

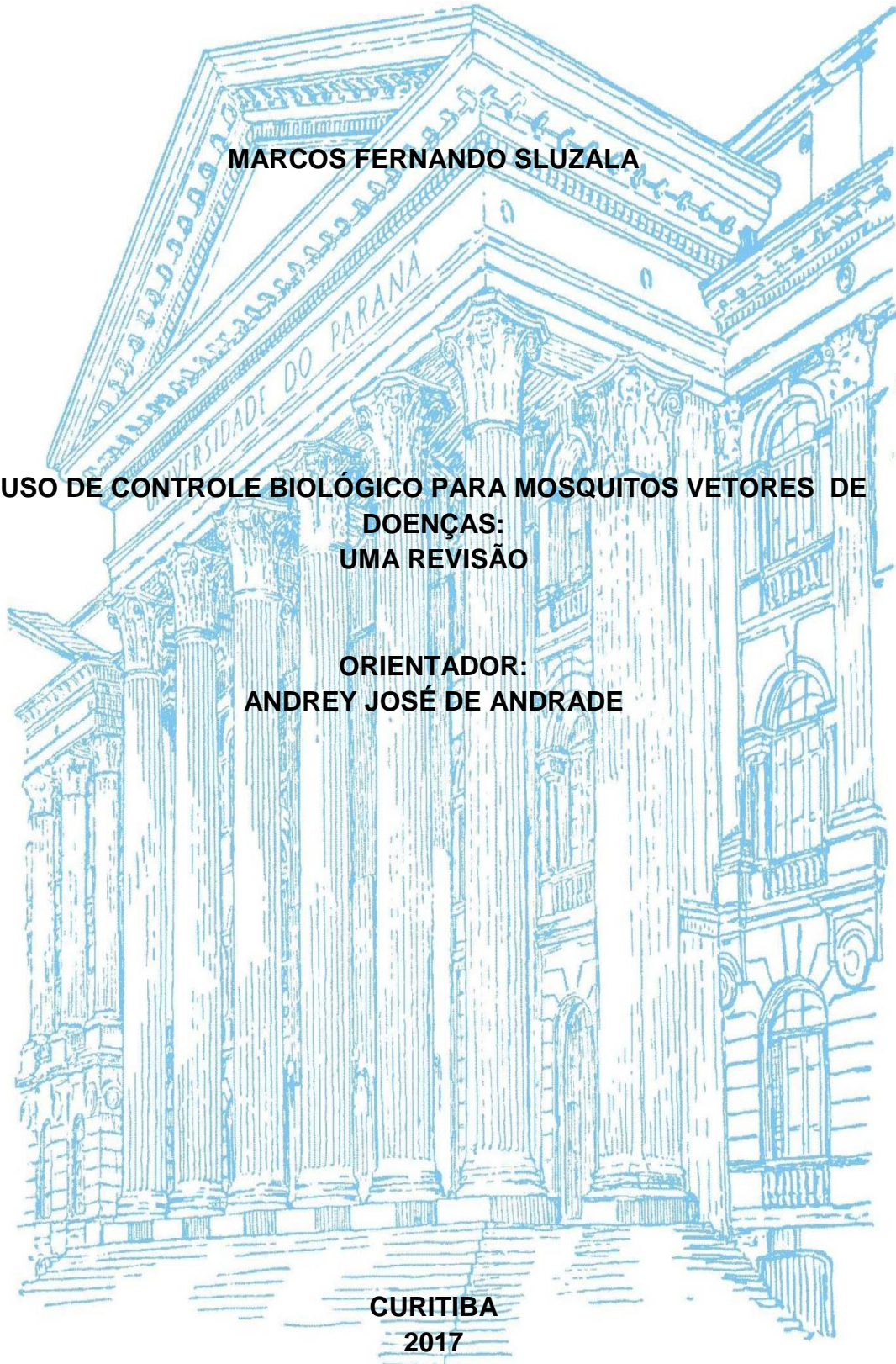
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA BÁSICA
CURSO DE BIOMEDICINA**

MARCOS FERNANDO SLUZALA

**USO DE CONTROLE BIOLÓGICO PARA MOSQUITOS VETORES DE
DOENÇAS:
UMA REVISÃO**

**ORIENTADOR:
ANDREY JOSÉ DE ANDRADE**

**CURITIBA
2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA BÁSICA
CURSO DE BIOMEDICINA**

MARCOS FERNANDO SLUZALA

**USO DE CONTROLE BIOLÓGICO PARA MOSQUITOS VETORES DE DOENÇAS:
UMA REVISÃO**

PROF. ANDREY JOSÉ DE ANDRADE

Trabalho de Conclusão de Curso
de Biomedicina da Universidade
Federal do Paraná requisito para
aprovação na disciplina TCC II.

**CURITIBA
2017**

Esta revisão tem como objetivo descrever e explicar o controle biológico aplicado em insetos (mosquitos) de importância na Saúde Pública do Brasil e do Mundo, como a Dengue, a Febre amarela, Zika vírus, Malária, dentre outras doenças que tem seu agente patogênico carregado por diferentes espécies de insetos. O trabalho visa explicar as vantagens do uso do controle biológico em comparação com o controle químico, que é atualmente a forma mais empregada no combate a mosquitos. Além disso, esta revisão elenca e descreve como as principais espécies de fungos e bactérias utilizadas no controle biológico atual e suas vantagens de utilização.

Palavras-chave: Culicidae, *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, *Wolbachia*, *Lagenidium giganteum*, *Beauveria bassiana*.

LISTA DE FIGURAS

TABELA 1: Artigos consultados para a execução da revisão.

TABELA 2: Artigos e seus resultados encontrados.

FIGURA 1: Número de casos de Malária.

FIGURA 2: Taxa de mortalidade causada pela malária.

FIGURA 3: Número de casos registrados de dengue no Brasil ao longo dos anos.

FIGURA 4: Taxa de mortalidade da Dengue no Brasil ao longo dos anos.

FIGURA 5: Esquema do processo de incompatibilidade citoplasmática. (fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1591&sid=32>)

FIGURA 6: Tecido de inseto não infectado e outro infectado pela *Wolbachia*. (fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1591&sid=32>)

LISTA DE ABREVIATURAS

AMCA: Associação Americana de Controle de Mosquitos.

BTI: *Bacillus thuringiensis israelensis*.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

IOC: Instituto Oswaldo Cruz.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. METODOLOGIA	9
3. RESULTADOS DA REVISÃO	10
3.1. EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS NO BRASIL	14
3.1.1 Malária	14
3.1.3. Filariose	18
3.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DOS MOSQUITOS	19
3.3 CONTROLE QUÍMICO	22
3.4 CONTROLE BIOLÓGICO	24
3.5 BACTÉRIAS UTILIZADAS NO CONTROLE BIOLÓGICO	26
3.5.1 <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	27
3.5.2 <i>Wolbachia</i>	29
3.6 FUNGOS UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO	32
3.6.1 <i>Lagenidium giganteum</i>	33
3.6.2 <i>Beauveria bassiana</i>	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
6. REFERÊNCIA	37

1. INTRODUÇÃO

Diversas doenças com relevante importância na saúde pública mundial têm seus agentes patogênicos veiculados por mosquitos (Diptera: Culicidae). Devido a isso se torna essencial a busca de novos mecanismos que sejam capazes de diminuir as populações destes insetos e, conseqüentemente, a incidência do número de casos dessas diversas doenças na população humana.

A família Culicidae é composta por insetos classificados como dípteros conhecidos popularmente como mosquitos, pernilongos e muriçocas. Seus representantes possuem fase larval aquática e na adulta são alados, sendo suas fêmeas hematófagas. Alguns destes mosquitos são vetores de patógenos causadores de diversas doenças como algumas espécies do mosquito *Anopheles* transmissor da Malária, o *Aedes* transmissor da Dengue e da Febre Amarela e certas espécies do mosquito *Culex* que podem ser transmissores da Filariose Linfática (Consoli; Oliveira, 1994).

A Malária é uma doença causada pelas espécies do patógeno *Plasmodium* spp. que são transmitidas através da picada da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles* spp. Dados revelam que cerca da metade da população mundial está exposta a adquirir malária, causando muitos óbitos, principalmente de crianças no continente Africano (Consoli; Oliveira, 1994).

Outra informação alarmante é que apenas no ano de 2014, 438 mil pessoas morreram devido a Malária em todo mundo (Ishii, et al. 2017). Devido à gravidade da doença, a Organização Mundial da Saúde (OMS) destacou alguns importantes métodos para tentar diminuir o número de casos, e dentre estes, o controle químico da população de *Anopheles* spp. é tido como essencial (Mpofu et al. 2016). Ainda segundo dados da OMS 48 nações utilizam o controle larval como um dos métodos de supressão do desenvolvimento do mosquito, por meio de diferentes compostos químicos como organofosforados, carbamatos e piretroides. Entretanto o seu uso descontrolado levou o aumento da resistência de algumas espécies a estes compostos, fenômeno que é visto e documentado em todo mundo (Ishii et al. 2017). Sendo assim, é evidente a necessidade de busca de outros mecanismos de controle dessas populações.

A Dengue é outra importante doença de importância na saúde pública, que acomete mais de 400 milhões de pessoas por ano em todo mundo (Silva et al.

2017). Ela apresenta quatro diferentes sorotipos que são transmitidos através do mosquito do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti*. Contudo há dados de que o *Aedes albopictus* também apresenta potencial para carrear os patógenos causadores da Dengue (Joanne et al. 2017).

Estima-se que cerca de quatro bilhões de pessoas estejam em risco de desenvolver esta doença, principalmente em países da América do Sul e Central e no Sudeste Asiático. Embora acometa muitas pessoas ao redor do mundo, o tratamento ainda é sintomático (Silva et al. 2017). Nas últimas quatro décadas presenciou-se um aumento no número de casos de Dengue, se devendo isto a uma série de fatores. Um deles é a ampla distribuição do *A. aegypti* e do *A. albopictus* que poderia funcionar como vetor secundário. (Silva et al. 2017). Além da dengue o mosquito também tem potencial na transmissão do vírus causador da febre amarela e recentemente incriminado como transmissor de outros arbovírus causadores de outras doenças como o Chikungunya e o Zika (Pruszyński et al. 2017).

O mosquito *Culex* é vetor de uma série de patógenos, como os causadores da Febre do Nilo e da Filariose Linfática. A filariose é uma doença endêmica em 83 países, principalmente a Índia, as Américas Sul e Central, tendo o Haiti como o maior número de casos (Schorkopf et al. 2016). Apesar de no Brasil o número desta doença ser baixo e restrito a uma pequena região do nordeste, segundo a OMS cerca de 120 milhões de pessoas são portadoras de microfilárias e 80 milhões estão em situação de risco. Associado a isto, o mosquito do gênero *Culex* por estar associado ao ambiente antropizado, possuir hábito antropofílico e ser endofágico causa bastante incômodo e desconforto (Dreyer et al. 2009, Schorkopf et al. 2016).

Um dado importante é que as mudanças climáticas, o desmatamento e a urbanização ocasionam um maior contato entre o ser humano e estas espécies de mosquitos vetores, potencializando assim a transmissão dos patógenos que causam estas diferentes enfermidades (Silva et al. 2017). Aliado a isto, o uso disseminado e incontrolado de inseticidas químicos durante os últimos anos desencadeou um processo genético de resistência nestes insetos ocasionando uma diminuição da eficácia dos programas de controle e prevenção de diferentes doenças como a dengue e a malária (Silva et al. 2017).

Devido à gravidade dos patógenos causadores de doenças transmitidos por estes insetos e o grande número de pessoas que estão expostas a serem acometidas por estas patologias é necessário buscar métodos efetivos de controle

destas espécies de importância em saúde pública no Brasil e no mundo, e entre esses métodos de controle pode se destacar o controle biológico.

O controle biológico é um método eficaz e seguro de controle de diferentes espécies de insetos. Basicamente, ele pode ser descrito como todo meio biológico, como a utilização de fungos e bactérias que são inimigos naturais e que podem limitar o desenvolvimento de formas imaturas, ou causar danos a estruturas vitais, tais como a cutícula e órgãos internos dos adultos levando-os a morte (Finkler 2012).

2. METODOLOGIA

Para a execução desta revisão foi realizado uma busca de informações e dados da literatura científica e dados publicados em páginas online de Instituições governamentais ou científicas. Os dados foram criteriosamente analisados e após uma análise qualitativa foram sintetizados de forma clara e objetiva em forma de texto e figuras.

Para a busca das informações a respeito do controle biológico foi utilizado artigos científicos que foram publicados nos últimos 20 anos (1997 a 2017) nos bancos de dados Pubmed e Scielo, além de dados publicados em páginas de diferentes instituições científicas como Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (<https://www.cdc.gov>) e governamentais como o Ministério da Saúde (<http://portalsaude.saude.gov.br>). A execução da revisão foi realizada com base nas quatro etapas adaptadas de Souza et al. (2010) denominada “Revisão integrativa: o que é e como fazer”. O artigo orienta a elaboração de uma revisão através de quatro etapas que consistem na elaboração da pergunta que orienta a revisão; na investigação da literatura com a busca seletiva de trabalhos científicos publicados nos banco de dados citados, além da análise dos resultados encontrados nestes diferentes trabalhos.; coleta dos dados obtidos destes diferentes estudos com a síntese das informações destes trabalhos de forma tabular; análise descritiva e qualitativa para a inclusão dos dados apresentados nestes diferentes trabalhos e por fim discussão dos resultados com a elaboração desta revisão.

Os artigos consultados bem como os dados deles extraídos são apresentados no formato tabular e a principais observações apresentadas. Posteriormente optou-se por um levantamento epidemiológico das doenças que envolvem a participação de culicídeos e que, ocorrem no Brasil, bem como suas principais características morfológicas e biológicas. Para finalizar discute-se a ação dos diferentes microorganismos testados, em condições experimentais contra este grupo de insetos.

3. RESULTADOS DA REVISÃO

As TABELAS 1 e 2 apresentam os artigos consultados para a presente revisão bibliográfica. Esses dados são sintetizados pelo ano de publicação, espécie e fase de vida do mosquito estudado e o local onde foi realizado o estudo (TABELA 1), além dos patógenos utilizados para controle e os principais resultados (TABELA 2).

Dos 21 artigos científicos que utilizaram alguma forma de controle biológico quatro trabalhos foram realizados no Brasil, dois na Austrália, dois nos EUA, dois no México e dois na Índia. Além destes, foram selecionados trabalhos realizados na China, Quênia, Camboja, Botsuana, Japão e Holanda, com um trabalho selecionado de cada país. De todos os 21 trabalhos selecionados cinco tiveram como alvo o mosquito *Anopheles*, 12 trabalhos tiveram como alvo mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente da espécie *Aedes aegypti* e finalmente quatro trabalhos científicos tiveram como alvo mosquitos do gênero *Culex*. Três artigos não tiveram um mosquito alvo específico para analisar o controle biológico. Todos os trabalhos com a *Wolbachia* utilizaram os mosquitos do gênero *Aedes* como inseto alvo. A espécie *Beuveria bassiana* foi utilizada somente com mosquitos do gênero *Anopheles*, enquanto o *Lagenidium giganteum* e o *Bacillus thuringiensis* foram utilizados com diferentes espécies de mosquitos.

Destes 21 artigos selecionados nove utilizaram como forma de controle biológico a bactéria da espécie *Bacillus thuringiensis*, outros cinco trabalhos utilizaram a bactéria *Wolbachia*, totalizando 66,7% dos trabalhos que utilizaram como forma de controle biológico alguma espécie de bactéria. Em contrapartida, três trabalhos utilizaram o fungo *Beuveria bassiana* e outros três trabalhos utilizaram o fungo *Lagenidium giganteum*. Todos os trabalhos realizados no Brasil tiveram como alvo o mosquito do gênero *Aedes* assim como trabalhos realizados nos EUA, México, Austrália, Malásia e Camboja que utilizaram este inseto alvo. Países no continente africano como Quênia e Botsuana tiveram trabalhos com o mosquito *Anopheles* como inseto alvo, além de outros países como Japão, Holanda e China. A ação de controle biológico contra o mosquito do gênero *Culex* foi avaliada na Índia, EUA e Botsuana.

Em relação ao resultado encontrado por estes diferentes trabalhos científicos apenas dois não demonstraram o efeito de controle esperado, ou seja, não foram

eficazes no controle de mosquitos de importância em saúde pública. Estes dois trabalhos tiveram como forma de controle biológico empregado a bactéria *Wolbachia* e o mosquito do gênero *Aedes* como alvo. Em contrapartida, todos os trabalhos que utilizaram o *Bacillus thuringiensis* e as duas espécies de fungo *Beuveria bassiana* e *Lagenidium giganteum* se mostraram eficaz no controle dos insetos alvos.

TABELA 1: Lista de artigos consultados para a revisão.

AUTORES	ANO	LOCAL	MOSQUITO	CONTROLE	FASE
Afrane et al.	2016	Quênia	<i>Anopheles</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	larva e pupa
Mpofu et al.	2016	Botswana	<i>Anopheles</i> e <i>Culex</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	larva e adulto
Ishii et al.	2017	Japão	<i>Anopheles</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	adulto
Jiménez et al.	2016	Holanda	<i>Anopheles</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	adulto
Finkler	2012	Brasil			
Joanne et al.	2017	Malásia	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto
Blanco et al.	2010	México	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Lagenidium giganteum</i>	larva (1º instar)
Oliveira et al.	2017	Brasil	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto
Wei et al.	2017	China	<i>Anopheles</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	adulto
Setha et al.	2016	Cambódia	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	pupa e adulto
Schorkopf et al.	2016	EUA	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	adulto
Pruszyński et al.	2017	EUA	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	adulto e larva
Silva et al.	2017	Brasil	<i>Aedes fluviatilis</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto
Singh et al.	2011	Índia	<i>Culex</i> e <i>Aedes aegypti</i>	<i>Lagenidium giganteum</i>	mosquito
Vyas et al.	2007	Índia	<i>Culex</i> e <i>Aedes aegypti</i>	<i>Lagenidium giganteum</i>	larvas
Zara et al.	2016	Brasil	<i>Aedes aegypti</i>		
Dreyer et al.	2009	Brasil	<i>Culex quinquefasciatus</i>		
Bravo et al.	2015	México		<i>Bacillus thuringiensis</i>	
Vilas-Bôas et al.	2010	Brasil		<i>Bacillus thuringiensis</i>	
Thomas e Ellar	1983	Inglaterra		<i>Bacillus thuringiensis</i>	
Polanczyk et al.	2003	Brasil	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	adulto
Hoffmann et al.	2014	Austrália	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto e ovos
Moreira et al.	2009	Brasil	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto
Hoffmann et al.	2011	Austrália	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Wolbachia</i>	adulto
Sinka et al.	2010	Inglaterra	<i>Anopheles</i>		adulto
Rund et al.	2013	França	<i>Anopheles</i>		
Guedes et al.	2017	Brasil	<i>Culex quinquefasciatus</i>		adulto
Consoli e Oliveira Junior	1994	Brasil	<i>Culex</i> e <i>Aedes aegypti</i>		adulto
Consoli e Oliveira	2011	Brasil			
Consoli e Oliveira	1994	Brasil			

TABELA 2: Lista de artigos consultados para a revisão, com os patógenos utilizados como controle biológico e os principais resultados obtidos pelos autores destacados na Tabela 1.

AUTORES	RESUMO	RESULTADO
Afrane et al.	estuda o bacilo de 2 espécies por 180 dias em ambiente fechado e aberto.	analisou sua eficiência através do cálculo de insetos. Demonstrou eficácia em ambos os ambientes testados.
Mpofu et al.	utiliza o bti para analisar sua eficiência em diferentes fases de des. do inseto.	a bactéria no estudo foi eficiente no controle da população do inseto tanto na sua fase larval como o inseto adulto.
Ishii et al.	estuda como o fungo consegue invadir o inseto e como isto o leva a morte.	explica como o fungo adere e cresce no mosquito. Demonstra a capacidade do fungo em invadir o cérebro do inseto.
Jiménez et al	analisou se o fungo é eficaz no combate ao mosquito <i>Anopheles</i> em 10 ciclos.	mostra eficiência do fungo mesmo durante 10 ciclos, caracterizando que o fungo não perde sua eficiência com o tempo.
Finkler	revisão bibliográfica acerca do controle de insetos	traz um compilado de informações sobre as formas de controle empregadas aos insetos.
Joanne et al.	analisou se a bactéria impede de forma semelhante a infecção dos 4 vírus da dengue	não demonstrou neste estudo capacidade de impedir os 4 diferentes sorotipos da dengue de forma semelhante.
Blancoa et al.	estuda as interações do fungo com o mosquito	demonstrou eficiência no controle do inseto, principalmente quando empregado um elevado número de esporos.
Oliveira et al.	estuda a presença da bactéria e a metabolização de sêmen por parte do mosquito.	analisou e concluiu que a presença da bactéria afeta a metabolização de sangue pelo mosquito afetando seus ovos.
Wei et al.	estuda a relação da microbiota do mosquito com seu sistema imunológico	demonstra que a infecção do mosquito pelo fungo leva a uma mudança de toda a sua microbiota e sist. Imunológico.
Setta et al.	analisou entre 2005 a 2011 o bti no controle do <i>Aedes aegypti</i> .	o uso de bti por 14 dias no ano foi eficiente na diminuição da população do inseto tanto adulto quanto pupa.
Schorfkopf et al	utilizado a bactéria com um agente atraente para a deposição de ovos.	a utilização do bti levou as formas aquáticas do inseto a morte. Os adultos tiveram redução principalmente com o atraente.
Pruszyński et al.	utilização do bti em locais como preus, vasos de plantas, entulhos, etc.	o bti foi eficiente no controle da população de insetos nestes locais.
Silva et al.	o mosquito foi infectado pelo vírus da dengue e exposto a bactéria.	trabalho mostrou que esta espécie de mosquito pode infectar-se por dengue e a presença da <i>Wolbachia</i> não interferiu.
Singh et al.	utilizou o fungo em duas diferentes espécies de mosquitos.	mostrou que o fungo é eficiente no combate a ambos os mosquitos. Elenca os mecanismos de controle do fungo.
Vyas et al.	uso do fungo para o controle de todos os instares dos mosquitos.	demonstrou eficácia no combate a todas as larvas de ambos os mosquitos, principalmente do <i>Aedes</i> .
Zara et al.	revisão sobre diferentes formas de controle do <i>Aedes</i>	traz dados sobre variadas formas de controle que podem ser empregadas nesta espécie de mosquito.
Dreyer et al.	estudos sobre as mudanças de paradigma sobre a filariose	traz dados a respeito da filariose, sua transmissão, dados epidemiológicos e perspectivas.
Bravo et al.	como esta bactéria funciona no combate insetos.	relata como o bti funciona no inseto levando-o a morte. Explica o modo de ação das toxinas do bacilo.
Vilas-Bôas et al.	explica as características sobre esta bactéria	elenca diferentes dados sobre esta bactéria, além de trazer dados a respeito do controle biológico.
Thomas e Elar	traz informações sobre os cristais produzidos pela bactéria	explica como os cristais produzidos pela bactéria leva o inseto a morte.
Polanczyk et al.	traz um compilado de dados sobre o uso deste controle	traz uma grande quantidade de informações sobre a utilização deste método de contr. No mosquito.
Hoffmann et al.	analisou a interação do mosquito e da bactéria	estuda como a infecção desta bactéria nesta espécie de mosquito atua no combate a dengue.
Moreira et al.	estuda como é a relação simbiótica entre essas duas espécies	explica como a bactéria previne a infecção do mosquito por vírus patogênicos.
Hoffmann et al.	estuda a infecção da bactéria no mosquito	explica como a interação da bactéria funciona na prevenção da dengue.
Sinka et al.	estuda a malária nas américas e sua epidemiologia.	traz dados sobre a malária, sua distribuição, como ocorre e uma epidemiologia do continente.
Rund et al.	analisou características do mosquito	estuda diversas características do mosquito, principalmente porque possui hábito diurno.
Guedes et al.	estuda características a respeito desta espécie de mosquito.	revela a presença do Zika vírus nesta espécie de mosquito.
Consoli e Oliveira	estudo sobre os principais mosquitos de importância pública	traz um compilado de informações sobre mosquitos de importância em saúde pública no Brasil.
Junior	informações sobre formas de controle de insetos	apresenta uma variedade de métodos utilizados no controle de insetos pragas.
Consoli e Oliveira	estudo sobre o controle químico e biológico	traz um compilado de informações sobre o controle químico e o controle biológico.

3.1. EPIDEMIOLOGIA DAS DOENÇAS NO BRASIL

Dados do Ministério da Saúde do Brasil obtidos através da plataforma online DATASUS (<http://datasus.saude.gov.br/>) evidenciam o número de casos e mortalidade de diversas doenças de importância em saúde pública no Brasil.

3.1.1 Malária

A Malária é causada por espécies do gênero *Plasmodium* spp. transmitidas através da picada de mosquitos do gênero *Anopheles*. No Brasil a doença apresenta um grande número de casos (FIGURA 1), principalmente na região amazônica, sendo causada principalmente pelo *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium falciparum*. Observa-se que número de casos da malária no Brasil vem diminuindo nos últimos anos. Além dessa diminuição no número de pessoas doentes de malária e a taxa de mortalidade também decresceu neste mesmo período (FIGURA 2), passando de uma média de 108 mortes entre 2003 à 2005, para 37 entre 2013 à 2015, o que corresponde a uma redução de mais de 65% em uma década (Sinka et al. 2010; Afrane et al. 2016; Ishii et al. 2017).

Haja vista esses resultados positivos, no panorama da Malária no país, atualmente o Plano de Eliminação de Malária no Brasil do ano 2016 também não contempla o controle biológico como um método a ser utilizado, podendo este ser um método de controle que pode ser aplicado com o objetivo de reduzir a incidência da doença no país.

Número de casos de Malária no Brasil

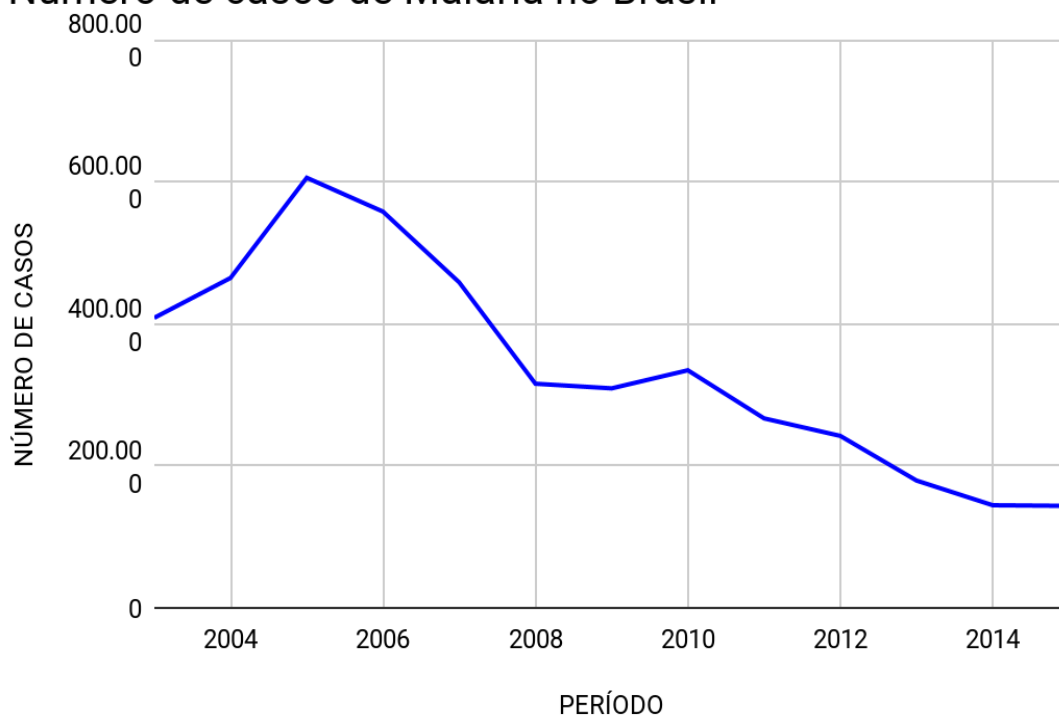


FIGURA 1: Casos de Malária diagnosticados no Brasil ao longo dos anos. (Fonte: o autor)

Mortalidade da Malária no Brasil

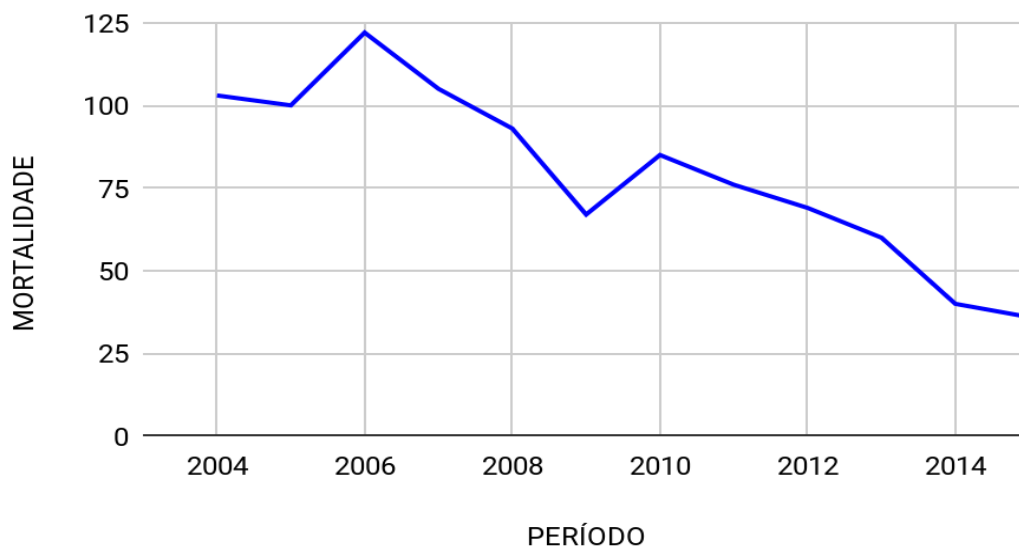


FIGURA 2: taxa de mortalidade registrada no Brasil causado pela malária ao longo dos anos. (Fonte: o autor).

3.1.2 Dengue

A Dengue é uma doença vetorial de importância em saúde pública que tem seu patógeno transmitido via picada, principalmente, de mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, com quatro sorotipos circulantes. O *A. aegypti* também assume também a importância na transmissão do vírus causador da Febre Amarela, Chikungunya e Zika vírus (Oliveira et al. 2017).

Diferentemente dos dados apresentados acerca da malária, em que foi possível identificar uma clara diminuição tanto no número de casos como na mortalidade ao longo dos anos no Brasil, as informações a respeito da dengue são mais alarmantes e preocupantes. Nos últimos anos o número de casos de dengue aumentou consideravelmente (FIGURA 3), passando de uma média de 409 mil casos por ano entre 2003 e 2005, para uma média de mais de um milhão de casos entre 2013 e 2015, representando um aumento de aproximadamente 70% na última década.

Além do aumento do número de casos de dengue registrados no país, o número de pessoas que morreram devido à doença também registrou um aumento considerável ao longo dos anos, passando de sete mortes registradas em 2003, para 570 em 2015 (FIGURA 4).

Casos de Dengue no Brasil

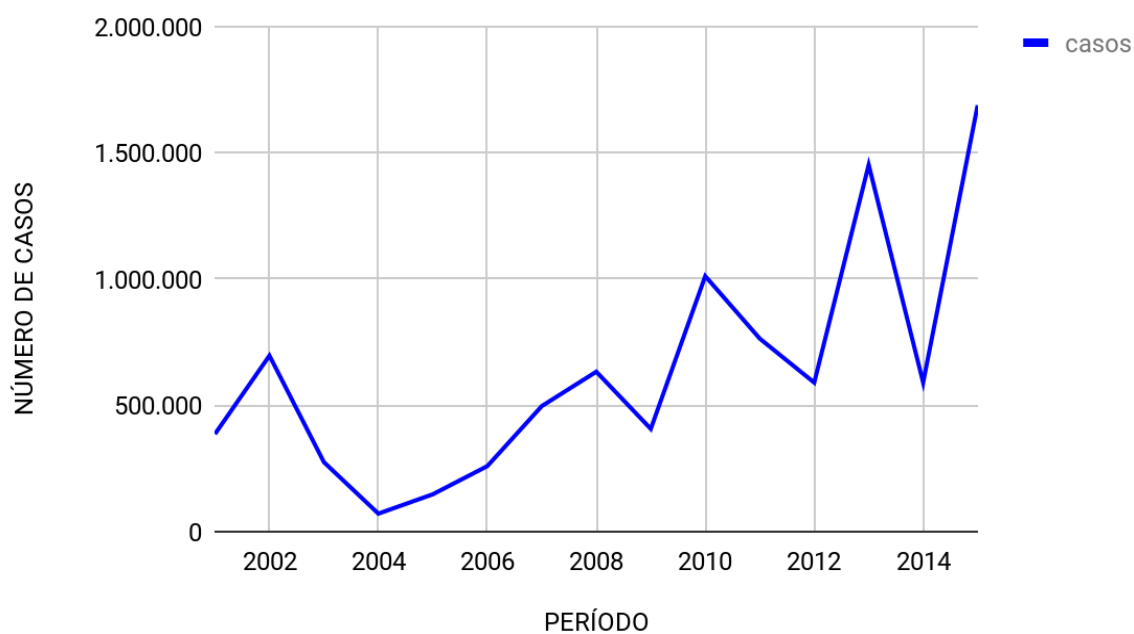


FIGURA 3: número de casos registrados de dengue no Brasil ao longo dos anos. (Fonte: o autor).

Mortalidade da Dengue no Brasil

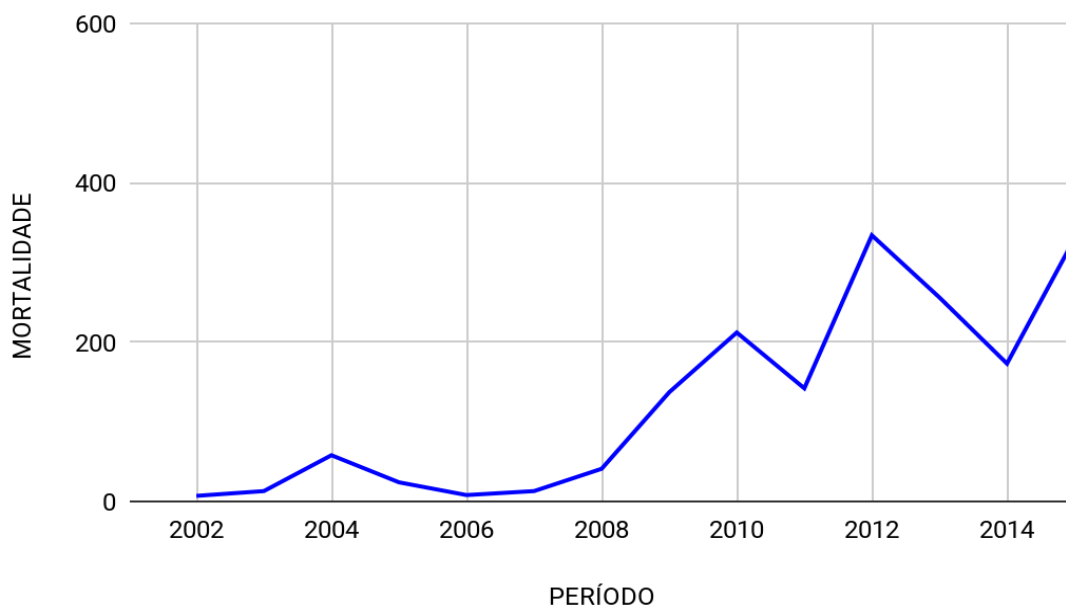


FIGURA 4: Taxa de mortalidade da Dengue no Brasil ao longo dos anos. (Fonte: o autor.)

3.1.3. Filariose

O mosquito *Culex* é o mosquito mais bem adaptado ao ambiente urbano sendo o transmissor de elefantíase, febre do Nilo e de encefalites. Além disso, estudos evidenciaram a presença do vírus da Zika em mosquitos da espécie *Culex quinquefasciatus*. É o principal mosquito nas grandes cidades, provocando muito incômodo por estar em intenso contato com a população (CDC 2017, Guedes et al. 2017).

No Brasil o *Culex quinquefasciatus* é o mosquito que transmite a *Wuchereria bancrofti*, helminto causador da filariose linfática, conhecida também como elefantíase. Estes parasitos causam lesões nos vasos linfáticos em geral podendo causar a linfedema que gera incapacidades graves e deformidades, características da elefantíase (IOC 2017).

Embora preocupante a filariose linfática está restrita em três capitais: Manaus, Recife e Belém porém o numero de casos registrados vem diminuindo significativamente. Contudo em outras partes do mundo a filariose, que pode ser transmitida por outras espécies de mosquitos, infecta mais de 120 milhões de pessoas em todo o mundo e acredita-se que mais de um bilhão de pessoas estejam sobre risco de serem infectadas (IOC 2017, AMCA 2017).

Os dados registrados nos últimos anos demonstram que é essencial e urgente a busca de métodos mais eficientes e vantajosos no manejo e controle destes mosquitos vetores, como o controle biológico, na busca para diminuir a quantidade de pessoas que são acometidas por estas doenças graves todos os anos.

3.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DOS MOSQUITOS

Os mosquitos são insetos pertencentes à ordem Diptera e a família Culicidae. Eles possuem o corpo dividido em três segmentos: cabeça, tórax e abdômen. A cabeça é a estrutura onde estão presentes os olhos, as antenas que são responsáveis pela detecção de informações sensoriais como diferentes odores e o aparelho bucal do inseto. O tórax é a estrutura responsável pela locomoção do inseto, pois nele se encontram três pares de pernas além de duas asas. Já o abdômen é onde se localiza as estruturas responsáveis pela digestão do alimento e do desenvolvimento dos ovos. As fêmeas possuem aparelho bucal com estrutura para perfuração e sucção, esta estrutura permite que as fêmeas perfurem a pele de animais de sangue quente para fazer o repasto sanguíneo, isso ocorre porque as proteínas presentes no sangue são essenciais para a produção de ovos, contudo assim como os machos as fêmeas dos mosquitos se alimentam de néctar de plantas. Segundo a Associação Americana de Controle de Mosquitos (AMCA), existem mais de três mil diferentes espécies de mosquitos no mundo. (CDC 2015, AMCA, 2017).

Embora o ciclo biológico ocorra de maneira semelhante nas diferentes espécies de mosquitos, algumas peculiaridades ocorrem dentre estas espécies. Como por exemplo, enquanto o mosquito *Culex* coloca cerca de 200 ovos preso uns aos outros, mosquitos como *Aedes* e *Anopheles* colocam seus ovos individualmente. Além disso, os mosquitos *Culex* e *Anopheles* depositam seus ovos diretamente na superfície da água, enquanto o *Aedes* coloca seus ovos em um ambiente úmido que posteriormente vai ser inundado com água. Grande parte das larvas eclode aproximadamente em 48 horas, mas são diretamente dependentes da temperatura do ambiente (CDC 2010).

O *Aedes aegypti* foi primeiramente descrito em 1762 como *Culex aegypti*, sendo descrito apenas em 1818 como pertencente ao gênero *Aedes* devido suas características biológicas e morfológicas (IOC 2017). Acredita-se ter sido introduzido na fauna brasileira entre os séculos XVI e XIX durante o período colonial e escravocrata (Zara et al. 2016). O desenvolvimento da espécie, sua capacidade de sobrevivência e reprodução são dependentes das condições climáticas como umidade, temperatura e principalmente chuvas. Além disso, as altas temperaturas, por exemplo, favorecem a disseminação do vírus da dengue no inseto, visto que

diminui o tempo de replicação do mesmo. Isso ocorre porque a fêmea do mosquito se infecta com o vírus quando faz o repasto sanguíneo em uma pessoa infectada. O mosquito é então infectado e passa a possuir o vírus no seu sistema digestivo, mas ainda assim não é capaz de transmiti-lo. Após um período de 10-12 dias o vírus se dissemina pelo inseto e invade suas glândulas salivares, tornando assim esta fêmea do mosquito um potencial transmissor da dengue. Este período é conhecido como período de incubação extrínseca. Assim se o mosquito se infecta mais rapidamente com o vírus devido às altas temperaturas, ele passa a ter maior probabilidade de ser transmissor (IOC 2017) (CDC 2010).

O ciclo de vida do *A. aegypti* ocorre da seguinte forma: primeiro a fêmea coloca seus ovos na parede de recipientes que podem ser naturais como troncos de árvores ou artificiais que são frutos da ação humana como latas, potes, pneus, vasos dentre outros. Quando estes locais são inundados por água limpa, os ovos presentes na água parada então eclodem em larvas que irão começar a se alimentar de microorganismos e matéria orgânica. A larva então para poder crescer, passa a trocar seu exoesqueleto, passando pelos quatro instares. Quando a larva chega ao último instar já possui tamanho e energia suficiente para iniciar seu processo de metamorfose transformando-se em pupa. Durante esta fase, a pupa já não se alimenta mais e passa a mudar seu corpo para a forma adulta de mosquito. Quando o processo todo ocorre o mosquito adulto e fértil emerge podendo continuar o ciclo. O tempo que todo o ciclo leva para acontecer é variado, dependendo das condições climáticas como a temperatura do ambiente (CDC, 2010) (IOC, 2017)

O mosquito adulto vive no ambiente urbano e doméstico e apresentando características diurnas. Possui coloração preta com riscos brancos (escamas) e cerca de 0,5 a 1 cm de tamanho quando adulto, enquanto os ovos têm aproximadamente 0,4mm. Inicialmente os ovos são brancos, mas devido à ação do oxigênio acabam escurecendo. Além disso, eles possuem grande resistência ao ressecamento, ficando viáveis no ambiente por até 405 dias segundo estudos (IOC, 2017)

Existe cerca de 430 espécies de mosquitos do gênero *Anopheles* catalogadas, contudo entre 30 a 40 espécies são vetores da malária, que assim como a dengue, ocorre através da picada da fêmea do mosquito durante o repasto sanguíneo. Também como ocorrem com os outros mosquitos, as condições do clima como a temperatura é importante para a relação parasito-vetor, visto que altas

temperaturas aumentam a velocidade de desenvolvimento do parasito (que leva cerca de 10 a 18 dias), assim como o desenvolvimento do mosquito (CDC 2015) O mosquito *Anopheles* apresenta hábitos noturnos, isso se deve ao fato que a expressão de proteínas relacionadas com a capacidade olfativa do mosquito é mais expressa durante a noite, permitindo assim que o mosquito tenha maior acurácia e sensibilidade durante este momento do dia (Rund et al. 2013).

O ciclo de vida desta espécie inicia com a fêmea depositando diretamente na superfície da água cerca de 50 a 200 ovos, que, em um ambiente de temperaturas altas, levaram em média três dias para as larvas eclodirem. Estas larvas irão se alimentar de bactérias, algas e outros microorganismos e desenvolver-se em quatro instares até se transformarem em pupas que irão transformar-se posteriormente no mosquito adulto. O *Anopheles* pode sobreviver até um mês, embora no ambiente natural tenha uma média de vida de duas semanas. O ciclo do ovo até o inseto adulto dura aproximadamente 10 a 14 dias e é dependente das condições climáticas (Sinka et al. 2010, CDC 2015).

O mosquito *Culex* deposita seus ovos preso uns aos outros na superfície de água parada e poluída rica em detritos humanos. É um dos mosquitos com maior adaptação ao ambiente urbano, sendo um grande desconforto na maioria dos lugares onde está presente. Embora seja conhecido como o pernilongo doméstico ele apresenta relevância na saúde pública por ser vetor de doenças como a filariose e algumas encefalites. Ademais, estudos realizados pela Fiocruz evidenciaram a presença do vírus Zika em mosquitos dessa espécie (CDC 2015, Guedes et al. 2017). Estes mosquitos variam de pequeno a grande porte e possuem coloração marrom ou preta e assim como o *Anopheles* possui hábitos noturnos. Seu ciclo de vida é semelhante ao das outras espécies apresentando três fases: larva, pupa e inseto (Consoli & Oliveira 1994).

3.3 CONTROLE QUÍMICO

Segundo as Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue do Ministério da Saúde, o controle químico é a utilização de diferentes substâncias químicas que agem com o objetivo de controlar insetos vetores durante seu desenvolvimento durante a fase larvária ou adulta (Ministério da Saúde, 2009). A utilização das diversas espécies de inseticidas no combate a vetores de doenças é regulamentada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) que determina a dose e a forma de utilização, isso se deve ao fato que o uso irracional destas moléculas pode potencializar e aumentar a velocidade do mosquito alvo adquirir resistência aquela molécula, além de que estes compostos podem ser potencialmente tóxicos a outros organismos, inclusive humanos (Consoli & Oliveira 1994).

A utilização destas moléculas químicas sintéticas começou a ser empregada a partir da década de 1940 e desde então seu uso vem sendo o principal meio de controle de insetos pragas na agricultura assim como no controle de insetos vetores de doenças, permitindo em alguns locais o controle eficaz e até mesmo a erradicação de doenças. Os inseticidas mais utilizados são os da classe dos organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (Consoli & Oliveira 1994).

Um dos principais inseticidas já utilizados é o DDT (diclorodifeniltricloroetano) um dos representantes dos organoclorados, o DDT atua abrindo canais de sódio no neurônio. Ele foi descoberto em 1945 e devido a sua produção em alta escala e seu preço relativamente barato foi utilizado em todo mundo desde a segunda guerra mundial onde era empregado para o combate de piolhos e do tifo nos soldados. No Brasil, foi também utilizado em grande escala na agropecuária e no combate a doenças como a malária. Contudo, seu uso descontrolado provocou o processo de resistência por parte dos insetos, fenômeno este que foi descrito pela primeira vez em 1949. Além da resistência, estudos posteriores observaram alta toxicidade do DDT. Foi demonstrado que este inseticida provocava mudanças hormonais, sendo um mimetizador de estrogênio, indutor de enzimas hepáticas e foi detectada sua relação com alguns tipos de cânceres. No ambiente ele também provocou contaminação em mananciais hídricos, lençóis freáticos, mostrando sua utilização descontrolada. Seu uso foi proibido em grande parte do mundo, inclusive no Brasil

por ser uma espécie de molécula nociva aos seres humanos e a todo o ambiente (Amato et al. 2002).

Os fenômenos observados com o DDT como a contaminação ambiental, resistência e falta de seletividade aos insetos alvos, que coloca outras espécies animais em risco de toxicidade é um fenômeno observado na maioria das moléculas sintéticas utilizadas no controle químico, representando uma grande desvantagem (Consoli & Oliveira 1994, Ministério da Saúde 2009).

Estudo realizado com organofosforados, classe de inseticida amplamente utilizado, revela correlação entre pessoas expostas a estas substâncias, como agricultores, com um aumento do risco de câncer de mama (Engel et al. 2017). Além disso, outros trabalhos realizados com carbamatos têm demonstrado aumento do risco de doença de Parkinson em pessoas expostas em um ambiente com a presença destas moléculas (Wang et al. 2011).

3.4 CONTROLE BIOLÓGICO

Considerando que o controle químico demonstra diversas desvantagens e riscos a população e ao ambiente, o controle biológico é tido como um novo meio de controle aos insetos vetores de doenças, utilizando para isto, de agentes biológicos que ocorrem de forma natural como forma de controle. Basicamente o controle biológico consiste na utilização de diferentes espécies de organismos que podem causar alguma doença ao inseto levando-o a morte, torná-lo mais suscetível a outras formas de controle ou expor estes insetos vetores a espécies predadoras em suas fases evolutivas ou até mesmo agir tornando o inseto mais resistente a infectarem-se com arbovirus causadores de doenças (Consoli & Oliveira 1994, Ministério da Saúde 2009).

Embora vista como uma nova forma de controle os primeiros registros do uso deste mecanismo no controle de pragas data de 1.200 A.C. na China onde era utilizadas formigas entre as plantas para evitar o ataque de lagartas. Atualmente está técnica vem sendo bastante empregada, muitas vezes associada a outras formas mais tradicionais de controle, como o controle químico (Ministério da Saúde 2009).

O mecanismo utilizado nesta forma de controle consiste em introduzir no ambiente, onde está presente o inseto alvo, espécies de bactérias, fungos, vírus, protozoários entomopatogênicos, dentre outras espécies de organismos que são naturalmente inimigos destes insetos vetores. O estabelecimento destes organismos então afeta o inseto diminuindo sua população (Consoli & Oliveira 1994).

Muitas espécies de organismos são utilizadas, principalmente no manejo de insetos pragas na agricultura. No controle de insetos de importância na saúde pública, entretanto, são utilizados as bactérias e os fungos entomopatogênicos como principal forma de controle biológico, devido a isto serão os grupos abordados por esta revisão (Junior 2011).

Como principais representantes das bactérias o *Bacillus thuringiensis israelensis* é o microorganismo mais empregado. Sua comercialização ocorre em muitos países, devido a sua letalidade aos insetos por produzirem toxinas que afetam o sistema digestivo do mosquito. Outra grande vantagem na utilização desta forma de controle consiste na segurança, pois são inofensivas aos vertebrados (Polanczyk et al. 2003, Angelo et al. 2010). Outra espécie de bactéria utilizada é a

Wolbachia que é empregada no Brasil na tentativa de controle da dengue. Seu mecanismo de ação consiste na diminuição da infecção do mosquito *A. aegypti* pelos vírus causadores da dengue (Hoffmann et al. 2014).

Os fungos, por sua vez, são representados principalmente pelas espécies *Lagenidium giganteum* e *Beauveria bassiana* que já são utilizados na agricultura e por possuírem resultados satisfatórios de controle de diferentes populações de insetos. São vistos como potenciais organismos para utilização no campo da saúde pública. Apesar de possuírem peculiaridades em relação ao seu mecanismo de ação, ambas as espécies agem invadindo na cutícula do inseto, enfraquecendo-a e assim parasitando todo o corpo do inseto. Além disso, acredita-se que os fungos produzem toxinas que são frutos do seu metabolismo, que ajuda a levar o inseto à morte. O corpo do inseto após sua morte ainda funciona como uma fonte de inoculo das hifas do fungo, podendo infectar outros insetos e permanecendo assim por mais tempo no ambiente (Vyas et al. 2007, Ishii et al. 2017, Wei et al. 2017).

3.5 BACTÉRIAS UTILIZADAS NO CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico pode ser caracterizado pela utilização de diferentes espécies de microorganismos como fungos e bactérias, com o objetivo de suprir ou interromper o desenvolvimento de um inseto alvo, com relevante papel na saúde pública (Finkler 2012).

O modelo mais adotado no controle biológico consiste na utilização de bactérias que geralmente produzem em seu metabolismo compostos que levam o inseto à morte ou que desencadeiam processos que impedem que o inseto torne-se o vetor dos patógenos que causam doença (Angelo et al. 2010, Silva et al. 2017).

As bactérias são os principais microrganismos utilizados no controle biológico de pragas na lavoura assim como no controle de insetos vetores de doenças. Várias espécies têm evidenciado potencial de utilização, porém poucas ainda são utilizadas para tal fim. Nesta revisão são apresentadas as duas principais espécies de bactérias utilizadas no controle biológico, com comprovado potencial de ação (Consoli & Oliveira 1994).

3.5.1 *Bacillus thuringiensis israelensis*

O *Bacillus thuringiensis israelensis* (bti) é uma espécie de bactéria gram positiva, com formato de bastonete e pertencente da família *Bacillaceae*. São móveis e produzem toxinas durante sua fase de esporulação em forma de cristais o Cyt e, principalmente, o Cry, as quais pertencem a uma classe de toxinas bacterianas denominadas toxinas formadora de poros (PFT) e representam cerca de 30% de todo o peso da bactéria (Angelo et al. 2010, Bravo et al. 2015). Esta característica apresentada por esta espécie de bactéria a torna o microrganismo mais utilizado no controle biológico, correspondendo cerca de 90% de todos os bioinseticidas utilizados atualmente. Estes cristais são compostos de proteínas que possuem especificidade para atuar em insetos, como os da ordem Lepidoptera, Coleoptera e Diptera, (Angelo et al. 2010) sendo inofensiva a humanos e outros vertebrados (Polanczyk et al. 2003, Pruszynski et al. 2017).

O Cyt tem uma atividade hemolítica e citolítica enquanto o Cry é um cristal tóxico (Polanczyk et al. 2003). A toxina Cry é sintetizada na forma de uma protoxina, isto significa que para ser ativada, e assim desencadear sua atividade esperada, ela deve passar por um processo de ativação através de enzimas presentes no interior do sistema digestivo do inseto, transformando assim uma protoxina inativada para uma toxina ativa (Angelo et al. 2010, Bravo et al. 2015). As bactérias são ingeridas pela larva do mosquito, sendo dissolvidas no intestino do inseto e assim liberando as proteínas. Uma vez no interior do mosquito, a toxina Cry, que é uma protoxina é ativada através da maquinaria enzimática do inseto, que catalisa a sua ativação tornando-a assim tóxica ao inseto. Depois de ativada a toxina Cry pode ligar-se a receptores específicos no intestino do inseto. (Angelo et al. 2010). Por sua vez, a toxina Cyt interage diretamente com os lipídeos da membrana, inserindo-se nela e causando a formação de poros e causando sua destruição (Thomas & Ellar 1983, Bravo et al. 2015).

A ligação da toxina Cry nos receptores também desencadeia um processo de formação de poros na membrana da célula. Além disso, estas duas toxinas atuam de forma sinérgica, aumentando assim a atividade uma da outra (Bravo et al. 2015). Após o contato do inseto com estas toxinas e elas ocasionarem os danos descritos, ambas levam o inseto a apresentar um quadro de paralisia geral dos músculos e do

sistema digestivo, septicemia e inanição levando o mosquito à morte (Polanczyk et al. 2003).

Um estudo realizado em 2016 utilizou o bti com o objetivo de verificar seu efeito em larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Foi colocado cerca 1.6 gramas de bti, quantidade suficiente para 200 litros de água, dentro de recipientes com água parada. Foi então observado que o desenvolvimento das larvas em pupas foi reduzido em 91% durante as oito semanas do tratamento, desencadeando uma diminuição do número de animais adultos no ambiente tratado com o bti, quando comparado ao ambiente controle que não foi tratado (Setha et al. 2016).

3.5.2 *Wolbachia*

A *Wolbachia* é uma espécie de bactéria que vive de forma simbiote em cerca de 70% de todas as espécies de insetos no mundo, incluindo os mosquitos. Apesar disso, mosquitos do gênero *Aedes aegypti*, não são infectados por esta bactéria naturalmente (Silva et al. 2017). O uso desta bactéria altera a relação entre o inseto e arbovírus causadores de doenças tornando assim o inseto menos suscetível a ser infectado por estes patógenos, tendo uma atividade que pode ser assemelhada a uma “vacina”, pois torna o mosquito mais resistente a infecções (IOC, 2012). Esta importante característica torna a *Wolbachia* um importante método de controle biológico a ser empregado. (Hoffmann et al. 2014, Joanne et al. 2017).

O potencial no controle biológico desta bactéria se deve ao mecanismo chamado de Incompatibilidade citoplasmática. Uma vez o inseto infectado a disseminação da bactéria ocorre de forma vertical, ou seja, do mosquito fêmea para sua prole, através do ovo. A incompatibilidade citoplasmática, contudo faz com que as fêmeas que estão infectadas com a bactéria gerem todos os seus filhotes também infectados com a bactéria, e este fenômeno ocorre independentemente se o macho com o qual a fêmea acasalar seja ou não infectado com a *Wolbachia*. Em contrapartida, se um mosquito macho infectado acasalar-se com uma fêmea que não está infectada com a *Wolbachia*, os ovos fertilizados que iriam gerar novos mosquitos não se desenvolverão e irão morrer, não gerando assim novos mosquitos (FIGURA 5). Além disso, a utilização desta bactéria possui uma grande vantagem adicional, pois como esta espécie é transmitida através dos descendentes uma única intervenção no ambiente já é o suficiente para iniciar este processo de controle, sem a necessidade de intervenções complementares (Hoffmann et al. 2014, IOC, 2012).

Estudos realizados demonstraram que *Aedes aegypti* infectado com a *Wolbachia* perderam o potencial de transmitir o vírus causador da dengue e outros arbovírus, como o causador do Zika e Chikungunya (Moreira et al. 2009, Hoffmann et al. 2011, Oliveira et al. 2017).

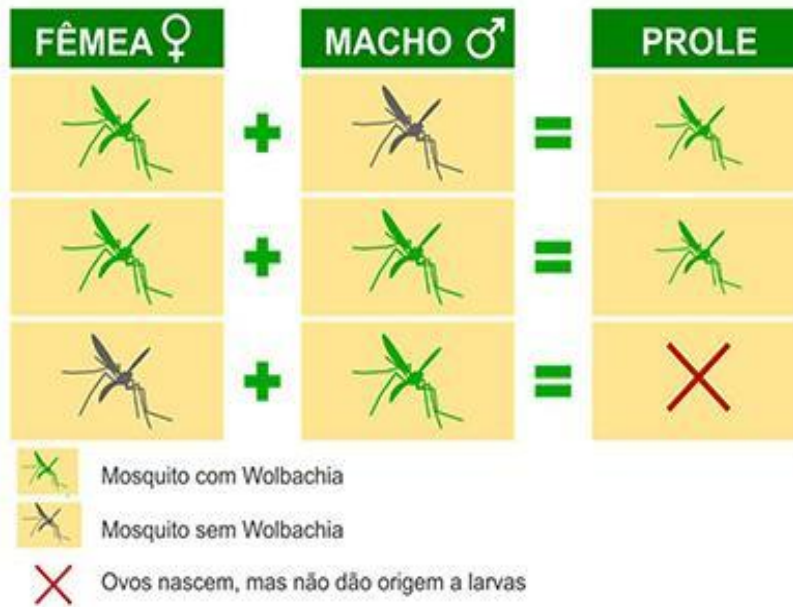


FIGURA 5: esquema do processo de incompatibilidade citoplasmática. (fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inoid=1591&sid=32>)

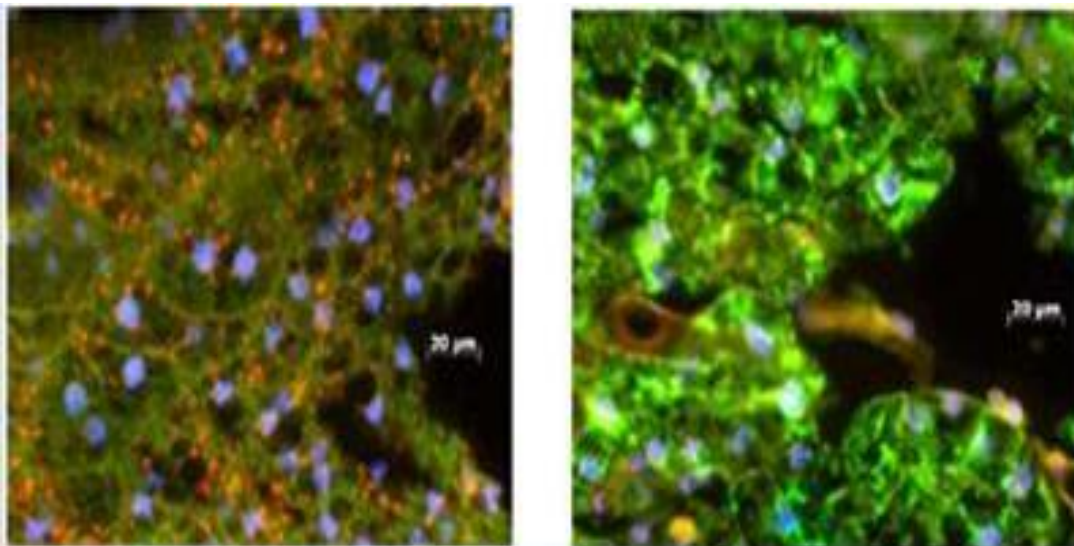


FIGURA 6: Na esquerda tecido de inseto não infectado pela *Wolbachia* com a presença do vírus da dengue (vermelho); na direita vê-se o inseto infectado com a *Wolbachia* (verde) e ausência do vírus da dengue. (fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inoid=1591&sid=32>)

O programa Eliminar Dengue: nosso desafio, através de estudos realizados na Universidade de Monash demonstrou através de microscopia (FIGURA 6) que a *Wolbachia* é realmente capaz de bloquear a infecção do mosquito *A. aegypti* pelo vírus causador da dengue. Na imagem é possível ver a ausência de vírus no tecido do mosquito com a presença da bactéria, diferente do mosquito controle que não foi infectado pela *Wolbachia* (IOC, 2012)

Devido a estas importantes características, países como o Brasil já utiliza a *Wolbachia* como forma de controle. O projeto Eliminar Dengue: desafio para o Brasil, trazido ao país pela Fiocruz, já faz a disseminação de mosquitos da espécie *A. aegypti* em algumas regiões (IOC, 2012).

3.6 FUNGOS UTILIZADOS NO CONTROLE BIOLÓGICO

Outro método, empregado por décadas, de controle biológico é a utilização de fungos entomopatogênicos. É relatado como eficiente no combate aos insetos alvos, assim como seguros e efetivos, visto que estes fungos podem diferenciar as estruturas que compõem a cutícula de insetos de estruturas de animais aquáticos, apresentando assim seletividade e segurança. Além do mais, alguns estudos demonstraram que algumas infecções por fungos acabam gerando no mosquito um aumento de sua susceptibilidade a pesticidas químicos para os quais anteriormente apresentavam resistência (Singh & Prakash 2011, Ishii et al. 2017).

3.6.1 *Lagenidium giganteum*

O *Lagenidium giganteum* é uma espécie de fungo utilizado no controle de insetos e têm evidenciado potencial no controle de mosquitos causadores da dengue e de mosquitos do gênero *C. quinquefasciatus* causador da filariose (Singh & Prakash 2011). Os metabólitos produzidos pelo fungo aparentam ser o mecanismo pelo qual ele é capaz de causar a morte desses insetos alvos. Enzimas produzidas por esta espécie têm a capacidade de penetrar na cutícula dos mosquitos que são formadas 70% por proteínas. As proteases, hidrolases e outras enzimas extracelulares do fungo desencadeiam então papel fundamental no processo de penetração no inseto através da destruição de sua cutícula. Além destas enzimas que afetam o exoesqueleto do mosquito acredita-se que outras variedades de toxinas que são frutos do metabolismo do fungo podem afetar sistemas vitais ao inseto, levando-o a morte. (Blanco et al. 2010, Singh & Prakash 2011).

Lagenidium giganteum consiste em dois estágios: os esporos e zoósporos. O zoósporo tem maior capacidade de infecção ao mosquito, pois não precisa ser ingerido por ele em sua fase larval, penetrando no inseto através da sua cutícula e assim crescendo tanto no mosquito adulto quanto na larva, podendo assim ser utilizado em diferentes fases do desenvolvimento (Vyas et al. 2007). Depois da morte o corpo do inseto ainda é utilizado pelo fungo para se reciclar e produzir mais zoósporos, podendo assim disseminar-se para outros insetos (Blanco, et al. 2010, Vyas et al. 2007).

3.6.2 *Beauveria bassiana*

A espécie *Beauveria bassiana* é outra espécie de fungo entomopatogênico que já é utilizado como agente de controle biológico na agricultura para controlar insetos que destroem plantações com uma alta taxa de eficiência, sendo inclusive regulamentado e comercializado no Brasil, sob registro no Ministério da Agricultura (Jiménez et al. 2016). Como demonstra grande sucesso no controle de insetos neste ambiente, este fungo pode ser também empregado no controle de mosquitos com importância em saúde pública, inclusive aqueles mosquitos resistentes a pesticidas, que são vetores de patógenos causadores de doenças graves como *Plasmodium* spp. causador da malária (Jiménez et al. 2016).

Beauveria bassiana também invade a cutícula e estruturas externas do mosquito causando sua destruição. Estudos demonstraram que o fungo pode desenvolver-se no mosquito adulto principalmente em suas pernas e no seu aparelho bucal. Depois de invadir estas regiões o fungo e suas hifas têm a capacidade de rapidamente invadir várias regiões do mosquito, tais como cabeça e tórax (Ishii et al. 2017). A infecção do cérebro do mosquito alvo com a *B. bassiana* faz com que o inseto entre em óbito muito rapidamente, todavia, mesmo sem infectar o cérebro, o fungo consegue levar o mosquito a morte, ainda que em uma velocidade menor. Depois de morto o corpo do inseto funcionaria como fonte de inóculo de hifas do fungo que podem a partir dali infectar outros insetos (Jiménez et al. 2016, Ishii et al. 2017).

Embora o mecanismo descrito acima seja o principal método pela qual o fungo consegue controlar diferentes populações de insetos, outros dados demonstram que a *B. bassiana* também pode agir na microbiota intestinal dos mosquitos que infecta, sendo este outro possível mecanismo pelo qual o fungo pode levar o inseto à morte (Wei et al. 2017). Um estudo realizado demonstrou que a microbiota intestinal do mosquito tem importante papel no desenvolvimento do seu sistema imunológico e na infecção por esta espécie de fungo entomopatogênico levando a uma diminuição severa da diversidade de espécies de bactérias que colonizam o intestino do inseto, que antes era composto por uma variedade de microorganismos (Wei et al. 2017).

A presença da diversidade de bactérias protege os insetos de possíveis infecções, mediado pelo estímulo do sistema imunológico do mosquito por esta

microbiota. Contudo, quando parasitado por esta espécie de fungo, além da diminuição da diversidade de microrganismos da flora do inseto, outras espécies de bactérias com potencial patogênico ao mosquito demonstraram um alto crescimento, podendo assim parasitar o mosquito causando sua morte (Wei et al. 2017).

Estes diferentes dados caracterizam variados mecanismos de como esta espécie de fungo *B. bassiana* pode atuar, tanto infectando o mosquito e o levando a morte por destruição de estruturas importantes como também causando uma interrupção no processo de proteção do inseto através de mudanças severas do sistema imunológico do mosquito (Jiménez et al. 2016, Wei et al. 2017).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este compilado de dados apresentado nesta revisão bibliográfica que foram obtidas através de diversos documentos científicos, forneceu uma gama de informações a respeito do controle biológico aplicado na saúde pública exemplificando como este método funciona, como ocorre a relação inseto-microorganismo, além de trazer uma série de estudos, que, utilizando este meio de controle de insetos obteve sucesso na diminuição de variadas espécies consideradas vetoras de patógenos causadores de doenças. Os dados apresentados demonstraram que o controle biológico apesar de não ser um método novo, não é empregado com frequência e em muitos casos ainda está restrito apenas ao âmbito agrícola. Seu emprego, que pode ser associado em conjunto com métodos tradicionais de controle, como o químico, surgindo como mais uma alternativa para tentar controlar diferentes espécies de mosquitos de importância em saúde pública, ajudando no combate de doenças causadas por patógenos que são veiculadas ao ser humano através destes insetos, principalmente os culicídeos.

6. REFERÊNCIA

Afrane Y.A.; Mweresa N.G.; Wanjala C.L.; Gilbreath T.M.; Zhou G.; Lee M.C.; Githeko A.K.; Yan G.; **Evaluation of long lasting microbial larvicide for malaria vector control in Kenya**. Program in Public Health, College of Health Sciences, University of California, Irvine, CA, USA. Malaria Journal. DOI 10.1186/s12936-016-1626-6, 2016.

Amato, C.D.; Torres, J.P.M.; Malm, O. **DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental- Uma Revisão**. Instituto de biofísica Carlos Chagas. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Quimica Nova, vol.25. No 6,995-1002, 2002.

Angelo E.A.; Vilas-Bôas G.T.; Castro-Gómez R.J.H. **Bacillus thuringiensis: características gerais e fermentação**. Universidade Estadual de Londrina, UEL. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 4, p. 945-958, 2010.

Blanco M.G.M.; López E.Y.L.; Salazar O.A.O.; Santos M.E.S.; Wong L.J.G.; Martínez H.Q.; **Effects of culture medium and formulation on the larvicidal activity of the mosquito pathogen *Lagenidium giganteum* (Oomycetes: Lagenidiales) against *Aedes aegypti***. Acta Tropical. Elsevier. doi:10.1016/j.actatropica.2010.10.010, 2010.

Bravo A.; Gill S.S.; Soberón M.; **Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control**. Toxicon. 2007, 49(4): 423–435, 2015

CDC- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Anopheles Mosquitoes**. 21/10/2015 disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/index.html>. acessado em 04/11/2017

CDC- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Johansson, M.A. **Dengue and Climate**. 09/06/2010 disponível em: <https://www.cdc.gov/dengue/entomologyecology/climate.html>, acessado em 01/11/2017.

Consoli, R.A.G.B.; Oliveira, R.L.; **Controle químico e biológico: perspectivas**. [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. p.228 ISBN 85-85676-03-5. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>., 1994.

Consoli, R.A.G.B.; Oliveira, R.L.; **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. p. 228 ISBN 85-85676-03-5. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>., 1994.

Dreyer G.; Mattos D.; Silva J.F.; Norões J.; **Mudanças de paradigmas na filariose bancroftiana.** Organização Amaury Coutinho para Doenças Endêmicas Tropicais, Recife, PE. Revista Associação Médica Brasil; 55(3): 355-62, 2009.

Engel L.S.; Werder E.; Satagopan J.; Blair A.; Hoppin J.A.; Koutros S.; Lerro C.C.; Sandler D.P.; Alavanja M.C.; Freeman L.E.B.; **Insecticide Use and Breast Cancer Risk among Farmers' Wives in the Agricultural Health Study.** Dept. of Epidemiology, University of North Carolina. <https://doi.org/10.1289/EHP1295>, 2017.

Finkler C.L.L. **Controle de insetos: uma breve revisão.** Universidade Federal de Pernambuco. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, vols. 8 e 9, p.169-189, 2011/2012., 2012

Guedes D.R.D.; Paiva M.H.S.; Donato M.M.A.; Barbosa P.P.; Krokovsky L.; Rocha S.W..S.; Saraiva K.L.A.; Crespo M.M.; Rezende T.M.T.; Wallau G.L.; Barbosa R.M.R.; Oliveira C.M.F.; Melo-Santos M.A.V.; Pena L.; Cordeiro M.T.; Franca R.F.O.; Oliveira A.L.S.; Peixoto C.A.; Leal W.S.; Ayres C.F.J.; **Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil.** Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Recife. Emerging Microbes & Infections (2017) 6, e69; doi:10.1038/emi.2017.59, 2017.

Hoffmann A.A.; Montgomery B.L.; Popovici J.; Iturbe-Ormaetxe I.; Johnson P.H.; Muzzi F.; Greenfield M.; Durkan M.; Leong Y.S.; Dong Y.; Cook H.; Axford J.; Callahan A.G.; Kenny N.; Omodei C.; McGraw E.A.; Ryan P.A.; Ritchie S.A.; Turelli M.; O'Neill S.L.; **Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission.** The University of Melbourne, Victoria. NATURE. doi:10.1038/nature, 2011.

Hoffmann A.A.; Ormaetxe I.I.; Callahan A.G.; Phillips B.L.; Billington K.; Axford J.K.; Montgomery B.; Turley A.P.; O'Neill S.L.; **Stability of the wMel *Wolbachia* Infection following Invasion into *Aedes aegypti* populations.**The University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia. PLOS Neglected Tropical Diseases, Volume 8, Issue 9, e3115, 2014.

IOC- INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Denise Valle. ***Aedes e dengue: vetor e doença.*** DISPONIVEL EM: <http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/aedesvetoredoenca.html>, acessado em : 31/10/2017

IOC- INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Genilton Vieira. **Dengue vírus e vetor.** disponível em: <http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/curiosidades.html>. acessado em: 30/10/2017;

IOC- INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Peter Illiciev. **Como a *Wolbachia* atua no controle da dengue.** 24/09/2012. disponível em: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=1591&sid=32>, acessado em: 30/10/2017.

Ishii M.; Kanuka H.; Badolo A.; Sagnon N.F.; Guelbeogo W.M.; Koike M.; Aiuchi D.; **Proboscis infection route of *Beauveria bassiana* triggers early death of *Anopheles* mosquito.** Department of Bioproduction Science, The United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University, Morioka, Iwate, Japan. Scientific Report. doi:10.1038/s41598-017-03720-x, 2017.

Jiménez C.A.V.; Kan J.A.L.; Koenraadt C.J.M.; Zwaan B.J.; Schoustra S.E.; **Experimental evolution to increase the efficacy of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against malaria mosquitoes: Effects on mycelial growth and virulence.** Laboratory of Genetics, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. Evolutionary Applications. DOI: 10.1111/eva.12451, 2016

Joanne S.; Vythilingam I.; Teoh B.T.; **Vector competence of Malaysian *Aedes albopictus* with and without *Wolbachia* to four dengue virus serotypes.** University of Malaya, Malaysia. Tropical Medicine and International Health. doi:10.1111/tmi.12918, 2017.

Junior M.E.; **Controle biológico de insetos pragas.** Seminário mosaico ambiental: olhares sobre o ambiente. ISSN 2236-8256, 2011.

Ministério da Saúde. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue.** Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde. ISBN 978-85-334-1602-4 p.160 , 2009.

Moreira L.A.; Ormaetxe I.I.; Jeffery J.A.; Lu G.; Pyke A.T.; Hedges L.M.; Rocha B.C.; Mendelin S.H.; Day A.; Riegler M.; Hugo L.E.; Johnson K.N.; Kay B.H.; McGraw E.A.; Hurk A.F.V.; Peter A. Ryan P.A.; O'Neill S.L.. **A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium.** The University of Queensland, Brisbane. Cell 139, 1268–1278, Elsevier Inc. DOI 10.1016/j.cell.2009. 11.042, 2009.

Mpofu M.; Becker P.; Mudambo K.; Jager C.; **Field effectiveness of microbial larvicides on mosquito larvae in malaria areas of Botswana and Zimbabwe.** University of Pretoria Institute for Sustainable Malaria Control. Malaria Journal. DOI 10.1186/s12936-016-1642-6, 2016.

Oliveira S.P.; Oliveira C.D.; Sant'Anna M.R.V.; Dutra H.L.C.; Caragata E.P.; Moreira L.A.; ***Wolbachia* infection in *Aedes aegypti* mosquitoes alters blood meal excretion and delays oviposition without affecting trypsin activity.** Centro de Pesquisas Rene Rachou - Fiocruz, Belo Horizonte, Insect Biochemistry and Molecular Biology 87 (2017) 65e74, doi:10.1016/j.ibmb.2017.06.010, 2017.

Polanczyk P.A.; Garcia M.O.; Alves S.B.; **Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*.** Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola. Rev Saúde Pública 2003;37(6):813-6, 2003.

Pruszyński C.A.; Hribar L.J.; Mickle R., Leal A.L.; **A Large Scale Biorational Approach Using *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Strain AM65-52) for Managing *Aedes aegypti* Populations to Prevent Dengue, Chikungunya and Zika Transmission.** PLOS ONE. DOI:10.1371/journal.pone.0170079, 2017.

Rund S.S.C.; Bonar N.A.; Champion M.M.; Ghazi J.P.; Houk C.M.; Leming M.T.; Syed Z.; Duffield G.E.; **Daily rhythms in antennal protein and olfactory sensitivity in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*.** University of Notre Dame, Notre Dame. SCIENTIFIC REPORTS | 3 : 2494 | DOI: 10.1038/srep02494, 2013.

Setha T.; Chantha N.; Benjamin S.; Socheat D.; **Bacterial Larvicide, *Bacillus thuringiensis israeliensis* Strain AM 65-52 Water Dispersible Granule Formulation Impacts Both Dengue Vector, *Aedes aegypti* (L.) Population Density and Disease Transmission in Cambodia.** PLOS Neglected Tropical Diseases e0004973. doi:10.1371/journal.pntd.0004973, 2016.

Schorkopf D.L.P.; Spanoudis C.G.; Mboera L.E.G.; Mafra-Neto A.; Ignell R.; Dekker T.; **Combining Attractants and Larvicides in Biodegradable Matrices for Sustainable Mosquito Vector Control.** PLOS Neglected Tropical Diseases | DOI:10.1371/journal.pntd.0005043, 2016.

Silva J.B.L.; Alves D.M.; Bottino-Rojas V.; Pereira T.N.; Sorgine M.H.F.; Caragata E.P.; Moreira L.A.; ***Wolbachia* and dengue virus infection in the mosquito *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae).** Centro de Pesquisas René- Rachou, Fiocruz, Belo Horizonte. PLOS ONE <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181678>, 2017.

Singh G.; Prakash S.; **Efficacy of the *Trichophyton ajelloi* and *Lagenidium giganteum* metabolites against mosquitoes after flash chromatography.** Parasitol Res (2012) 110:2053–2060. DOI 10.1007/s00436-011-2734-4, 2011.

Sinka M.E.; Palis Y.R.; Manguin S.; Patil A.P.; Temperley W.H.; Gething P.W.; Boeckel T.V.; Kabaria C.W., Harbach R.E.; Hay S.I.; **The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic précis.** Department of Zoology, University of Oxford. Parasites & Vectors 2010, 3:72, 2010.

Souza M.T.; Silva M.D.; Carvalho R. **Revisão integrativa: o que é e como fazer.** Einstein. 8:102-106, 2010..

THE AMERICAN MOSQUITO CONTROL ASSOCIATION (AMCA). **Biology of mosquitoes.** disponível em: <https://mosquito.site-ym.com/page/biology> , acessado em :02/11/2017.

Thomas W.E.; Ellar D.J.; **Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis var israelensis* insecticidal endotoxin.** FEBS LETTERS, Volume 154, number 2, Elsevier science, 1983.

Vyas N.; Dua K.K.; Prakash S.; **Efficacy of *Lagenidium giganteum* metabolites on mosquito larvae with reference to nontarget organisms.** Parasitol Res (2007) 101:385–390, 2007.

Wang A.; Costello S.; Cockburn M.; Zhang X.; Bronstein J.; Ritz B.; **Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides.** Eur J Epidemiol. 2011 July. National Institutes of Health. doi:10.1007/s10654-011-9574-5., 2011.

Wei G.; Lai Y.; Wang G.; Chen H.; Li F.; Wang S.; **Insect pathogenic fungus interacts with the gut microbiota to accelerate mosquito mortality.** www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1703546114, 2017

Zara A.L.S.A.; Santos S.M.; Fernandes-Oliveira E.S.; Carvalho R.G.; Coelho G.E.; **Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão.** Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Goiânia-GO, Brasil. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 25(2):391-404. DOI: 10.5123/S1679-49742016000200017, 2016.