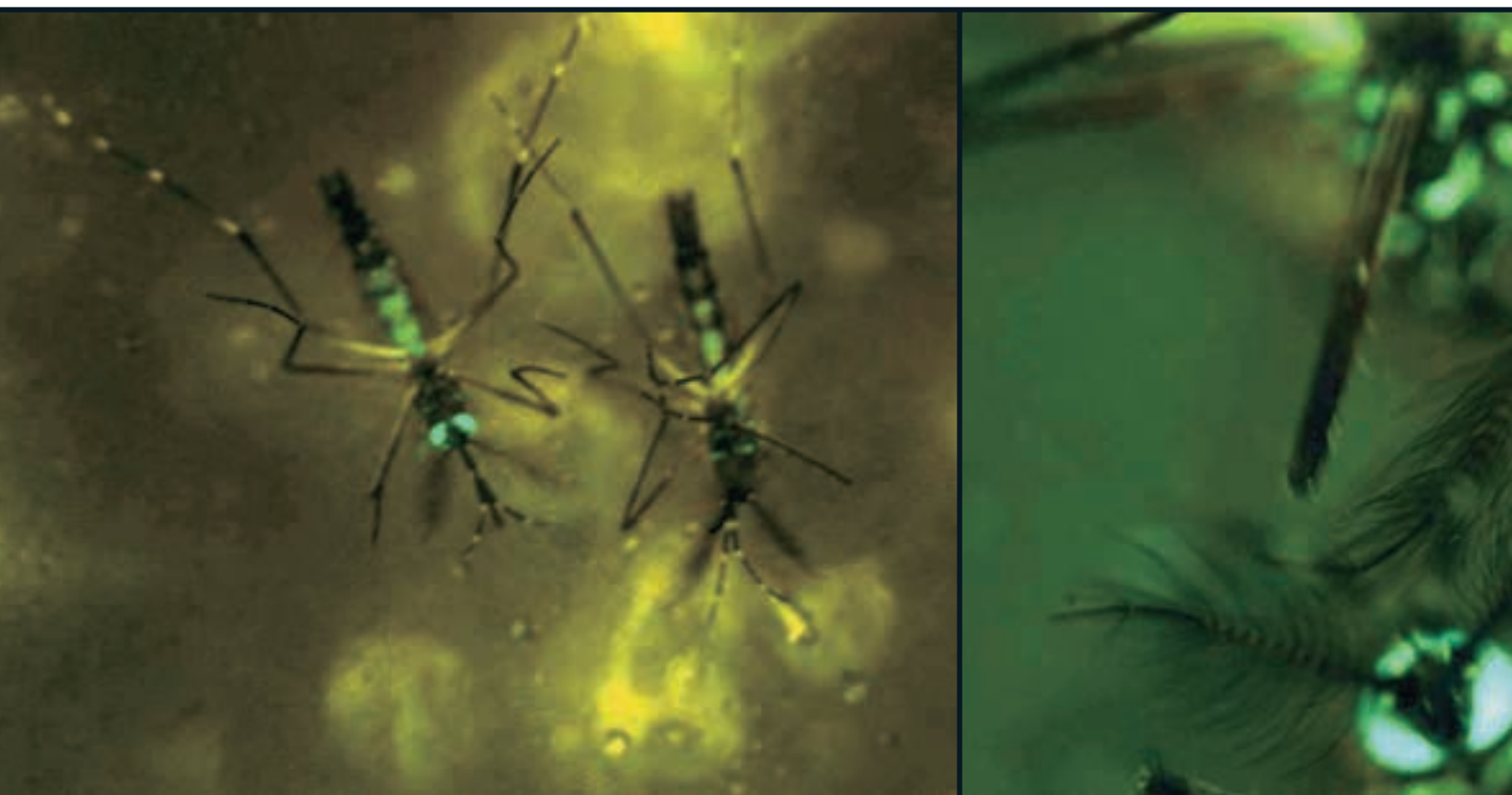


SAÚDE PÚBLICA

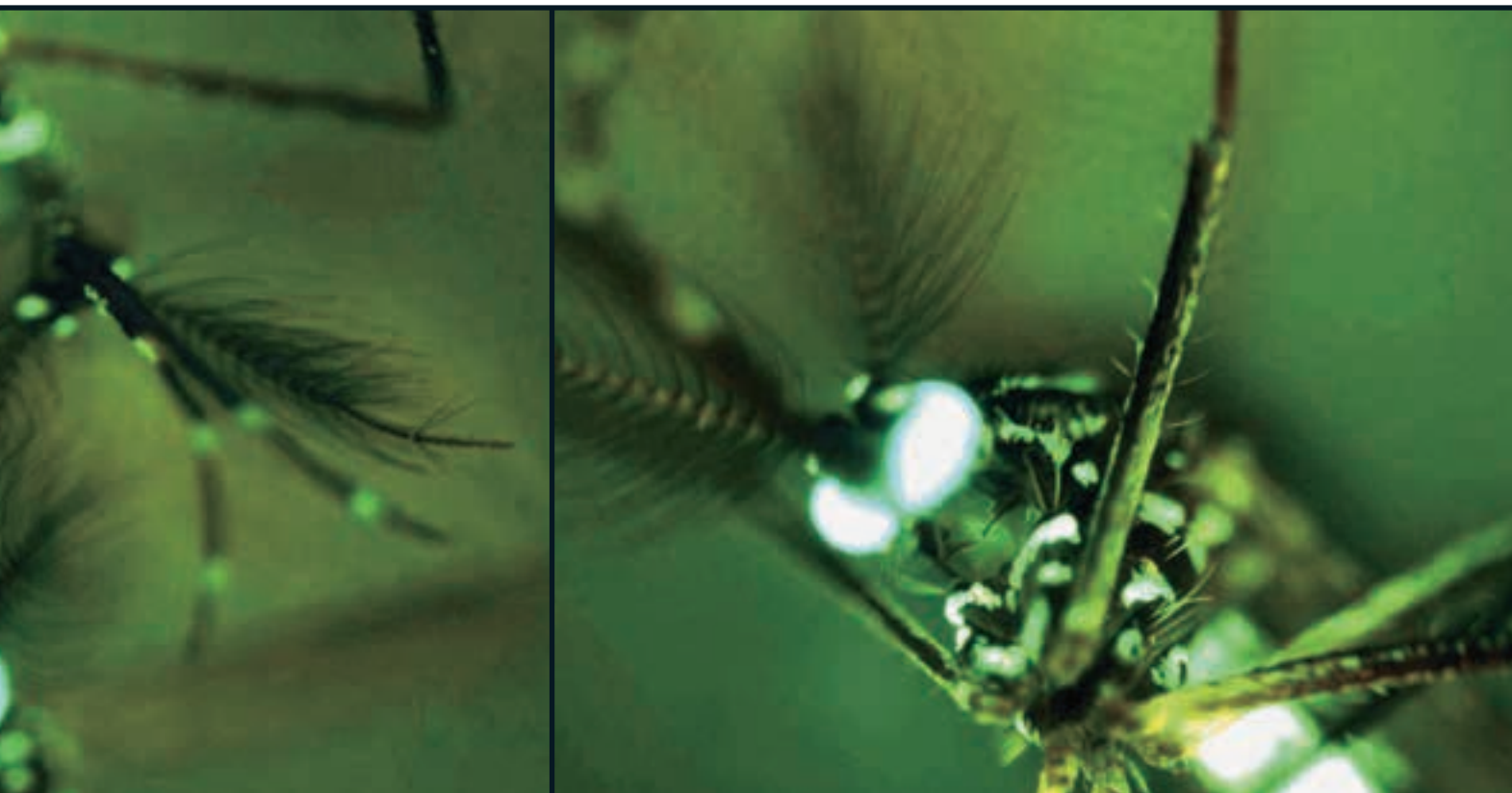
Novos ataques



Monitoramento com armadilha que atrai mosquito é uma das inovações, junto com insetos transgênicos, para controle da doença

DINORAH ERENO

à dengue



As chuvas abundantes de verão e a temperatura elevada formam uma perigosa combinação que contribui para a explosão populacional do mosquito *Aedes aegypti* e a conseqüente transmissão do vírus da dengue, doença caracterizada na sua forma clássica por febre alta, dor de cabeça e muita dor no corpo, mas que raramente mata. Mais grave é a dengue hemorrágica que, além dos sintomas clássicos, também provoca sangramentos, insuficiência circulatória e queda da pressão arterial, podendo levar o doente à morte. A doença atinge mais de uma centena de países em vários continentes e na forma de epidemias que se repetem. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que entre 50 e 100 milhões de pessoas se infectam anualmente, com um saldo de 550 mil internações e 20 mil mortes em decorrência da doença.

No Brasil, o quadro não é muito animador. Depois de enfrentar uma epidemia de dengue em 2002, com quase 800 mil casos notificados, os especialistas temem que ocorra um no-

Genes inseridos no genoma do *Aedes* funcionam como anticorpos contra a dengue, com interferência direta sobre o vírus

vo surto neste ano. “Há risco de introdução do sorotipo 4 (no país já existem os sorotipos 1, 2 e 3 do vírus), considerado o mais letal, que se encontra circulando em vários países das Américas”, diz Maria da Glória Teixeira, professora do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e autora de um estudo epidemiológico sobre a dengue. Até hoje não foi descoberto um remédio eficiente contra o vírus da doença. Ela exige acompanhamento médico e é tratada com remédios que atenuam os sintomas, além de repouso. Vacinas para combater a dengue estão sendo estudadas, mas ainda há um longo caminho pela frente, porque para serem eficientes elas terão que imunizar as pessoas, simultaneamente, para os quatro sorotipos do vírus, da família dos *flavivirus*.

fusão preparada com a gramínea *Panicum maximum*”, diz o professor Álvaro Eduardo Eiras, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), responsável pelo desenvolvimento do sistema chamado de Monitoramento Inteligente da Dengue.

Ao serem atraídos pelo Atraedes, os insetos entram na armadilha e ficam presos a um cartão adesivo colocado na parede do recipiente. Depois de uma semana, é feita a contagem de quantos mosquitos foram capturados, trabalho realizado por agentes da saúde treinados para reconhecer o *Aedes* na sua forma adulta. Não é necessário levar o inseto ao laboratório para ser identificado, como ocorre atualmente com as larvas recolhidas em vasos e pneus cheios de água. “Ao atacar diretamente o mosquito, impe-

tores de saúde saibam onde concentrar as ações de combate à dengue.

Com base no conhecimento do comportamento do vetor, a equipe da Ecovec, empresa criada para desenvolver e comercializar o produto surgido na universidade mineira, que tem Eiras como um dos sócios, elabora um projeto com diagnósticos locais, determinando o número e o posicionamento das armadilhas necessárias para garantir a eficácia do monitoramento. Os dados são atualizados semanalmente, o que representa 52 mapas por ano. “O custo é cerca de 90% inferior ao do sistema de monitoramento das larvas do *Aedes* usado por vários países, inclusive o Brasil, entre quatro e seis vezes ao ano”, diz Eiras. A análise das larvas coletadas pelos agentes de saúde nas visitas domiciliares é feita em labo-



Ciclo de vida do mosquito vetor da dengue: mutação do ovo em larva, diferenciação da larva em pupa e na etapa final o nascimento do *Aedes aegypti*



Com tantas dificuldades em derrotar o vírus, o jeito é o combate ao mosquito, que também é transmissor da febre amarela. Em 2006 foram apresentadas novas formas de controle do *Aedes*, capazes de evitar a proliferação do mosquito. Na linha de frente das novas tecnologias está um sistema de monitoramento do mosquito transmissor da dengue que utiliza armadilhas, *software* e computadores de mão (*palmtops*) para captura dos insetos e análise das áreas de risco. Dentro da armadilha chamada Mosquitrap, uma espécie de vaso preto com água no fundo que imita o criadouro do mosquito, é colocado o Atraedes, uma substância sintética que libera um odor para atrair e fazer as fêmeas grávidas do *Aedes* depositarem seus ovos no recipiente. “O produto aromático foi isolado a partir de uma in-

dimos que a fêmea deposite os seus ovos. Trabalhamos no controle do inseto com as armadilhas, já que a transmissão do vírus da dengue é feita pela fêmea infectada”, diz Eiras. Quando a fêmea, que precisa do sangue para amadurecer os ovos e dar continuidade ao ciclo reprodutivo, pica uma pessoa infectada, o vírus se instala e se multiplica em suas glândulas salivares e intestino. A partir daí, o inseto permanece infectado pelo resto dos seus 30 a 40 dias de vida, em média.

O Mosquitrap faz o controle da infestação por meio de um computador de mão. Os dados da quantidade de mosquitos capturados na armadilha são enviados a uma central que gera, em três horas, um mapa preciso sobre as áreas de risco de infestação da doença. Esse mapa fica disponível *on-line* para que os ges-

ratório, o que demanda tempo e custos extras. Sem contar que o uso de inseticidas para combater o *Aedes* não leva em conta a presença ou não do mosquito.

Sistema premiado - O método da Ecovec consegue detectar a presença do mosquito mesmo na época da seca. Tanto que existe a possibilidade de que em 2007 o sistema comece a ser adotado oficialmente pelo Ministério da Saúde como parte do Programa Nacional de Controle da Dengue, que recebeu em 2006 R\$ 540 milhões do governo federal para ações de combate e controle do vetor. Em novembro do ano passado, o sistema foi escolhido entre 280 iniciativas de 58 países para receber o prêmio Tech Museum Awards, na categoria Saúde, entregue em San José, na Califórnia. O prêmio é

dado para tecnologias inovadoras que beneficiam a humanidade e tem o apoio de empresas como Intel, Accenture, Microsoft, Agilent, Applied e HP. Bill Gates, da Microsoft, foi homenageado no mesmo evento. “No discurso que fez durante a premiação, Gates disse que a tecnologia desenvolvida no Brasil para combater o vetor da dengue é simples e genial para resolver um problema complexo”, relata Eiras.

A cidade de Congonhas, em Minas Gerais, foi a primeira a adotar o sistema inovador, há mais de um ano. “Desde então não foram mais registrados casos de dengue no município”, diz Eiras. Frutal, também em Minas, e Vitória, capital do Espírito Santo, seguem o mesmo caminho. A armadilha já foi vendida para alguns países, como Alemanha, Cingapu-

bém a economia feita ao combater o mosquito antes de a doença se instalar. E cita o caso da cidade de Uberaba, no Triângulo Mineiro, que para controlar uma epidemia de dengue gastou R\$ 1,3 milhão só no combate ao mosquito, sem contar as internações. “Se a cidade tivesse usado a nossa tecnologia o custo seria muito menor”, compara o pesquisador. Levantamento do Sistema Único de Saúde, do Ministério da Saúde, indica que o tratamento da dengue custa R\$ 250,00 por pessoa. Em caso de internação a despesa chega a R\$ 3.500,00.

Com as chuvas de verão – que começaram a cair forte em novembro do ano passado –, os especialistas temem um novo surto de dengue em 2007, semelhante ao ocorrido em 2002. “Temos que avançar na questão do controle da popu-

tadas para seu controle. No Brasil circulam três dos sorotipos do vírus da dengue, o 1, 2 e 3, sendo que o último foi introduzido no final da década de 1990 e em apenas três meses já havia se disseminado para oito estados, o que mostra a facilidade de circulação de novas cepas com as multidões que se deslocam diariamente. A infecção por um deles dá proteção permanente para o mesmo sorotipo e imunidade parcial e temporária contra os outros três.

“Vários estudos feitos na UFBA mostram que a transmissão e circulação do vírus é muito mais rápida do que a capacidade atual de combater o vetor”, diz a pesquisadora. Enquanto o combate é feito à larva, as fêmeas do mosquito adulto podem estar no ambiente transmitindo o vírus. Por isso, Maria da Glória acre-

FOTOS: GENILTON VIEIRA/INSTITUTO OSWALDO CRUZ



ra, Panamá, França e Itália. No final de novembro a Ecovec recebeu a visita de um representante do governo da Província de Queensland, na Austrália, interessado em adotar o sistema de monitoramento inteligente da dengue.

O preço para implantar a tecnologia depende do tamanho da cidade e do grau de infestação do mosquito. Na cidade de Congonhas, por exemplo, com 45 mil habitantes, o sistema custa R\$ 5.800,00 por mês. O contrato de prestação de serviços inclui cerca de 200 armadilhas instaladas, além das substâncias aromáticas, cartões adesivos, *palmtops* e todo o serviço de processamento dos dados e geração dos mapas de infestação, gráficos e tabelas, com livre acesso do gestor de saúde à internet. Eiras ressalta que no cálculo é preciso levar em conta tam-

ção de vetores e na tecnologia de que dispomos hoje, porque o tratamento dos focos mediante larvicidas não está sendo efetivo”, diz Maria da Glória Teixeira, da UFBA, principal autora de um estudo sobre a situação epidemiológica da dengue no Brasil e no mundo, publicado na revista *Cadernos de Saúde Pública*, da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), do Rio de Janeiro.

“Os grandes centros urbanos do país têm sido os mais afetados em função da elevada densidade populacional e condições deficientes de saneamento”, diz a pesquisadora. Segundo o estudo, a dengue é um dos maiores problemas de saúde pública do mundo, devido à sua grande expansão geográfica, complexas características clínicas e epidemiológicas e, principalmente, às dificuldades enfren-

ditada que a tecnologia desenvolvida na UFMG pode ter grande impacto no controle da dengue.

A pesquisadora trabalha com a hipótese de que ao reduzir a população de fêmeas adultas, capturadas nas armadilhas, há uma diminuição na transmissão do vírus. Para verificar se a premissa é correta, apresentou um projeto ao Ministério da Saúde, em parceria com Eiras, que será realizado em um grande centro urbano, como Salvador ou Rio de Janeiro. O projeto prevê a comparação de incidência de infecções pelo vírus da dengue em áreas com armadilhas instaladas com outras áreas na mesma cidade onde só é feito o tratamento tradicional. “O estudo envolve a condução de inquéritos soropidemiológicos na população residente nas áreas selecionadas, o que

Mosquito monitorado



Sistema desenvolvido na UFMG utiliza armadilha que imita o criadouro do *Aedes*, com água no fundo e uma substância sintética que atrai fêmeas grávidas do inseto. Ao entrar na armadilha, os mosquitos ficam presos a um adesivo e morrem

permitirá avaliar se ocorrerá a redução da transmissão do vírus da dengue”, diz a pesquisadora.

Outra frente de combate à dengue associa uma armadilha tradicional conhecida como ovitrampa, um larvicida biológico e a utilização de GPS (localizador geográfico baseado em satélites) para monitorar a população do *Aedes*. O projeto, que tem como objetivo desenvolver um modelo intensivo de controle do mosquito sem a utilização de inseticidas químicos, é conduzido há dois anos no Recife e Região Metropolitana por uma equipe coordenada por Lêda Regis, do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, unidade da Fiocruz em Pernambuco, em parceria com a Secretaria da Saúde. As ovitrapas são de plástico e dentro levam água e uma infusão de gramineas. As tradicionais são recipientes muito pequenos, com capacidade para abrigar de 300 a 500 mililitros de líquido. Elas precisam ser esvaziadas a cada sete dias, sob risco de a infusão se converter em criadouro de mosquitos. “Adaptamos as ovitrapas para poder permanecer mais tempo no campo e reduzir os custos operacionais”, diz Lêda.

Larvicida biológico - As armadilhas adaptadas comportam 2 litros e meio da infusão de água e gramineas e todas têm três suportes, onde os ovos são depositados, internamente em vez de apenas um. Além disso, para impedir que as lar-

vas se desenvolvessem foi adicionado um larvicida biológico, fabricado pela empresa Bthek Biotecnologia, de Brasília, que tem como principal componente o *Bacillus thuringiensis israelensis* (veja Pesquisa FAPESP nº 85). Essa bactéria produz uma toxina que, ao ser ingerida pela larva, causa danos ao intestino do inseto, provocando sua morte. A adição do Bti, nome comercial do bioin-

seticida, mata as larvas e, ao mesmo tempo, funciona como estimulante para que as fêmeas depositem ovos nas armadilhas. O larvicida também permite que a ovitrampa permaneça por mais de um mês no campo.

Uma vez por mês agentes de saúde retiram os suportes onde os ovos ficam grudados, levam para contagem em laboratório e renovam a infusão de grama e larvicida. Como as ovitrapas dispõem de referências geográficas, todas as informações coletadas são colocadas no mapa da cidade. “É um instrumento sensível e eficaz para detectar e monitorar áreas com elevada intensidade do mosquito *Aedes*”, diz Lêda.

As ovitrapas detectaram a presença de ovos, e conseqüentemente de fê-

meas adultas, em 88% a 96% dos imóveis em sete bairros do Recife. Para ilustrar a eficácia da armadilha, Lêda cita que em uma única ovitrampa foram recolhidos 8.900 ovos no período de um mês. Na mesma área, o índice de infestação predial, método tradicionalmente utilizado que se baseia na pesquisa visual das larvas, estava em torno de 1%. “Um dos experimentos realizados resultou no recolhimento e queima de mais de 10 milhões de ovos e redução da densidade populacional do mosquito em 60%”, diz Lêda. O projeto faz parte do Sistema de Apoio Unificado para Detecção e Acompanhamento em Vigilância Epidemiológica (Saudavel), que tem como parceiros, além da Fiocruz, o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (Inpe), a Universidade Federal do Paraná e a UFMG.

A busca por alternativas ao controle químico utilizado atualmente abre outras frentes de pesquisa, como a criação em laboratório de mosquitos geneticamente modificados. Um dos grupos de pesquisa, coordenado pela professora Margareth de Lara Capurro Guimarães, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP), construiu genes que funcionam como anticorpos contra a dengue, com interferência direta sobre o vírus da doença. “Eles reconhecem a partícula viral e tentam impedir que o vírus atinja a glândula salivar do mosquito”, diz Margareth.

A primeira etapa para a criação dos mosquitos transgênicos é a montagem de seqüências de DNA, inseridas no genoma do inseto para torná-lo um vetor menos eficiente. Os genes de interesse são então injetados nos embriões dos mosquitos, que são os ovos colocados pelas fêmeas para obter as linhagens geneticamente modificadas. Só após o nascimento das larvas é que dá para saber se os mosquitos são efetivamente transgênicos. “Injetamos 2.500 embriões para conseguir 20 famílias”, diz Margareth. A prova da transgenia está no gene marcador, inserido junto com o gene de interesse escolhido para combater o mosquito da dengue. O gene marcador determina a produção de uma proteína fluorescente e só é visto com um microscópio. Se a larva apresentar olhos verdes ou vermelhos e pontos da mesma cor brilhantes em seu dorso, é transgênica.

O grupo do Instituto de Ciências Biomédicas também pesquisa a esterilização

Números da dengue

➤ De 50 a 100 milhões de pessoas são infectadas no mundo por ano, com 550 mil internações e 20 mil mortes (Organização Mundial da Saúde).

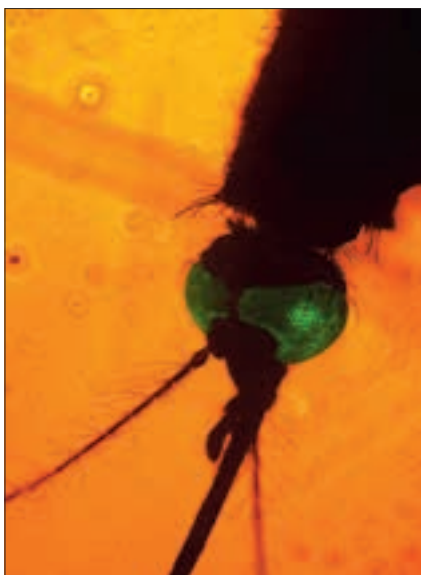
➤ No Brasil, entre janeiro e outubro de 2006, foram registrados 280.511 casos da doença, com 61 mortes.

do macho por irradiação com cobalto. Esse controle biológico já é utilizado na agricultura para combater a mosca-das-frutas. “Ao colocar machos estéreis na natureza há uma diminuição na população”, diz Margareth.

A fêmea do *Aedes* tem um comportamento sexual semelhante ao da mosca-das-frutas. Ela é fiel a um único companheiro. Portanto, se cruzar com um macho estéril, será incapaz de procriar. As fêmeas do *Aedes* colocam, de cinco em cinco dias, ovos resultantes de uma única fecundação. Se ela estiver infectada com dengue, parte de sua prole também estará. Por isso quando começam a ser relatados casos de dengue em uma região eles aumentam exponencialmente de forma muito rápida.

Gene letal -Além da interferência direta sobre o vírus, outra linha de pesquisa realizada na USP tem como base um mecanismo de ação que consiste em colocar um gene letal nos mosquitos que é expresso só nas fêmeas. “No laboratório temos controle para que a expressão desse gene letal seja mantida desligada e assim podemos obter as famílias transgênicas”, diz o pesquisador Mauro Toledo Marrelli, da Faculdade de Saúde Pública. Esse controle é feito colocando um represor químico, como o antibiótico tetraciclina, no meio das larvas.

Na natureza, apenas os machos com o gene letal seriam soltos para cruzar com as fêmeas selvagens, que vão produzir linhagem cujas fêmeas não passam da fase de pupa, uma etapa intermediária entre a larva e o mosquito. “Esse é um tipo de controle para diminuir a população que funciona como se fosse um inseticida



LUCIANO ANDRADE MOREIRA

Linhagem transgênica do vetor da malária aviária

mais específico, que não polui o ambiente”, diz Marrelli.

Os estudos estão sendo feitos com o *Culex quinquefasciatus*, mais conhecido pelo nome popular de pernilongo. A mesma construção genética pode ser usada com o *Aedes aegypti* e outros mosquitos, como o que transmite a malária. “O principal alvo da pesquisa com os mosquitos geneticamente modificados é a malária africana, que mata 2 milhões de crianças por ano”, diz Margareth.

No Brasil, um grupo de pesquisa coordenado por Luciano Andrade Moreira, do Centro de Pesquisas René Rachou, de Belo Horizonte, pertencente à Fiocruz, obteve quatro linhagens transgênicas de mosquitos do gênero *Aedes fluviatilis*, vetor da malária aviária, transmitida pelo

Plasmodium gallinaceum. A obtenção das linhagens significa que, quando estão na fase adulta, os mosquitos modificados cruzarão com outros da colônia e terão filhos que já nascerão com a alteração genética. O gene responsável por bloquear o parasita da malária é uma proteína chamada fosfolipase A2, presente no veneno de abelhas, capaz de bloquear o plasmódio, que é um protozoário (organismo unicelular) responsável pela infecção da malária, quando esse se encontra no intestino do mosquito.

O estudo, que começou há dois anos e conta com o apoio da Organização Mundial da Saúde (OMS), foi iniciado com a malária em galinhas por ser mais fácil de obter o ciclo completo desse parasita e pela semelhança do *P. gallinaceum* com o *Plasmodium falciparum*, que infecta humanos. “O próximo passo é tentar transformar geneticamente o mosquito *Anopheles aquasalis*, um vetor de malária humana no Brasil”, diz Moreira. Embora a criação de insetos geneticamente modificados pareça uma alternativa promissora para enfrentar a resistência dos mosquitos a inseticidas químicos, não dá para prever em quanto tempo eles poderão ser soltos na natureza, mesmo porque são necessários estudos aprofundados para ter certeza de que eles não irão provocar um desequilíbrio ambiental. Depois disso, ainda será necessário obter autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), entidade responsável pela liberação de organismos geneticamente modificados.

Armadilhas biotecnológicas, inicialmente, e transgênicos daqui a alguns anos são as novas esperanças para minar a resistência do *Aedes*, conhecido de longa data no Brasil. Na década de 1950, depois de uma intensa campanha de combate ao mosquito, o *Aedes* foi considerado eradicado por observadores internacionais. A vitória teve vida curta.

Em 1967, o *Aedes* foi detectado em Belém, trazido provavelmente em pneus contrabandeados do Caribe. Desde então, tem se mostrado bastante eficiente na capacidade de se adaptar ao ambiente, auxiliado pelo descarte sem os devidos cuidados de pneus, latas, copos e garrafas de plástico vazias, além de caixas d’água descobertas e pratos de vasos de plantas, locais preferidos como criadouros. Todo cuidado é pouco.

OS PROJETOS

Mosquitos geneticamente modificados: possíveis aplicações no controle da transmissão de malária e dengue

MODALIDADE

Programa Jovem Pesquisador

COORDENADORA

MARGARETH DE LARA CAPURRO - USP

INVESTIMENTO

R\$ 1.079.231,45 (FAPESP)

Desenvolvimento de metodologias alternativas no controle de mosquitos de importância epidemiológica: uso do método RIDL

MODALIDADE

Programa Jovem Pesquisador

COORDENADOR

MAURO TOLEDO MARRELLI - USP

INVESTIMENTO

R\$ 438.627,17 (FAPESP)