

VI-039 – TOXICIDADE AGUDA E RISCO AMBIENTAL DO MALATION – EMULSÃO AQUOSA, 44% - UTILIZADO NO COMBATE AO MOSQUITO *Aedes aegypti* PARA ORGANISMOS AQUÁTICOS

Ana Carla Coleone⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Estadual Paulista. Especialista em Química pela Universidade Federal de Lavras (UFLA). Mestre em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (FSP/USP). Doutoranda em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (FSP/USP). Auxiliar de serviços acadêmicos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV-UNESP).

Wanderley da Silva Paganini⁽²⁾

Engenheiro civil pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP). Mestre e doutor em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública (USP). Professor associado da Universidade de São Paulo (USP) e Superintendente de Gestão Ambiental da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP).

Endereço⁽¹⁾: Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n – Zona Rural – Jaboticabal – SP – CEP: 14884-900 – Brasil – Tel: (16) 3209-2621 - e-mail: anacarlabc@yahoo.com.br

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é vetor da febre amarela, dengue, zika e chikungunya. O controle químico com o inseticida malation diluído em óleo de soja nebulizado a ultrabaixo volume foi realizado por anos para combate do mosquito adulto, mas recentemente foi aprovada pela Organização Mundial da Saúde uma formulação diluída em água, o que diminui o custo da aplicação. Com o alarmante número de casos de doenças ligadas ao *A. aegypti*, são utilizadas por ano toneladas do inseticida para combate ao vetor. Porém, as pulverizações podem contaminar o ambiente e atingir organismos não-alvo. O objetivo deste estudo foi analisar os impactos oriundos da nebulização do malation, na formulação emulsão aquosa, à saúde ambiental, com base na avaliação da toxicidade aguda e do risco de intoxicação ambiental às espécies aquáticas *Oreochromis niloticus*, *Daphnia magna* e *Lemna minor*. Efeitos tóxicos foram visualmente observados em todos os organismos. Para a *D. magna*, o inseticida foi classificado como altamente tóxico, extremamente tóxico ou de toxicidade super extrema. Para os peixes, o malation é muito ou moderadamente tóxico, dependendo da escala classificatória, e para as lemnas, é levemente ou ligeiramente tóxico. Para a *D. magna*, ocorre um médio risco de intoxicação ambiental na maior profundidade considerada, e nos outros cenários ocorre alto risco, que é aceitável ou baixo para *O. niloticus* e *L. minor*, dependendo da escala de classificação. A nebulização peridomiciliar do malation pode acarretar danos à saúde ambiental. O microcrustáceo *D. magna* é a espécie mais sensível à intoxicação aguda.

PALAVRAS-CHAVE: *Aedes aegypti*, Malation, Ecotoxicologia, Risco Ambiental, Organismos Aquáticos.

INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* é o vetor de doenças de grande relevância para a saúde pública, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, destacando-se a febre amarela, dengue, zika e chikungunya (HENRIQUES, DUARTE e GARCIA, 2016).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda, para combate aos insetos adultos, a aplicação peridomiciliar do inseticida organofosforado malation a ultrabaixo volume (UBV) a frio (BRASIL, 2009). Esta prática foi introduzida no Brasil na década de 60, com a nebulização do malation diluído em óleo de soja, com equipamentos de nebulização de transporte costal ou acoplado a veículos. Porém, recentemente foi aprovada pela OMS e vem sendo utilizada, nos municípios brasileiros, uma formulação diluída em água, o que diminui o custo da aplicação (BRASIL, 2014).

Com o alarmante número de casos de doenças ligadas ao *A. aegypti*, toneladas do inseticida são utilizadas por ano para combate ao vetor. Porém, as pulverizações podem contaminar o ambiente em geral, atingir organismos não-alvo, e gerar impactos à saúde ambiental. Portanto, há a necessidade de se avaliar a toxicidade aguda e o

risco de intoxicação ambiental que a aplicação peridomiciliar do inseticida, em sua recente formulação aquosa, oferece a organismos aquáticos não-alvo como o microcrustáceo *Daphnia magna*, a macrófita *Lemna minor* e o peixe tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), a espécie de peixe mais cultivada no Brasil.

Os efeitos tóxicos agudos de um composto para determinado organismo podem ser indicados por testes em laboratório, de acordo com normas preestabelecidas. Os valores das concentrações que causam 50% de efeito letal/imobilização/inibição de crescimento (CL50; CE50) obtidos nestes testes podem ser utilizados, por sua vez, para classificar o composto químico em classes de toxicidade aguda, nas classes de Zucker (1985), Helfrish et al. (1996) e quanto ao potencial de periculosidade ambiental do IBAMA (1996), que é utilizada no Brasil para a regulamentação do registro de agrotóxicos.

Tais valores também podem ser utilizados para avaliar o risco de intoxicação ambiental agudo. A avaliação do risco é fundamental para analisar o impacto de compostos tóxicos no ambiente a partir de um quociente de risco (QR) e determinar a maior concentração em que o efeito ambiental resultante da exposição aguda a um toxicante é aceitável para um organismo.

O cálculo do QR é realizado a partir da divisão da CAE (concentração ambiental estimada) pelo valor da CL50 ou CE50 obtido nos testes de toxicidade aguda, ou ainda pelo CENO (concentração de efeito não observado), e assim o toxicante pode ser classificado nas classes de risco propostas por Goktepe et al. (2004) como de baixo, médio ou alto risco de intoxicação ambiental ou como causa ou não causa risco/risco aceitável, de acordo com a Comunidade Europeia (EC, 2003).

O presente trabalho teve como objetivo analisar os impactos oriundos da nebulização do inseticida malation, na formulação emulsão aquosa 44%, atualmente utilizada pelo MS para combate ao *A. aegypti*, à saúde ambiental, com base na avaliação e classificação da toxicidade aguda e do risco de intoxicação ambiental agudo para espécies representativas de três diferentes níveis tróficos: o microcrustáceo *Daphnia magna*, o peixe *Oreochromis niloticus*, e a macrófita *Lemna minor*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados de acordo com a norma NBR 15088 (ABNT, 2011) para o peixe *Oreochromis niloticus*, segundo a norma NBR 12713 (ABNT, 2009) para *D. magna*, e para *L. minor*, conforme o *Guideline 221* (OECD, 2002).

Inicialmente foram realizados ensaios com substância de referência para avaliar a sanidade e a sensibilidade do lote dos organismos-teste. A substância de referência utilizada nos testes foi o cloreto de sódio (NaCl, SYNTH, 99%) para *D. magna* e *L. minor*, e cloreto de potássio (KCl, DINÂMICA, 99–100,5 %) para *O. niloticus*.

Para os testes com o malation, foi utilizada a formulação emulsão aquosa (Komvektor™ EW 44%). Para as daphnias, as concentrações utilizadas do inseticida foram entre 0,001 a 1,00 mg/L, para as lemnas entre 1,00 – 128,00 ml/L e para as tilápias, entre 6,00 – 11,00 ml/L, e um tratamento controle para cada espécie. Os ensaios foram conduzidos em sistema estático, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e repetidos quatro vezes. Os resultados foram analisados por meio das médias dos quatro ensaios.

Os registros de mortalidade, imobilidade ou inibição de crescimento obtidos nos testes de toxicidade aguda foram realizados para cálculo das concentrações de malation que causam efeito agudo a 50% dos organismos, sendo: concentração efetiva mediana (CE50;48h) para *D. magna*, concentração inibitória mediana (CE50;7d) para *L. minor* e concentração letal mediana (CL50;48h) para *O. niloticus*. Os cálculos foram realizados pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al. 1977).

O malation (Komvektor™ EW 44%) foi classificado quanto a toxicidade aguda pelas classes de Zucker (1985) e Helfrish et al. (1996) e quanto ao potencial de periculosidade ambiental do IBAMA (1996), nas classes descritas na tabela 1.

Tabela 1. Valores de toxicidade aguda e classificação toxicológica para organismos aquáticos.
Valores de Toxicidade Aguda (mg/L) Classes de toxicidade aguda

	Valores de Toxicidade Aguda (mg/L)	Classes de toxicidade aguda
Zucker (1985)	CL50/CE50/CI50 < 0,1	Extremamente Tóxico
	0,1 < CL50/CE50/CI50 < 1	Altamente Tóxico
	1,0 < CL50/CE50/CI50 < 10	Moderadamente Tóxico
	10,0 < CL50/CE50/CI50 < 100	Ligeiramente Tóxico
	CL50/CE50/CI50 > 100	Praticamente Não Tóxico
Helfrigh et al. (1996t)	CL50/CE50/CI50 < 0,01	Super Extrema
	0,01 < CL50/CE50/CI50 < 0,1	Extrema
	0,10 < CL50/CE50/CI50 < 1	Alta
	1,00 < CL50/CE50/CI50 < 10	Moderada
	10,0 < CL50/CE50/CI50 < 100	Leve
IBAMA (1996)	CL50/CE50/CI50 > 100	Mínima
	0,0 ≤ CL50/CE50/CI50 < 1	Altamente Tóxico
	1,0 ≤ CL50/CE50/CI50 > 10	Muito Tóxico
	10,0 ≤ CL50/CE50/CI50 > 100	Medianamente Tóxico
	100,0 ≤ CL50/CE50/CI50	Pouco Tóxico

Em seguida, o inseticida foi classificado pelo risco de intoxicação ambiental agudo para os organismos nas classes do quociente de risco (QR), de GOKTEPE et. al (2004). O QR é calculado pela divisão do valor da concentração ambiental estimada (CAE) pelo valor da CL50 ou CE50, obtido nos testes de toxicidade aguda. Três são as classes de risco: se $QR > 0,5$, o composto é classificado como de alto risco; se $0,05 < QR < 0,5$, médio risco e, se $QR < 0,5$, baixo risco de intoxicação ambiental.

O cálculo da CAE resultante da aplicação da formulação aquosa do malation para o controle do mosquito adulto da dengue foi realizado considerando-se a deposição de toda a dosagem do inseticida na água em três profundidades: 0.3 m, por abranger a faixa onde se encontram o fitoplâncton e o zooplâncton, bases da cadeia alimentar aquática e profundidades de 1,5 e 2,0 m, recomendadas pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) para avaliação de risco em ambientes aquáticos (SOLOMON, 1996). Desta forma, foram calculados três valores da CAE. A dosagem de malation considerada no cálculo da CAE foi de 150 g/ha, conforme recomendação do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) para aplicação em UBV, uniformemente distribuída em uma área de 1 ha, e a água com a densidade média de 1.0 g/cm³.

O risco ambiental agudo do malation também foi estimado de acordo com o procedimento proposto pela Comunidade Europeia (EC), ou seja, por meio da divisão da CAE pela concentração de efeito não observado (CENO). A CENO é a maior concentração que não causa efeito ao organismo exposto nos testes de toxicidade aguda. Pela EC, o risco de intoxicação ambiental aguda devido ao uso do toxicante existe quando a relação $CAE/CENO > 1$, ou não existe/é aceitável, se a relação $CAE/CENO < 1$.

RESULTADOS OBTIDOS

Um aumento da mortalidade dos organismos em relação ao aumento da concentração de malation foi observado. Sinais de intoxicação aguda foram observados em todos os organismos a partir da CENO.

Os valores da CENO, da CE50;48h para *D. magna*, da CL50;48h para *O. niloticus* e CE50;7d para *Lemna minor* e as classificações do malation para as três espécies segundo Zucker (1985), Helfrigh et al. (1996) e IBAMA (1996) são indicados na tabela 2.

Após a obtenção dos dados apresentados na tabela 2, foi calculado o risco de intoxicação ambiental do inseticida para três cenários de diferentes profundidades. A concentração ambiental estimada (CAE) para as diferentes profundidades, o quociente de risco (QR) e a classificação do risco segundo Goktepe et al. (2004) e EC (2003) são descritos na tabela 3.

Tabela 2. Concentração efetiva/inibitória/letal mediana de malation – emulsão aquosa 44% - (mg/L) em testes de toxicidade aguda para *D.magna*, *L. minor* e *O. niloticus* e classificação toxicológica segundo Zucker (1985), Helfrish et al. (1996) e quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental do IBAMA (1996).

Organismos teste	CL/CE (mg/L)	CENO (mg/L)	Zucker (1985)	Helfrish et al. (1996)	IBAMA (1996)
<i>D. magna</i>	0,026	0,001	Extremamente tóxico	Toxicidade super extrema	Altamente tóxico
<i>O. niloticus</i>	8,44	6,00	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico	Muito tóxico
<i>L. minor</i>	20,39	1,00	Ligeiramente tóxico	Levemente tóxico	não se classifica

Tabela 3. Risco de intoxicação ambiental do malation – emulsão aquosa 44% - para *D. magna*, *O. niloticus* e *L. minor* de acordo com Goktepe et al. (2004).

Organismos teste	Profundidade (m)	CAE (mg/L)	Goktepe et al. (2004)		EC (2003)	
			QR	Classificação	QR	Classificação
<i>D. magna</i>	0,3	0,0500	1,9230	Alto risco	50,0	causa risco
	1,5	0,0150	0,5769		15,0	
	2,0	0,0075	0,2884	Médio risco	7,5	
<i>O. niloticus</i>	0,3	0,0500	0,0059	Baixo risco	0,0083	não causa
	1,5	0,0150	0,0017		0,0025	risco/risco
	2,0	0,0075	0,0008		0,0012	aceitável
<i>L. minor</i>	0,3	0,0500	0,0025	Baixo risco	0,0500	não causa
	1,5	0,0150	0,0007		0,0150	risco/risco
	2,0	0,0075	0,0004		0,0075	aceitável

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os sinais característicos da intoxicação pelo malation foram observados visualmente para as três espécies estudadas.

Nos cenários considerados neste estudo, o microcrustáceo *D. magna* é altamente afetado negativamente pelo malation, formulação emulsão aquosa 44%, na recomendação de uso em nebulização a UBV para combate ao mosquito *A. aegypti* adulto. Estes resultados estão de acordo com outros estudos, que indicam uma elevada toxicidade dos microcrustáceos aos organofosforados (BARATA et al., 2003). Uma alta toxicidade e um alto risco de intoxicação ambiental aguda para a *D. magna* também foram verificados por Abe et al. (2014) quando os organismos foram expostos ao inseticida organofosforado temefós, utilizado no combate do *A. aegypti* na forma larvária.

A comunidade zooplancônica, onde se inserem as daphnias, é responsável por 80% da produção secundária no ambiente aquático, de forma que alterações nocivas nestas populações podem causar danos à dinâmica de todo o ecossistema aquático (MANGAS-RAMÍREZ et al., 2001).

A recomendação do malation também afeta negativamente o peixe (*O. niloticus*) e a macrófita (*L. minor*), embora o inseticida seja de baixo risco, ou não causa risco/causa risco aceitável para estas espécies.

Os efeitos tóxicos observados nos peixes a partir da concentração de 7 mg/L decorrem da inibição da acetilcolinesterase e dos consequentes danos às vias fisiológicas dos animais (BRAGA e VALLE, 2007). A

intensidade de intoxicação da *L. minor* foi inferior à do peixe, mas os sinais externos de necrose nas frondes, observados a partir da concentração de 2 mg/L de malation, indicam o comprometimento de alguma via fisiológica das plantas, como citado por Souza et al. (2011). Na presença de organofosforados, as macrófitas tendem a perder a capacidade de detoxificação, ou seja, de metabolizar compostos tóxicos em não tóxicos (KREUZ e FONNÉ-PFISTER, 1992).

Com os resultados obtidos neste estudo, comparados aos resultados de Coleone (2014), pode-se inferir que a formulação aquosa do malation, que recentemente vem sendo usada pelo Ministério da Saúde, é menos tóxica do que a formulação oleosa, mas ambas são classificadas nas mesmas classes de toxicidade aguda e de risco de intoxicação ambiental.

CONCLUSÕES/RECOMENDAÇÕES

A nebulização peridomiciliar do malation pode ocasionar danos aos organismos estudados, representantes importantes das cadeias tróficas aquáticas.

A *D. magna* é a espécie mais sensível à intoxicação aguda e tem alto risco de intoxicação ambiental devido ao uso peridomiciliar da formulação aquosa de malation para profundidades de até 1,5m de água e médio risco em maior profundidade, segundo Goktepe et al. (2004) e causa risco segundo a classificação da EC (2003). O inseticida é classificado como extremamente tóxico pelas classificações de Zucker (1985) e altamente tóxico pelo IBAMA (1996) e apresenta uma toxicidade super extrema à espécie segundo as classes de HELFRISH et al. (1996).

Por outro lado, o risco de intoxicação ambiental do peixe e da lemna é baixo (Goktepe et al., 2004) ou não causa risco/tem risco aceitável segundo a classificação da EC (2003). Para *Lemna minor*, o malation é considerado como ligeiramente tóxico segundo as classes de Zucker (1985) e levemente tóxico pela classificação de Helfrish et al. (1996). Já para o peixe *Oreochromis niloticus*, o inseticida classifica-se como moderadamente tóxico pelas classes de toxicidade de Zucker (1985) e Helfrish et al. (1996), e como muito tóxico pelo IBAMA (1996).

Embora o modelo utilizado neste estudo para avaliação do risco de intoxicação ambiental seja simples, os resultados indicam que a nebulização peridomiciliar do malation pode ocasionar danos à saúde ambiental. Como forma de substituição do controle químico, recomenda-se o investimento na educação e envolvimento da sociedade, além do controle mecânico e de novas estratégias de controle biológico do mosquito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABE, F.R.; COLEONE, A.C.; MACHADO, A.A.; MACHADO-NETO, J.G. *Ecotoxicity and environmental risk assessment of larvicides used in the control of Aedes aegypti to Daphnia magna (Crustacea, Cladocera)*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 77, p. 37–45, 2014.
2. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera)*. 2009.
3. ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade Aguda – Método de ensaio com peixes*. 2011.
4. BARATA, C.; SOLAYAN, A.; PORTE, C. *Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 66, p. 125–139, 2004.
5. BRAGA, I.A., VALLE, D. *Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência*. *Epidemiologia e serviços de saúde*, 16, 4, p. 279-93, 2007.
6. BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue - Serie A. Normas e Manuais Técnicos*. – Brasília: Ministério da Saúde, 160 p., 2009.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. *Recomendações sobre o uso de Malathion Emulsão Aquosa - EA 44% para o controle de Aedes aegypti em aplicações espaciais a Ultra Baixo Volume (UBV)*. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/02/Recomenda----es-para-o-uso-de-malathion-EW.pdf>>. Acesso em 20 jun. 2016.

8. COLEONE, A.C. Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental. 2014. Dissertação de mestrado. Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. 2014.
9. E.C. (EUROPEAN COMMUNITIES). Technical guidance document in support of Commission Directive 1488/94 EEC on risk assessment for existing substances. Part II, environmental risk assessment. Luxembourg: Office for official publication of the European Communities, 337 p., 2003.
10. GOKTEPE, I., PORTIER, R., AHMEDNA, M. Ecological risk assessment of Neem-based pesticides. *J. environ. sci. health, Part B, Pestic., food contam., agric, wastes* 39, 2, p. 311-20, 2004.
11. HAMILTON, M.A. RUSSO, R.C. THURSTON, V. *Trimed Sperman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicology bioassays. Environmental Science and Technology.* v. 7, p. 714-719, 1977.
12. HELFRICH, L. A.; WEIGMAN, D. L.; HIPKINS, P.; STINSON, E. *Pesticides and aquatic animals: a guide to reducing impacts on aquatic systems.* 1996. Disponível em: www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf. Acesso em 10 de mar. de 2013.
13. HENRIQUES, C. M.; DUARTE, E.; GARCIA, L. P. Desafios para o enfrentamento da epidemia de microcefalia. *Epidemiol. Serv. Saúde*, 25, 1, p. 7-10, jan-mar 2016.
14. IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Portaria normativa n°84/1996. 1996. Sistema de classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental – PPA. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/qualidade-ambiental/avaliacao-do-potencial-de-periculosidade-ambiental-ppa/pagina-4>. Acesso em 2 de jan. de 2013.
15. KREUZ, K., FONNÉ-PFISTER, R. *Herbicide-insecticide interaction in maize: Malathion inhibits cytochrome P450-dependent primisulfuron metabolismo.* *Pestic. Biochem. Physiol.*, 43, 3, p. 232-40, 1992.
16. MANGAS-RAMÍREZ, E.; SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. *Combined effects of algal (Chlorella vulgaris) density and ammonia concentration on the population dynamics of Ceriodaphnia dubia and Moina macrocopa (Cladocera).* *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 51, p. 216-222, 2004.
17. OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. *Lemna sp.* Growth Inhibition Test. In: *GUIDELINE for testing of chemicals*, 2002.
18. SOLOMON, K.R. *Ecotoxicological risk assessment of pesticides.* Guelph:University of Guelph, 1996. 76p.
19. SOUZA, J.P., MEDEIROS, L.S., WINKALER, E.U., MACHADO-NETO, J.G. *Acute toxicity and environmental risk of diflubenzuron to Daphnia magna, Poecilia reticulata and Lemna minor in the absence and presence of sediment.* *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, 21, p. 1-12, 2011.
20. ZUCKER, E. Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure – Acute toxicity test for freshwater fish (USEPA Publication 540/9-85-006), 1985.