

# **Resistência dos Piolhos aos Inseticidas Químicos – Mecanismos, Detecção, Monitoramento e Manejo**

Campinas, março de 1999

Carlos Fernando S. Andrade & Luciana Urbano dos Santos  
Depto. de Zoologia, IB - UNICAMP

## **INTRODUÇÃO**

O ser humano tem lançado mão de uma enorme gama de substâncias químicas para garantir seus alimentos, sua saúde e seus interesses. Por outro lado os seres vivos vêm ao longo de todo o processo evolutivo aprendendo a superar substâncias tóxicas, pelo maravilhoso processo de seleção e adaptação. Bactérias apresentam hoje resistência praticamente a todos os grupos de antibióticos. Ervas daninhas desenvolvem resistência aos herbicidas, e o homem desenvolve cultivares de interesse econômico também com essas características. Moluscos, vermes intestinais, protozoários causadores de doenças, ácaros... e claro, principalmente os insetos. Até tumores desenvolvem resistência à quimioterapia usada no seu controle. Se assim é, só nos restam um aprofundamento na dinâmica desses fenômenos e o desenvolvimento de estratégias que nos permita um manejo adequado dessas pragas.

### **1. A resistência e testes para sua detecção.**

O Comitê de Especialistas em Inseticidas da Organização Mundial da Saúde tem se reunido e produzido importantes relatórios sobre a questão da resistência, na Forma de Informes Técnicos. Especificamente, esses relatórios são sobre a resistência de vetores e reservatórios de doenças aos inseticidas mais comumente utilizados. Assim, até o final da década de setenta, eram registradas mais de 100 espécies de vetores resistentes de alguma forma. No geral, até 1984 eram registradas 447 espécies de insetos e ácaros resistentes. A resistência do piolho corpóreo nessa época era conhecida para o DDT e o HCH (Lindane) em várias partes da África, como Burundi,

Egito e Etiópia. O piolho capitis foi pela primeira vez registrado pelo comitê como resistente ao DDT na Dinamarca, França, Hungria, Inglaterra e África do Sul, e resistente ao HCH no Canadá, Estados Unidos e Inglaterra. Nos últimos anos esses números aumentaram ainda mais, seja pelo avanço das técnicas de detecção, ou seja pelo surgimento de resistência cruzada a princípios utilizados anteriormente e hoje abandonados.

As provas ou ensaios classicamente recomendados pela OMS foram sempre baseadas em saquinhos com o pó de DDT ou HCH, ou nas tiras de papel impregnadas com uma dose diagnóstico de Malathion (WHO/VBC/75.585). O comitê recomendou, que laboratórios com condições, deveriam preparar seus próprios papéis, seguindo-se o procedimento de Busvine-Nash (1953). Ao comparar os ensaios entre o piolho corpóreo e o capitis, o Comitê indica que esses últimos são muito mais difíceis considerando-se o trabalho em se obter um número adequado de exemplares e devido à própria fragilidade do piolho capitis, que sofre de inanição em pouco tempo, provocando alta mortalidade no grupo controle destes testes.

Mais recentemente, provas bioquímicas têm sido desenvolvidas e fortemente recomendadas para o estudo de populações resistentes tanto sob condições de laboratório como de campo.

As provas em papel da OMS (WHO, 1975), são criticadas por vários pesquisadores que atribuem a elas as seguintes características: 1)- Apenas um inseticida pode ser avaliado por inseto, 2)- Na ausência de uma concentração discriminativa, uma grande quantidade de insetos são necessários para se estabelecer as linhas de probite. E sem isso, um baixo nível de resistência não pode ser detectado, 3)- Quando se tem uma concentração discriminativa, ela poderia estabelecer de qualquer forma a presença ou não de resistência em uma amostra pequena. No entanto, se o inseto apresentar grande variabilidade entre populações, essa concentração só teria valor para uma população local e 4-) Devido à fatores como a deterioração do papel por exemplo, a resistência poderia ser falsamente detectada quando houver qualquer sobrevivência. Para se confirmar uma suposta baixa

resistência portanto, seria necessário criar uma progênie dos insetos testados e avaliar novamente.

Os modernos testes bioquímicos podem ter grandes vantagens, especialmente se um kit de campo puder ser montado com as seguintes características: 1) Com um método que detecte a resistência e permita conclusões sobre o mecanismo envolvido, 2) Permita a análise em um único inseto ou poucos. Frequentemente é necessário o trabalho com amostras muito pequenas e nesse caso seria interessante que a unidade estatística fosse um único indivíduo (ou poucos), 3) Deveria permitir até várias provas em um único exemplar de inseto, uma vez que mesmo os testes bioquímicos são relativamente específicos para o mecanismo de resistência, 4) Deve ser rápido e preciso, 5) Deve ser prático e não muito caro, para poder ser usado em países pobres, 6) Deve poder ser adaptado para diferentes espécies. Esse conjunto de características nem sempre é possível ser obtido, no entanto vários trabalhos tem indicado métodos que grandemente reúnem essas características para a detecção de resistência em pulgões (Devonshire et al., 1986, 1992), mosquitos (Brogdon, 1984; Brogdon & Dickinson, 1983, Hemingway & Georghiou, 1983; Pasteur & Georghiou, 1981, Pasteur, et al., 1984, Rees et al., 1985; Villani et al., 1983) ou borrachudos (Kurtak & Ouedraogo, 1984; Andrade & Castello Branco Jr., 1990).

### **3. Mecanismos e a genética da resistência**

A maioria dos inseticidas usados no controle dos piolhos podem ser colocados em quatro categorias: 1) Organoclorados, como o DDT, o Lindane e similares (dieldrin), 2) Organofosforados como o malathion, 3) Carbamatos, como o carbaryl e 4) Piretrinas e Piretróides como a permetrina e a tetrametrina. De modo geral, o modo de ação dos inseticidas dentro de uma dessas classes é semelhante, de forma que se, por exemplo, um inseto desenvolve resistência ao malathion, também será resistente à maioria dos organofosforados. Essa resistência é chamada de *Cruzada*. Quando o inseto é resistente a princípios ativos em diferentes classes, a resistência é chamada de

*Múltipla.* Compreender a modo de ação dessas classes de inseticidas tem ajudado muito o manejo da resistência. Assim, tanto quanto as mais fortes substâncias tóxicas naturais (como a toxina tetânica, ou a do botulismo), a maioria dos inseticidas também se caracteriza por atuar no sistema nervoso. Organoclorados e piretróides interferem na condução elétrica ao longo dos neurônios, aparentemente perturbando o balanço do sódio e impedindo que os axônios restabeleçam seu equilíbrio de cargas após a condução de um estímulo nervoso. Organofosforados e carbamatos são inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) e perturbam as terminações nervosas (sinapses) colinérgicas. Após uma fibra colinérgica transmitir a outra a mensagem por meio da acetilcolina (Ach), a enzima AChE é indispensável na região sináptica para “retirar” o mediador e permitir a passagem de novo estímulo quando ele for novamente liberado. Os inseticidas dessas classes agem como substrato competidor pela enzima AChE ligando-se a ela e não se desligando mais (ou fazendo-o muito lentamente). A falta da enzima nas terminações colinérgicas aumenta os níveis de Ach e leva o animal à morte pela disfunção do sistema nervoso.

Os mecanismos primários de resistência em insetos e ácaros podem ser caracterizados como se segue:

| <b>Mecanismo</b>   | <b>Tipo de inseticida</b>  |
|--|--|
| 1. Comportamental<br>1.1. Uma percepção aumentada para a presença do inseticida, que leva o inseto a evitá-lo.                                       | Vários inseticidas   |
| 2. Detoxificação Aumentada (Enzimas)<br>2.1. Dehidroclorinase<br>2.2. Microsomo-oxidase<br>2.3. Glutation transferase<br>2.4. Hydrolases e Esterases | DDT<br>Carbamatos, piretróides e fosforotioatos<br>Organofosforados ( <i>O</i> -dimetil)<br>Organofosforados |
| 3. Diminuição da sensibilidade do sítio alvo<br>3.1. da Acetilcolinesterase<br>3.2. no nervo ( $K_{dr}$ )<br>3.3. Genes ciclodienos-resistente       | Organofosforados e Carbamatos<br>DDT e piretróides<br>Organoclorados ciclodienos                             |
| 4. Diminuição da penetração cuticular  | A maioria dos inseticidas  |

Existem poucos padrões relativos ao desenvolvimento de resistência, no entanto alguns fenômenos mais comuns podem ser notados quando se compara a enorme gama de insetos sujeitos ao controle químico pelo homem. Algumas espécies de artrópodos parecem ter mais capacidade natural para desenvolver resistência, como alguns ácaros, a mosca doméstica e o piolho por exemplo. Outras não. Assim a resistência naquelas espécies pode surgir em cerca de 10 a 15 gerações em alguns casos (cerca de um ano para piolhos), enquanto que para outras espécies parece nunca surgir. A resistência parece ser mais freqüente e se desenvolver rapidamente em espécies de níveis tróficos mais baixos do que nas dos níveis mais altos, e desenvolve-se também mais rapidamente em espécies tratadas em áreas geográficas mais amplas do que nas distribuídas em pontos localizados. De qualquer forma, dada a propensão genética de desenvolver resistência em uma espécie, isso ocorrerá mais rapidamente em função da freqüência e dominância dos genes envolvidos e da pressão de seleção. O quadro a seguir resume algumas das características mais importantes na determinação da velocidade com a qual uma dada espécie de inseto pode desenvolver resistência.

#### FATORES QUE INFLUENCIAM O SURGIMENTO DE RESISTÊNCIA EM UMA POPULAÇÃO

| GENÉTICOS  |
|--|
| 1. Presença dos genes de resistência ( <b>R</b> ) e genes complementares (potencial genético característico de cada espécie) |
| 2. Freqüência dos genes <b>R</b>   |
| 3. Número e combinações de genes <b>R</b> envolvidos   |
| 4. Grau de resistência conferida por um gene <b>R</b> , ou pela combinação de genes <b>R</b>                                 |
| 5. Carater dominante ou recessivo do gene <b>R</b>   |
| 6. Adaptabilidade dos genótipos <b>R</b>   |
| OPERACIONAIS   |
| 1. Pressão de Seleção  |

- 1.1. Proporção da população exposta às concentrações seletivas
- 1.2. Gerações expostas
- 1.3. Mortalidade (e esterilidade dos sobreviventes)
2. Fases expostas [ovo, larva (ninf), adultos, antes ou após acasalamento e postura]
3. Inseticidas usados
4. Formas de aplicação (via e tempo de exposição, efeito residual ou não)
5. Exposição prévia a outros inseticidas

### BIOLÓGICOS E ECOLÓGICOS

1. Número de gerações por ano
  2. Isolamento relativo das populações (nível de endogamia, dispersão, migração)
  3. Tamanho, índice de crescimento e estrutura da progênie (potencial reprodutivo)
  4. Variações sazonais e espaciais no ambiente
  5. Seleção natural: intensidade, tipos e flutuações (como co-adaptação) dos genótipos
- R.**

Considerando-se o histórico das tentativas em se controlar os piolhos nas últimas décadas, pode-se observar que vários aspectos operacionais e bio-ecológicos apresentados acima, estão a favor de um rápido desenvolvimento de resistência em piolhos.

#### **4. O Monitoramento e o Manejo da Resistência.**

O monitoramento da resistência tem sido considerado fundamental para se fazer o manejo de insetos daninhos. Clássico exemplo disso foi o estudo nos Estados Unidos sobre a resistência da lagarta do algodão *Heliothis virescens* à permetrina (Staetz, 1985). Os programas de monitoramento em geral se baseiam nas determinações das concentrações letais medianas ou noventa por cento (LC<sub>50</sub> e LC<sub>90</sub>) ou mesmo nas doses (DL) ou tempo (TL) para essas mortalidades. Em alguns casos quando a resistência é ainda incipiente, é melhor a determinação de uma dose ou

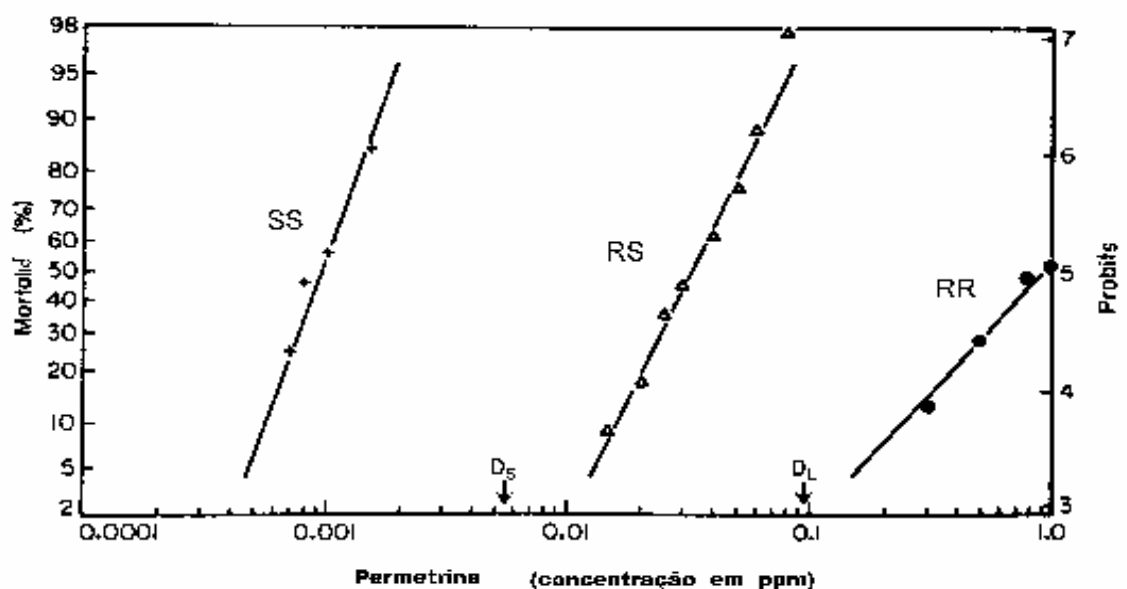
concentração diagnóstica. (CD), e de uma forma geral, pode-se trabalhar com um valor de CD igual a 2 ou 3 vezes a  $CL_{99}$ .

De qualquer forma, um programa para detectar a resistência antes que ocorram falhas no tratamento com um inseticida, necessita de grande precisão na estimativa da frequência de indivíduos resistentes (frequência fenotípica). Para que um programa funcione de maneira prática, ele deve ser preparado para poder detectar fenótipos resistentes em frequências da ordem de 1% . Quando isso ocorre, o controle será teoricamente perdido em cerca de uma a seis gerações. Assim, seria desejável que fossem detectados os fenótipos **R** em frequências até menores.

No caso específico da resistência de piolhos aos piretróides, é importante notar que vários fenômenos podem estar interagindo. Uma das possibilidades é sempre a de que esses insetos estão de certa forma degradando o inseticida., mas poderiam também estar cada vez mais insensíveis a ele. O alelo *Kdr* por exemplo, confere tal característica às moscas domésticas, que apresentam assim menos pontos de ligação para a molécula de DDT ao longo dos axônios. Isso pode também conferir resistência cruzada aos piretróides, devido ao modo de ação similar. Alelos que levam à uma redução da taxa de penetração de moléculas orgânicas pela cutícula são muito comuns e poderiam também estar atuando numa combinação de genes.

Para a resistência de insetos a inseticidas, a genética parece estar na grande maioria das vezes relacionada a um gene autossômico maior e a uma variedade de genes modificadores menores. Assim , a típica resposta dos possíveis genótipos para um locus resistente pode ser observado na figura abaixo, em experimentos com *Culex quinquefasciatus* expostos à permetrina NRDC 167 (Adaptado de Taylor & Georgiou, 1979). A porcentagem de mortalidade está expressa em escala probite e as concentrações em escala logarítmica. A reta para indivíduos homocigotos para o alelo resistente (RR) está deslocada bem para direita, pois respondem a concentrações muito altas. A primeira reta, com mortalidade ocorrendo para as concentrações mais baixas, representa indivíduos homocigotos para o alelo susceptível (SS) e a reta intermediária, para a população heterocigota (RS). Este exemplo é importante para

demonstrar que concentrações baixas ou tempo de exposição curto, permitem acelerar o desenvolvimento de resistência. Assim, quando em uma população natural é aplicada uma concentração alta ( $D_L$  na figura, próxima a 0,1 ppm) faz com que o alelo R esteja recessivo nos sobreviventes, enquanto que uma concentração menor ( $D_S$ , ~ 0,0055 ppm) o faz dominante nos sobreviventes, fenômeno conhecido como *dominância funcional*. Tem sido observado algumas vezes, que quando a resistência se inicia na população, a curva dos heterozigotos está mais deslocada para a esquerda, próxima da curva dos homozigotos para a susceptibilidade, e quando já está bem estabelecida, desloca-se para próximo da curva dos homozigotos para o alelo R. Aparentemente isso se deve a genes modificadores para a dominância, que co-evoluem como gene principal.



Nos piolhos, a resistência parece ter se desenvolvido sempre em rápidos passos. Clark & Cole mostraram que o piolho corpóreo, por exemplo, desenvolve facilmente resistência no laboratório ao carbaryl. Para os piolhos da cabeça e piretróides, a resistência foi inicialmente reportada na França entre 1990 e 1994. Em Israel, pesquisadores como Siegel e Muncuoglu registraram o mesmo ocorrendo em apenas

três anos, enquanto que na Inglaterra, Burgess relata uma resistência da ordem de 20 vezes ao phenothrin e a permetrina ocorrendo em apenas 4 anos (deve-se notar que o aumento das concentrações a serem utilizadas em produtos, provavelmente nunca poderia também ser aumentadas nessa mesma ordem de grandeza).

Uma das maneiras mais clássicas de se retardar ou reverter a resistência bioquímica nos insetos é a utilização de sinergistas. O exemplo do besouro da batata do Colorado é histórico. Próximo a Nova York, em Long Island, o controle foi feito inicialmente por 7 anos com o DDT, até surgir a resistência. Nos anos que se seguiram o besouro foi também desenvolvendo resistência aos outros inseticidas utilizados, levando 5 anos para o azinphosmetil, 2 anos para o carbofuran, 2 anos para os piretróides e 1 ano para piretróides com sinergista (Fogash, 1984). No programa de controle de oncocercose feito pela Organização Mundial da Saúde na África, depois que a resistência ao temephos ficou bem estabelecida vários outros produtos foram avaliados. Entre eles, várias empresas apresentaram misturas eficientes do próprio temephos com sinergistas como o DEF, que, no entanto mostraram ter pouco valor devido ao rápido aparecimento de resistência. O produto em uso até hoje nos rios de 11 países africanos para o controle dos borrachudos vetores é a base da bactéria *Bacillus thuringiensis israelensis*.

Os piretróides por exemplo são passíveis de serem detoxificados pelas oxidases de função mista (OFM), e duas estratégias podem ser utilizadas pelos insetos. Esse grupo de enzimas pode estar com a sua produção exacerbada levando ao aumento do metabolismo do inseticida ou uma alteração na atividade do centro catalítico da enzima, aumentando a taxa na qual a enzima metaboliza o inseticida. Essas duas rotas não são mutuamente exclusivas e uma enzima pode ser ambos, alterada fisicamente e superproduzida. O uso combinado dos piretróides com sinergistas que inibam essas enzimas pode permitir retardar o uso de um produto, mas é certo que os insetos vão também responder com outras enzimas ou estratégias detoxificantes.

Quando não podemos seguir a sugestão de vários pesquisadores que trabalham no assunto, de que a melhor estratégia seria o uso “eventual” dos inseticidas, sobram

duas outras possibilidades. A rotação de inseticidas com diferentes modos de ação, ou o uso conjunto desses produtos. Faltam estudos que permitam qualquer tendência para uma escolha entre essas duas estratégias, e a dúvida fica: seria mais vantajoso o emprego “monitorado” de um inseticida até que se inicie o processo de desenvolvimento de resistência, quando seria empregado outro produto, até que também se inicie a resistência, voltando-se para o primeiro ou iniciando-se o uso de um terceiro..? Ou seria melhor o uso de uma mistura de princípios ativos de forma que a resistência seria muito mais difícil de evoluir?, Mas uma vez atingida, muito mais séria? Com relação aos piolhos, Maunder (1991) observou que em países onde as autoridades locais podem influenciar ou determinar o uso de inseticidas, a rotação de produtos poderia ser uma estratégia mais eficiente para evitar a resistência. Se, no entanto, são as forças do mercado consumidor que determinam os produtos mais utilizados, como acontece na Inglaterra, então o uso de um mosaico de moléculas seria mais estratégico. Vale a pena notar, no entanto, que esse mosaico para servir como estratégia para se evitar resistência, necessitaria ser de produtos de diferentes modos de ação, o que lamentavelmente não acontece.

## **REFERÊNCIAS**

- Andrade, C.F.S. & Castello Branco Jr., A., 1990. Methods for field detection of resistance to temephos in simuliids. Larval esterase level and topical application of the insecticide to adults. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 85:291-297.
- Brogdon, W.G., 1984. Mosquito protein microassay. I. Protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. Comp. Biochem. Physiol. 79b:461-464.
- Clark, P.H. & Cole, M.M. 1967. Resistance of body lice to carbaryl. Journal of Economic Entomology 60 : 398-400.
- Fogash, A.J., 1984. Insecticide resistance of the colorado potato beetle. XVII International Congress of Entomology, Hamburg, August 1984, Abstracts.
- Kurtak, D. & Ouedraogo, M., 1984. Detection of resistance to temephos and chlorphoxim in Simulium damnosum s.l. by topical application to adults. Mosquito News, 44:518-527
- Maunder, J.W., 1991. Strategic aspects of insecticide resistance in head lice. Jour. of the Royal Society of Health 111: 24-26

Staetz, C.A. 1985. Susceptibility of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera, Noctuidae) to permethrin from across the cotton belt: a five-year study. *J. Econ. Entomol.* 78:505- 510.

WHO, 1975. Instructions for Determining the Susceptibility or Resistance of Body Lice and Head Lice to Insecticides WHO/VBC/75.587.

Carlos Fernando S. Andrade & Luciana Urbano dos Santos