

UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE DE DÍPTEROS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA

MOHAMED E. M. HABIB

Departamento de Zoologia, UNICAMP, 13081 Campinas, SP, Brasil

Os problemas causados por dípteros de importância médica podem ser agrupados em dois tipos. O primeiro refere-se ao efeito direto como perturbações, dores de picadas ou até reações alérgicas. O segundo tipo é o mais importante, apesar de ser um efeito indireto, pois trata-se das doenças infecciosas transmitidas pelos dípteros vetores.

Três famílias da Ordem Díptera destacam-se como categorias de grande significado na área de Saúde Pública: Culicidae, Simuliidae e Moscidae. As duas primeiras famílias incluem vetores biológicos, enquanto que a terceira envolve mais espécies contaminantes.

Dentro da família Culicidae, apenas os gêneros *Anopheles*, *Aedes* e *Culex* contêm espécies hematófagas vetoras. Ainda assim, a diversidade é enorme entre as espécies desses três gêneros, principalmente no que se refere às características dos criadouros dos estágios imaturos (o ambiente aquático). Tal fato implica consideravelmente em critérios específicos para os programas de controle em cada tipo desses criadouros.

Malária, febre amarela, dengue, encefalites e filarioses, são as doenças mais importantes transmitidas para o homem por fêmeas de pernilongos. Enquanto que a febre amarela, dengue e encefalites são causados por vírus, a malária é causada por protozoa e as filarioses por filárias.

Obviamente entre essas doenças, a malária é a mais importante, pelo menos nos trópicos, seguida pela febre amarela, dengue e finalmente as encefalites. Este fato, junto com a falta de recursos, faz com que os simulídeos sejam colocados em nível secundário, em termos de importância, pelos órgãos governamentais da Saúde Pública, já que a maioria dessas espécies no Brasil não transmite doenças para o homem.

CONTROLE DE INSETOS VETORES

Enquanto o controle das pragas agrícolas baseia-se na equação Custo/Benefício e visa a

redução da população do inseto praga abaixo do nível causador do dano econômico, o controle de vetores é mais uma questão moral do que econômica. Isto é, já que se trata da vida humana, o critério custo não deve ser o fator determinante. A carência de recursos financeiros e tecnológicos, além da maior favorabilidade ecológica dos trópicos a esses vetores, dificultam consideravelmente os programas tanto de controle como de erradicação de tais espécies. Assim, os inseticidas químicos organossintéticos continuam representando o método mais empregado e quase exclusivo de combate a esses insetos. Entretanto, os problemas resultantes da resistência desenvolvida, do desequilíbrio biológico e da poluição ambiental, serviram como estímulo para pesquisas que buscam métodos mais eficientes e seguros. Neste sentido, os agentes microbianos estão recebendo a atenção do homem como alternativas mais promissoras. Entre esses agentes, os fungos e bactérias contam com a maior possibilidade de uso. Pelo fato que os fungos atuam por contato, enquanto que as bactérias por via oral, é fácil entender por que os fungos seriam recomendados para o controle de insetos picadores sugadores. As bactérias, por outro lado, seriam recomendadas para insetos mastigadores e filtradores (onde se encontram as larvas de Culicidae e Simuliidae). Ainda as bactérias contam com maiores estabilidades genéticas, maior facilidade de fermentação, formulação e padronização, aumentando com isso as possibilidades de uso dessas bactérias no controle de larvas de dípteros aquáticos. Entre as diferentes espécies de bactérias entomopatogênicas, apenas duas espécies mostraram-se promissoras como agentes de controle para larvas aquáticas de Diptera.

Bacillus sphaericus – Durante a década de 70, diferentes cepas dessa espécie foram isoladas de solos e águas. As suas características e o seu potencial de uso foram bastante estudados. Na sua fase parasítica, as células vegetativas liberam toxinas capazes de afetar os tecidos e desencadear a bacteriose em larvas de pernilongos.

Algumas linhagens de *B. sphaericus*, ainda são capazes de produzir corpos protéicos durante a esporulação (semelhantes ao cristal de *B. thuringiensis*) e com provável efeito tóxico para os culicídeos.

Pelas qualidades promissoras desse patógeno, várias investigações foram realizadas, tanto de caráter acadêmico como de aplicado, principalmente antes da descoberta de *B. thuringiensis* (H-14). As investigações revelaram que as espécies de *Culex* e *Anopheles* são mais susceptíveis a *B. sphaericus* do que as do gênero *Aedes*. A virulência ainda varia muito entre as diferentes cepas ou linhagens, revelando com isso a importância dos estudos preliminares para a escolha da linhagem apropriada para cada caso. Além deste fato, há vários outros que determinam o grau do sucesso da aplicação desse patógeno. A espécie do inseto envolvida, a idade da larva, o seu hábito alimentar, as características físicas e químicas da água e a formulação do patógeno são exemplos desses fatores.

A utilização de *B. sphaericus* exige medidas de proteção a esse patógeno. Altas temperaturas, meios alcalinos, radiação solar e ultra-violeta são alguns fatores fatais para esta bactéria.

A fermentação em grande escala de *B. sphaericus* envolve o emprego de altas tecnologias, desde a qualidade do inóculo para o meio líquido e a composição desse meio que exige a presença de aminoácidos, determinadas vitaminas e sais minerais. A temperatura, o tempo de fermentação e o tipo de estímulo a esporulação também são passos críticos na produção desse patógeno.

Os trabalhos de campo realizados em vários países revelaram a alta eficiência dessa bactéria no controle de larvas de diferentes espécies de culicídeos. Além disso, este bacilo conta com alta capacidade de reciclagem em cadáveres de larvas de mosquitos e de alta persistência no ambiente aquático, inclusive com alto teor de poluentes. Outras características vantajosas, como a sua segurança para a fauna aquática não alvo, a sua estabilidade genética e a tolerância às condições de estocagem, aumentam consideravelmente o potencial de uso de *B. sphaericus*.

A nossa equipe de Controle Biológico da UNICAMP, com a enorme participação do Prof. C. F. de Andrade, vem desenvolvendo pesqui-

sas, inclusive, com este patógeno. Tais pesquisas revelaram a alta eficiência de *B. sphaericus* no controle de larvas de *Culex quinquefasciatus*, tanto em tanques de esgoto bruto em estações de tratamento, como em lagoas de estabilização de usinas de álcool.

A comercialização de *B. sphaericus* foi parcialmente desestimulada com a descoberta do sorotipo H-14 de *Bacillus thuringiensis*, que revelou qualidades mais promissoras para o controle de larvas aquáticas de mosquitos e borrachudos.

Bacillus thuringiensis — Essa espécie, conhecida desde 1910, foi considerada durante muito tempo como específica apenas a larvas de Lepidoptera. As nossas pesquisas com essa espécie iniciaram-se em 1964, cobrindo atualmente vários lepidópteros e diferentes linhagens desse patógeno. Desde o final da década de 70, entretanto, os sorotipos H-10 (var. *darmstadiensis*), H-8a:8b (var. *morrisoni*) e H-14 (var. *israelensis*), todos de *B. thuringiensis*, mostraram ser patogênicos para larvas de culicídeos e sem nenhum efeito em larvas de Lepidoptera.

A endotoxina termo-lábil do sorotipo H-14, devido ao seu potencial, fez com que esse sorotipo ocupasse a categoria do patógeno mais promissor para o controle de larvas aquáticas de Diptera.

Além da participação efetiva nas investigações científicas de Instituições mundialmente conhecidas, como o Instituto Pasteur e USDA, pesquisadores no Japão, Israel e Brasil, também vêm desenvolvendo estudos sobre este sorotipo. O Grupo de Controle Biológico da UNICAMP, desde 1980 vem trabalhando com o H-14 abordando tanto questões acadêmicas como outras de caráter aplicado. No plano acadêmico, as nossas pesquisas revelaram ser rápida a morte das larvas de Culicidae e Simuliidae, em comparação com a morte lenta em larvas de Lepidoptera tratadas com o H-3a:3b ou com o H-1. Ainda tratamos de questões como Histopatologia, Sintomatologia e Modo de Ação, revelando o efeito da toxemia nas larvas de Culicídeos e a morte que atinge a maioria da população tratada em menos de três horas. Esse fato nos estimulou a recomendar, inclusive, a utilização do critério de Tempo Letal no lugar do de Dose Letal nas avaliações de eficiência de formulados à base do sorotipo H-14.

Em termos de respostas biológicas, pode-se dizer que, geralmente as larvas de Culicidae (pernilongos) são mais susceptíveis a H-14 do que as de Simuliidae (borrachudos). Dentro de cada categoria taxonômica, a susceptibilidade de larvas varia de acordo com a espécie tratada, a origem do sorotipo, o tipo da formulação, a dosagem e a qualidade da água.

Outro fenômeno que também foi revelado pelas nossas pesquisas é a diferença de susceptibilidade, não apenas entre estádios, mas também entre diferentes fases do mesmo estádio (instar). Tal observação nos levou a recomendar o início do 4.^o estádio larval para os bioensaios de padronização.

A tecnologia desenvolvida durante vários anos para a fermentação e a formulação (por indústrias farmacêuticas) de sorotipos de *B. thuringiensis* patogênicos para lepidópteros, acabou contribuindo muito para a produção do sorotipo H-14. Entretanto, ainda há grande necessidade de desenvolvimento de pesquisas em diferentes áreas, inclusive a nível ecológico, para garantir a eficiência de aplicações em ambientes pouco conhecidos, como estações de tratamento de esgoto, lagoas de decantação em usinas de álcool, riachos em ambientes naturais, e outros.

Devido à grande diversidade dos ambientes aquáticos criadouros de pernilongos e borrachudos no Brasil, as investigações de levantamento de cepas brasileiras de H-14 tornam-se muito importantes para garantir a utilização da cepa apropriada para cada caso.

Atualmente, o mercado internacional conta com a comercialização de produtos em formulações de granulados, líquidos e pó molhável desse sorotipo, além de perspectivas de pastilhas efervescentes. Tal facilidade, além da eficiência, da estabilidade e da segurança para a fauna não alvo, aumenta consideravelmente o potencial desse patógeno e de seu uso em vários países do mundo. No Brasil, inclusive, alguns órgãos públicos de alguns Estados com SP e RS já começaram a usar tais produtos.

RECOMENDAÇÕES E PRECAUÇÕES PARA A UTILIZAÇÃO DE BACTÉRIAS NO COMBATE A DÍPTEROS NO BRASIL

— Há urgente necessidade de reconhecimento pelo governo da importância da saúde da população, fato apenas explorado durante as campanhas de eleição.

- Há urgente necessidade de abastecer os órgãos governamentais de Saúde Pública com profissionais qualificados e em número suficiente para exercer o seu papel de forma mais satisfatória a nível nacional.
- Há urgente necessidade de desenvolvimento de pesquisas para cobrir as espécies de insetos envolvidos e os seus ambientes aquáticos, em investigações de epizootiologia.
- Há grande necessidade de pesquisas a nível nacional, inclusive financiadas pelo Estado e não apenas pelo setor privado, nas áreas de fermentação e formulação de patógenos, visando lançar em futuro próximo produtos nacionais, no mínimo com as qualidades dos produtos estrangeiros.
- Há enorme necessidade de estabelecimento de normas legais e portarias do governo, que devem ser seguidas pelo setor privado para o registro de produtos microbianos no Brasil. Sem isso, continuaremos no atual quadro assustador de produtos nacionais registrados ou em vias de registro, sem o mínimo de exigências que garantam a proteção da saúde do homem e do ambiente. Essas portarias terão que exigir a padronização desses produtos, a pureza e a ausência de contaminantes biológicos.
- Evitar o uso de equipamentos contaminados por substâncias tóxicas nas aplicações de produtos bacterianos.
- Evitar a estocagem de produtos em embalagens que não sejam totalmente impermeáveis à luz e à umidade.
- Evitar aplicações do sorotipo H-14 em rios da região Amazônica durante épocas de reprodução de pequenos peixes. Tal alerta baseia-se no fato de que esses peixes alimentam-se de larvas de Chironomidae, e que essas por sua vez são susceptíveis ao H-14. Os peixes insetívoros fazem parte da cadeia alimentar dos grandes peixes daquela região.
- A bionomia das espécies alvo dos dípteros aquáticos, precisa ser bem estudada para, inclusive, estabelecer os intervalos de tempo, entre as aplicações, que garantam a maior supressão das populações dessas espécies.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. F. S., 1987. Manejo Integrado de Borrachudos. Anais XI Cong. Bras. Ent.
- ANDRADE, C. F. S., 1988. *Ecologia de supressão de populações de culicídeos e simulídeos*. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas.
- BROOKE, J. P. & KING, J. B., 1977. Some entomological aspects of integrated control of vector borne disease. *Mosquito News*, 37: 339-343.

- BROWN, A. W. A., 1986. Insecticide resistance in mosquitos: A pragmatic review. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.*, 2: 123-140.
- COLBO, M. H. & UNDEEN, A. H., 1980. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target insects in stream trials for control of Simuliidae. *Mosquito News*, 40: 368-371.
- HABIB, M. E. M., 1983. Potency of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against some aquatic dipterous insects. *Z. ang. Entomol.*, 95: 368-376.
- HABIB, M. E. M., 1986. Padronização de inseticidas microbianos. In S. B. Alves, *Controle microbiano de insetos*. Editora Manole, 407 p.
- HABIB, M. E. M. & ANDRADE, C. F., 1986. Bactérias entomopatogênicas. In S. B. Alves, *Controle microbiano de insetos*. Editora Manole, 407 p.
- LACEY, L. A. & UNDEEN, A. H., 1986. Microbial control of Black-flies and mosquitos. *Ann. Rev. Entomol.*, 31: 265-296.
- LASCALA, P. A. & BURGER, J. F., 1981. A small-scale environmental approach to blackfly control in USA. In M. Laird, *Blackflies – The future for biological methods in integrated control*. Acad. Press, N. Y. & London, 398 p.
- MARGALIT, J.; ZOMER, E.; EREL, Z. & BARAK, Z., 1983. Development and application of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* serotype H-14 as an effective biological control agent against mosquitos in Israel. *Biotechnology*, 1: 74-76.
- WHO, 1986. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. 10th Report of the Expert Committee on Vector Biology and Control. *Tech. Rep. Ser. Wld. Hlth. Org.*, 757: 1-103.