabão. Enxágüe, seque, e então libere os insetos para repousarem sobre alimento em abundância*”. E pergunta: “*Você esperaria que uma proporção, talvez uma alta proporção, iria sobreviver à essa dose supostamente letal?*”

Em 1963 o Comitê de Especialistas da OMS adotou, como uma aproximação ou tentativa de trabalho, o critério de que uma dose ou concentração duas vezes o valor daquela que matava todos os insetos de uma população susceptível, deveria ser a linha base para se avaliar resistência. A idéia era a de se ter um patamar em termos de concentração, que permitisse suspeitar ou não de resistência. Em 1974, outra publicação da OMS (*Instructions for Determining the Susceptibility or Resistance of Body Lice and Head Lice to Insecticides*) indica que a concentração teste deve ser baseada na concentração letal para 99,9%, da

linha de regressão estabelecida nos testes. Importante notar, que os desvios para os pontos dessas curvas de regressão entre o log das doses e o probit da porcentagem de mortalidade, são tanto maiores quanto mais se aproximam das extremidades. Assim, as  $DL_{50}$  têm desvios pequenos e são mais confiáveis, enquanto as  $DL_1$  ou  $DL_5$  e  $DL_{95}$  ou  $DL_{99}$  têm desvios grandes e são pouco confiáveis. Alternativamente, essa publicação da OMS indica que se pode fazer uma aproximação usando-se a menor concentração que consistentemente permite 100% de mortalidade em 4 testes consecutivos.

A grande variedade de testes possíveis com piolhos (tratada no relatório anterior), tem levado a uma dificuldade natural na comparação de resultados e no estabelecimento de patamares de susceptibilidade e resistência, e pesquisadores no mundo todo acabam omitir uma discussão à respeito, ou mesmo assumir uma coisa ou outra, mais dependentemente de sua impressão sobre o assunto. Como exemplo, pode-se mencionar o trabalho de Mazas e colaboradores (1985) sobre a Permetrina. Mencionam que no Egito, um talco a 0,5% permitiu 100% de controle em pessoas com o piolho do corpo. Uma loção a 1% (por 5 minutos) causou 100% de mortalidade também em piolhos do corpo da linhagem de laboratório mantida sobre coelhos. No seu trabalho sobre um ensaio clínico, os pesquisadores indicam que o tratamento com a loção a 1%, pelo dobro do tempo (10 minutos), não permitiu mortalidade total (97,6%) em piolhos da cabeça, mas quando esse tratamento foi aplicado em um segundo grupo, por um período maior (duas horas!), a mortalidade foi total. Evidentemente esses pesquisadores não comentam a questão de resistência, pois os dados não são comparáveis. Vale mencionar também que esse ensaio foi feito com dez crianças por grupo. Nas crianças tratadas por dez minutos, enquanto para nove delas o controle foi total (100%), para a décima, o controle foi de 76%. Esse resultado pode ser interpretado de duas maneiras, ou houve falha no tratamento de uma das crianças, ou realmente ela portava 11 piolhos resistentes entre um total de 46 (24%).

Quando a resistência ao Lindane foi inicialmente registrada na Inglaterra por Maunder em 1971, aparentemente já devia ocorrer há duas décadas. Alguns pesquisadores, no entanto criticam as avaliações de Maunder, argumentando que em outros países, que na época usavam também extensivamente essa molécula, não tinha sido registrada resistência. Apenas em 1978 Blommers & Van Lennep registraram resistência ao Lindane na Holanda. As críticas a Maunder ainda, indicam que esse autor teria falhado ao fazer os testes, pois obteve uma alta mortalidade no controle. Como estes testes foram baseados no padrão da OMS, os piolhos coletados por Mauder em crianças e mantidos com alimentação em antebraços barbeados, ficaram expostos a papel impregnado por 24 horas (26°C e 70% UR) e sob um jejum tido como “necessário” no protocolo. Realmente era de se esperar alta mortalidade mesmo entre os piolhos não tratados. Blommers & Van Lennep desenvolveram estudos clínicos e testes *in vitro* com Lindane para consubstanciar a resistência. Nos estudos com crianças obtiveram apenas 75% de controle entre 1 a 2 dias após a 2ª aplicação de Lindane (1% em álcool, duas aplicações com uma semana de intervalo). Seus testes clínicos foram questionados por não terem tratado os familiares. Nos testes *in vitro* com piolhos confinados em papel de filtro, obtiveram para 43 experimentos uma mortalidade média no controle de 26 e 31%, respectivamente para adultos criados a partir de ninfas e adultos coletados. Realmente muito alta. Seus testes foram criticados ainda por usarem poucos piolhos coletados de cada localidade, e 10 piolhos por concentração em duas a 4 repetições. Ainda para o Lindane, os piolhos da linhagem de laboratório apresentam uma  $CL_{50} = 0,03\%$ . Apesar das críticas, os testes de Blommers mostram para adultos e ninfas  $CL_{50}$  respectivamente de 0,9 e 1,4% (30 a 46 vezes maiores).

Em 1986 a Associação Americana de Pediculose (NPA, Newton, Mass.) anunciou ter financiado um estudo sobre seis pediculicidas americanos, pela primeira vez feito com piolhos da cabeça coletados no campo, e não com o piolho púbico ou o do corpo criado no laboratório. Ao comentar os resultados obtidos, de

que todos os produtos foram *efetivos*, a NPA salienta que os autores usaram esse termo no seu “senso amplo” e que de fato, os resultados indicavam uma ampla margem de efetividade. As elevadas mortalidades obtidas em alguns casos, segundo a NPA, não deveriam ser esperadas quando do uso doméstico desses produtos, que envolve questões de erro no tratamento como a pressa, ansiedade ou falha por parte do usuário em seguir as recomendações do rótulo. Ainda, os resultados de alta eficiência desses produtos no laboratório merecem realmente cautela, uma vez que a metodologia adotada estabelece que os piolhos permaneceram “*in contact with the product until death*”, o que obviamente não acontece sob as condições de uso. De qualquer forma, os resultados dessa avaliação permitiram à NPA indicar como melhor opção a Loção Prioderm, a despeito de sua desvantagem cosmética. Ironicamente, dois anos antes o mercado americano era amplamente dominado pelos produtos a base de piretrinas (68%) e Lindane (30%). Prioderm, devido a não ter conquistado o mercado nem a aceitação de médicos, não deu lucro e foi na época removido do comércio. Interessante notar que quando Prioderm foi avaliado em 531 crianças de Taiwan, sua eficiência ficou entre 52 e 74%.

## **2. Avaliação de uma Amostra Shampoo Piolhícida**

### **Material e Métodos**

A Amostra F (Lote 126-20/97) foi avaliada quanto a sua ação tóxica letal, para quatro períodos após a aplicação. Piolhos *Pediculus capitis* foram coletados em meados de março do corrente ano, de uma população de escolares do bairro Jardim São Marcos, Campinas, SP. Cerca de 28 adultos e 10 ninfas de últimos estádios foram acondicionadas em cada uma de 6 unidades experimentais, compostas de placas de petri plásticas Corning com 3,5 cm de diâmetro, e contendo 1/6 de uma rede de nylon de prender penteados. Foram utilizadas 4 dessas unidades para tratamento e duas como testemunha. Os piolhos foram

deixados para alimentar por 40 minutos, sobre braços humanos, antes do tratamento.

A aplicação do shampoo seguiu o pressuposto nas recomendação de uso. As placas do tratamento foram inicialmente submersas em uma solução aquosa a 6,6% do shampoo (1:15 v/v), a 28<sup>0</sup>C, por 10 minutos, com agitação manual constante. Seguiu-se dois enxágües por meio minuto cada em água de torneira. Foram então tratadas uma segunda vez, em nova solução de shampoo (6,6%) por 10 minutos, com agitação, e novamente enxaguadas duas vezes em água de torneira (meio minuto cada). As placas testemunha passaram por duas imersões em água (10 minutos cada) e pelos 4 enxágües. Após esse tratamento, as placas foram abertas e as redes de nylon com os piolhos colocados sobre papel de filtro para se retirar o excesso de água. Nessa ocasião, foi anotado o número de piolhos desprendidos das redes, e todos voltaram a ser colocadas em placas limpas e mantidas em sala climatizada a 28<sup>0</sup>C e 70% de umidade relativa.

Foram feitas avaliações de piolhos mortos (sob lupa esterescópica) ou soltos das placas para 4 períodos após o término da segunda aplicação: uma, cinco, nove e dezesseis horas após a aplicação (hAA). Os piolhos foram alimentados por cerca de 50 minutos, sobre braços humanos, nas três últimas avaliações.

## **Resultados e Discussão**

Logo ao final da segunda aplicação havia apenas uma ninfa solta dos fios de nylon em uma das repetições do tratamento e um adulto solto em uma repetição da testemunha. Esses indivíduos foram colocados novamente nos fios de nylon e mantidos juntos com os demais de seus grupos. O número médio de adultos ou ninfas soltas para as 4 avaliações após o tratamento é indicado na Tabela 1.

Tabela 1. Quantidade média de adultos ou ninfas encontradas soltas dos fios de nylon nas unidades de ensaio tratadas ou testemunha para quatro períodos após a aplicação.

		1 hAA	5 hAA	9 hAA	16 hAA
Tratamento	Ninfas	0,25	1,0	0,0	0,75
	Adultos	2,7	3,75	0,75	4,0
Testemunha	Ninfas	0,0	0,5	0,0	1,0
	Adultos	0,5	5,5	0,5	3,0

A presente amostra avaliada mostrou não ter aparentemente ação sobre o desprendimento de adultos e ninfas de últimos estádios, tanto considerando-se seu efeito imediatamente após o tratamento, como nas avaliações. Não foi, portanto possível qualquer relação entre tratamento e controle, para adultos ou ninfas encontradas soltas dos fios, nas 4 avaliações após a aplicação.

A porcentagem média de mortalidade encontrada para as 4 repetições do tratamento foi baixa para a avaliação 1 hAA (8,02%, DP=4,0), e manteve-se praticamente assim até a última avaliação, 16 hAA (8,62%, DP 4,3). Não houve qualquer mortalidade entre os piolhos das duas repetições mantidas como testemunha. A Figura 1 apresenta de forma gráfica a porcentagem média de mortalidade e seus desvios para as 4 repetições do tratamento com o shampoo piolhícida.

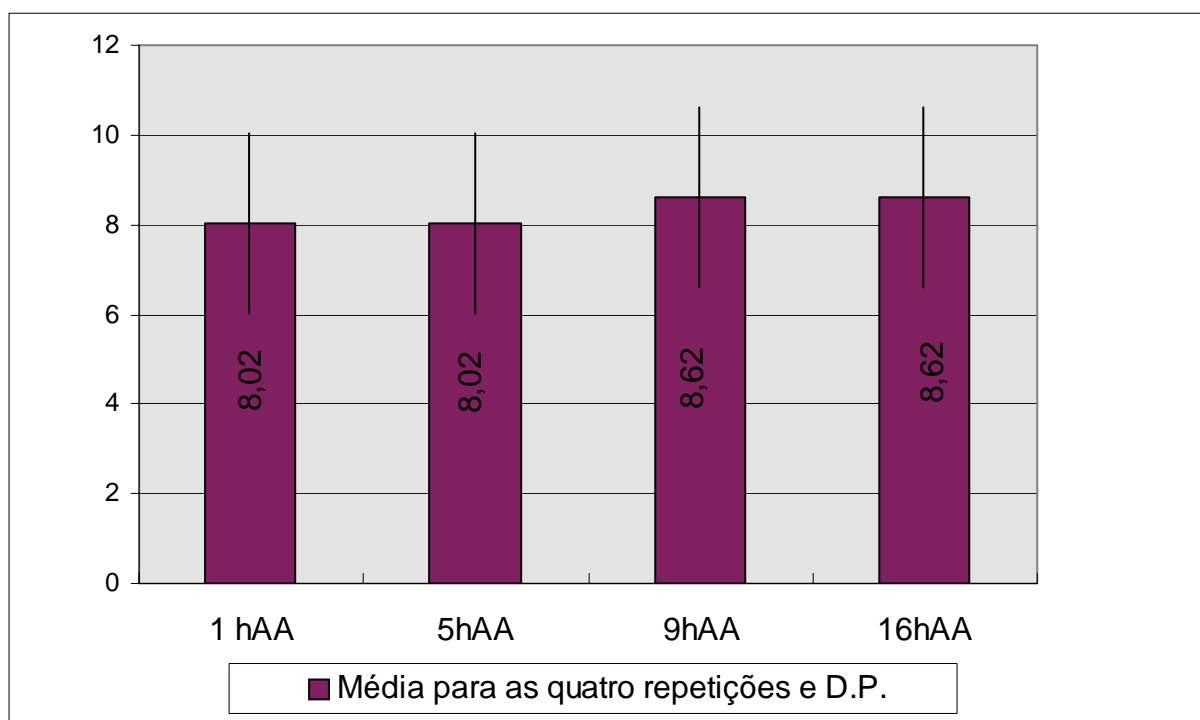


Figura 1. Porcentagem média e desvios para 4 repetições do tratamento com shampoo piolhícida (amostra F), após 4 períodos da aplicação.

No sentido de se verificar a confiabilidade em se trabalhar com três ou mesmo duas repetições por tratamento em ensaios com essa metodologia, foram calculadas as médias e desvios para os resultados da avaliação final (16 hAA), considerando-se os três possíveis arranjos entre as quatro repetições (R1, R2, R3; R2, R3, R4 e R1, R3, R4), bem como para os seis possíveis arranjos entre duas das repetições (R1,R2 ; R1,R3 ; R1,R4 ; R2,R3 ; R2,R4 e R3,R4). A Tabela 2 mostra os resultados obtidos.

Tabela 2. Médias e desvios para a porcentagem de mortalidade final (16 hAA) considerando-se as quatro repetições e possíveis arranjos entre três e duas das repetições do tratamento com shampoo piolhícida Fórmula F.

	R 1-4	R1,2,3	R2,3,4	R1,3,4	R1,2	R1,3	R1,4	R2,3	R2,4	R3,4
Média	8,6	10,5	7,1	8,8	10,6	11,8	7,9	9,3	5,4	6,6
DP	4,3	2,5	3,9	5,3	3,5	1,8	7,2	1,6	3,7	5,4

Pode-se observar que de maneira geral que o resultado dos arranjos entre três das repetições aproxima-se mais do obtido para todas as 4 repetições, apresentando desvios comparáveis. Os arranjos entre duas repetições, no entanto, embora permita de maneira geral também uma boa imagem da eficiência do produto, em alguns casos seriam de menor confiabilidade devido a um desvio padrão maior. Tal é o caso das duplas R1,R4 e R3,R4. Os outros 4 arranjos de duas repetições por sua vez, representam bem o encontrado quanto todas as repetições são consideradas, apresentando em geral desvios menores.

### **Conclusões**

O shampoo Amostra F (Lote 126-20/97) mostrou sob condições de laboratório um desempenho piolhicide muito fraco quando avaliado contra adultos e ninfas de *Pediculus capitis* obtidos no campo, após duas aplicações (6,6% v/v) de 10 minutos cada, para até 16 horas após a aplicação.

Não foi possível qualquer correlação entre o tratamento com o shampoo e a quantidade de piolhos soltos do substrato de fios de nylon.

A utilização de três ou mesmo duas repetições, com cerca de 38 adultos e ninfas cada, é de maneira geral aceitável em ensaios com essa metodologia.

