



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA AFRO-
BRASILEIRA - UNILAB**

**INSTITUTO DE ENGENHARIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
MESTRADO ACADÊMICO EM SOCIOBIODIVERSIDADE E TECNOLOGIAS
SUSTENTÁVEIS**

**SELEÇÃO DE PLANTAS COM ATIVIDADE LARVICIDA PARA O CONTROLE DE
Aedes aegypti E *Aedes albopictus***

ALZEIR MACHADO RODRIGUES

**REDENÇÃO/CE
2016**

ALZEIR MACHADO RODRIGUES

SELEÇÃO DE PLANTAS COM ATIVIDADE LARVICIDA PARA O CONTROLE DE
Aedes aegypti E *Aedes albopictus*

Dissertação submetida ao Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis/Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis.

Orientação: Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins.

REDENÇÃO/CE
2016

ALZEIR MACHADO RODRIGUES

**SELEÇÃO DE PLANTAS COM ATIVIDADE LARVICIDA PARA O CONTROLE DE
Aedes aegypti E *Aedes albopictus***

Dissertação submetida ao Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis/Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis.

Orientação: Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins.

Aprovada em 13/10/2016

Prof. Dr. Victor Emanuel Pessoa Martins
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof^a. Dr^a. Caroline de Goes Sampaio
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Aluísio Marques da Fonseca
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof^a. Dr^a. Maria Izabel Florindo Guedes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

**Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro- Brasileira
Direção de Sistema Integrado de Bibliotecas da UNILAB (DSIBIUNI)
Biblioteca Setorial Campus Liberdade
Catalogação na fonte**

Bibliotecário: Gleydson Rodrigues Santos – CRB-3 / 1219

Rodrigues, Alzeir Machado.

R611s

Seleção de plantas com atividade larvicida para o controle de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. / Alzeir Machado Rodrigues. – Redenção, 2016.

76 f.; 30 cm.

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis - MASTS da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira – UNILAB.

Orientador: Prof^o. Dr^o. Victor Emanuel Pessoa Martins.

Inclui figuras, referências e tabelas.

1. Dengue – Brasil – Produtos naturais. I. Título

CDD 616.9185200981

Aos meus amigos e familiares,
especialmente, à minha mãe, Zezé
(*in memoriam*), dedico.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos são extensos para serem detalhados, visto que muita coisa tem acontecido até que chegasse a esse Mestrado, e, além disso, leva-lo até o fim tem requerido imensos sacrifícios. São tantas pessoas envolvidas nesta trajetória, que posso, eventualmente, esquecer de alguma(s), portanto, agradeço genericamente a todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram nesse período de formação.

Inicialmente, gostaria de agradecer ao poderoso Deus, mesmo minha fé às vezes sendo falha, sou grato por todas as conquistas que já tem me proporcionado, essa é mais uma, e creio que outras virão.

Agradeço a minha “mamãe”, Zezé (*in memoriam*), por todos os seus esforços desde a minha infância para a concretização de seu sonho em me ver formado. Iniciar esta etapa, logo após perder você, não foi, em momento algum, fácil. Sei que onde for levarei você em meu coração e mente, e que a forma mais linda de continuar vivendo é ter filhos. Sua falta é constante, mas sigo em frente com os sonhos que sonhamos juntos, como uma família. Levo comigo a certeza de que estou conquistando aquilo que acreditou, defendeste minha educação mesmo diante de todos os percalços da vida. Amarei-te eternamente, “mamãe”!

Agradeço a minha digníssima esposa, Virlene, por todo apoio que tem me dado durante essa trajetória. No início parecia difícil de terminar, mas estamos concretizando mais esse passo, e certamente outros virão. Vemos, agora, que todas as lágrimas derramadas ao sair e ao chegar estão valendo a pena, e que o amor que temos um pelo outro tem nos dado força para superar a distância que foi necessária. Obrigado pela forma como encarou essa situação. Te amo!

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Victor Martins, por toda a paciência e ensinamentos compartilhados nesses dois anos. Tive muita sorte de encontrar um orientador tão responsável e tão comprometido com a ciência, sempre tão dedicado em ajudar. Aprendi muita coisa nova, tive muitas experiências que levarei para a vida.

Agradeço ao meu pai, Agrimar, pelo esforço que fez para me educar em meios às condições conflituosas que passamos. Este trabalho também é seu!

Agradeço ao casal Aldimar e Jocelia, vocês são muito mais que irmão e cunhada, são amigos que têm me encorajado a seguir em frente com os meus sonhos, são pessoas que sei que posso contar em todos os momentos.

Agradeço aos professores do Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis - MASTS por toda a colaboração durante essa trajetória acadêmica, não foi fácil fazer parte da primeira turma de um programa de mestrado. Em especial agradeço a professora Dra. Juliana Jales por toda a paciência que teve ao início do MASTS.

Agradeço aos professores da Faculdade de Educação, Ciências e Letras de Iguatu – FECLI, em especial aqueles que me apoiaram na reta final, Márcia Melo, Jones Baroni, Fernando Roberto e Alana Cecília, por todo o apoio e incentivo ao prosseguimento de estudos. Além disso, Márcia Melo me ajudou muito no meu projeto de dissertação necessário ao processo seletivo, serei imensamente grato por sua tão grande colaboração.

Aos amigos Francisco Damião, Angélica ‘Braga’, Mauro Barbosa e Maria Gleide, meu muito obrigado pela hospitalidade que me receberam em suas casas, quando requeridos, vocês foram pessoas muito importantes nessa trajetória.

Aos amigos do MASTS, em especial ao Helder Ferreira, Mauro Macedo, Héliida Barroso, Etho Robério e André Pinto, foi muito bom ter convivido com pessoas tão inteligentes e de pensamentos, ocasionalmente, diversos dos meus. Aprendi muito com cada um de vocês, e levarei comigo na estrada da vida.

Agradeço ainda as pessoas dos laboratórios que contribuíram com a minha pesquisa, aos integrantes do Laboratório de Química de Produtos Naturais, na pessoa da professora Dra. Selene Moraes, por ter me recebido em seu laboratório, agradeço também a Ana Livya por seus ensinamentos de Química, eles foram cruciais para meus experimentos. Meu muito obrigado ao pessoal do Laboratório de Química do Instituto Federal do Ceará – Campus Maracanaú, na pessoa da professora Dra. Caroline Goes, pelas colaborações em meus ensaios.

Aqueles que fazem parte do Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal do Ceará, obrigado por ter nos cedido o espaço para realização dos testes. Obrigado aos professores Dr. Luciano Pamplona e Dr. Henrique Alencar. Aos amigos e colaboradores Levi Feijão, Lucas Vanâncio, Cláudia, Belta, Caroline, Vera e Hugo, agradeço imensamente pela forma como me receberam e me transmitiram os conhecimentos práticos.

Aos amigos Viviane Missias, Marciana Lopes, João Victor, Idalécio Borges, Jakson, Josiell, Veruska Monteiro, Rogério César, Luis Félix e Eriglécia de Lima agradeço muitíssimo pela força e colaboração para que eu seguisse em busca dos meus objetivos, vocês, juntamente com as equipes das escolas EEEP Alfredo Nunes de Melo e EEEP Lucas Emmanuel Lima Pinheiro, me apoiaram nessa caminhada, meu muito obrigado a todos.

Aos colegas da eterna turma de concludentes 2013.2, turma Sinergia - José Laécio, Sabrina Assunção, Danyelle Limeira, Kiara, Francisca Fernandes, Diogo Luis e demais colegas, levarei vocês sempre onde for, e meu muito obrigado por me darem força durante esses paços que tenho escolhido traçar.

A essa família que ganhei nos últimos cinco anos - Nazira, Vicente e Vilanir, agradeço por toda a colaboração em acompanhar minha esposa e cuidar dela enquanto estava longe. Vocês são uma família linda!

À FUNCAP pela bolsa e pelo apoio financeiro concedido.

A todos, muito obrigado!

RESUMO

As espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* apresentam uma grande dispersão no ambiente urbano, estando associadas à dengue por serem vetores mecânicos dos quatro sorotipos de flavivírus causadores desta doença. Desta maneira, diversas estratégias para o controle destes mosquitos têm sido desenvolvidas, dentre elas, o controle utilizando produtos naturais de origem vegetal, cujas principais vantagens encontram-se em características como a biodegradação e atividade específica. O objetivo deste trabalho é avaliar o potencial larvicida de produtos naturais de origem vegetal sobre *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Foram utilizados para o controle larval os óleos essenciais de *Syzygium aromaticum*, *Croton nepetaefolius*, *Cymbopogon citratus*, os ésteres metílicos de *Linum usitatissimum*, *Helianthus annuus* e *Brassica napus* e os extratos etanólicos de *Anadenanthera colubrina*, *Mormodica charantia* e *Sterculia striata*. Os óleos essenciais foram obtidos a partir da destilação a vapor, os extratos etanólicos por meio da imersão das amostras em álcool etílico durante vinte dias, seguido da eliminação do solvente por evaporador rotativo a vácuo e os ésteres metílicos foram obtidos a partir da metilação dos extratos hexânico. As CL₅₀ obtidas para os óleos essenciais de *S. aromaticum*, *C. nepetaefolius* e *C. citratus* foram, respectivamente, de 68,35 mg/L, 89,11 mg/L e 1.969,85 mg/L. Em relação aos ésteres metílicos de *L. usitatissimum*, *H. annuus* e *B. napus* as CL₅₀ foram, respectivamente, de 520,28 mg/L, 485,12 mg/L e 231,72 mg/L. Já os extratos etanólicos de *A. colubrina*, *M. charantia* e *S. striata* apresentaram CL₅₀ de 4.106,70 mg/L, 560,18 mg/L e 2973,60 mg/L. Deste modo, os produtos naturais que manifestaram uma maior atividade sobre as larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e Rockfeller, foram os óleos essenciais de *S. aromaticum* e *C. nepetaefolius* e os ésteres metílicos do *B. napus*. As CL₅₀ obtidas para as cepas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e Rockfeller foram de 545,55 mg/L, 431,79 mg/L e 412,35 mg/L, respectivamente, quando considerados todos os produtos naturais testados. Observa-se que os óleos essenciais e os ésteres metílicos apresentaram uma menor CL₅₀ quando comparados aos extratos etanólicos, oferecendo, portanto, perspectivas positivas para o controle integrado de *Aedes* spp. A cepa Rockfeller, como esperado por serem mantidas por várias linhagens em laboratório, demonstrou uma maior susceptibilidade aos tratamentos, e, dentre as outras duas, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, a primeira se mostrou mais resistente e a segunda mais susceptível.

Palavras-chave: Produtos naturais. Gênero *Aedes*. Dengue.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* species have a large dispersion in the urban environment, being associated with dengue to be mechanical vectors of the four serotypes causing flaviviruses this disease. Thus, various strategies for controlling mosquitoes of these have been developed, among them, the control using natural products of vegetable origin, whose main advantages are characteristics such as specific activity and biodegradation. The objective of this study is to evaluate the larvicidal potential of natural products of plant origin on *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. Were used for larval control essential oils of *Syzygium aromaticum*, *Croton nepetaefolius*, *Cymbopogon citratus*, the methyl esters of *Linum usitatissimum*, *Helianthus annuus* and *Brassica napus* and ethanol extracts of *Anadenanthera colubrina*, *Mormodica charantia* and *Sterculia striata*. The essential oils were obtained from the steam distillation, the ethanol extracts by dipping the samples in ethyl alcohol for twenty days, followed by removal of the solvent by rotary evaporation in vacuo and the methyl esters were obtained from the methylation of the extracts hexane. The CL₅₀ value obtained for the essential oils of *S. aromaticum*, *C. nepetaefolius* and *C. citratus* were respectively of 68.35 mg/L, 89.11 mg/L and 1969.85 mg/L. Regarding the methyl esters of *L. usitatissimum*, *H. annuus* and *B. napus* the CL₅₀ were respectively of 520.28 mg /L, 485.12 mg /L and 231.72 mg /L. Already the ethanol extracts of *A. colubrina*, *M. charantia* and *S. striata* showed CL₅₀ of 4106.70 mg /L, 560.18 mg /L and 2973.60 mg /L. Thus, natural products showed higher activity on larvae of *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* and Rockefeller were essential oils *S. aromaticum* and *C. nepetaefolius* and the methyl esters of *B. napus*. The CL₅₀ value obtained for the strains of *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* and Rockefeller were 545.55 mg/L, 431.79 mg /L to 412.35 mg /L, respectively, when considered all natural products tested. It is observed that the essential oils and methyl esters showed a lower CL₅₀ when compared to ethanol extracts, offering therefore a positive outlook for the integrated control of *Aedes* spp. The Rockefeller strain, as expected to be maintained for several laboratory strains showed a greater susceptibility to treatment, and, among the other two, *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*, the first was more resistant and the second most likely.

Key-words: Natural products. Genus *Aedes*. Dengue.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DENV – Vírus da Dengue

mg – Miligrama

L – Litro

DMSO – Dimetilsulfóxido

CL – Concentração letal

CL₅₀ – Concentração suficiente para eliminar 50% das larvas

CL₉₀ – Concentração suficiente para eliminar 90% das larvas

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

IIP – Índice de Infestação Predial

IB – Índice Breteau

°C – Graus Celsius

mL – Mililitro

F1 – Primeira geração, descendente da geração parental

h – Hora

AA – *Aedes albopictus*

AE – *Aedes aegypti*

RF – Rockefeller

AC – *Anadenanthera colubrina*

BN – *Brassica napus*

CC – *Cymbopogon citratus*

CN – *Croton nepetaefolius*

HA – *Helianthus annuus*

LU – *Linum usitatissimum*

MC – *Mormodica charantia*

SA – *Syzygium aromaticum*

SS – *Sterculia striata*

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Fórmulas estruturais básicas de organofosforados (A), carbamatos (B) e piretróides (C).....	16
Figura 02:	Fórmulas estruturais de DDT (A), hexacloroexano (B), aldrin (C), dieldrin (D) e clordano (E).....	17
Figura 03:	Municípios onde foram identificadas infestações por <i>Ae. aegypti</i> , mostrando a presença deste vetor em todos os Estados da Federação.....	19
Figura 04:	Estados brasileiros onde foi identificada a presença de <i>Ae. albopictus</i> . Entre 1886-1990 (cinza claro: Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo), 1991-2002 (cinza escuro: Amazonas, Rondônia, Pará, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Paraíba, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), 2003-2014 (preto: Ceará, Tocantins, Roraima e Piauí), e os estados onde não ocorreu ainda a identificação da presença (branco: Acre, Amapá e Sergipe).....	22
Figura 05:	Diferenças morfológicas de larvas, pupas e adultos de <i>Ae. aegypti</i> (A) e <i>Ae. albopictus</i> (B). A1: espículas laterotorácicas (bastante desenvolvidas), B1: espículas laterotorácicas (pouco desenvolvidas); A2: palhetas natatórias de pupas (ausência de cílios), B2: palhetas natatórias de pupas (presença de cílios); A3: mesonoto com escamas brancas em forma de lira, B3: mesonoto com escamas brancas com apenas uma faixa longitudinal presente.....	23
Figura 06:	Representação da fórmula estrutural de alguns compostos organofosforados. A- temefós, B- fenitroion e C- malation.....	29
Figura 07:	Fórmulas estruturais básicas de eugenol (A), 1,8-cineol (B) e timol (C).....	31
Figura 08:	Representação das regionais de Fortaleza-CE, com ênfase na Regional II, especialmente nos bairros São João do Tauape e Cocó, locais onde foram realizadas as coletas de ovos de <i>Aedes</i> sp.....	40
Figura 09:	Esquema representativo de atividades de manutenção de colônia de <i>Aedes</i> spp. A – Momento de imersão em água dos ovos obtidos da colônia. B – Pupas sendo distribuídas em recipientes plásticos de 100mL (1), utilizando-se uma pipeta (2). C – Gaiola para manutenção das formas aladas, que utilizam como alimento a solução açucarada.....	41
Figura 10:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tipo de <i>larva</i>	45
Figura 11:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tipo de <i>larvicida</i>	45

	<i>natural</i>	
Figura 12:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao <i>tempo de exposição</i>	46
Figura 13:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>larvicida x tempo de exposição</i>	46
Figura 14:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>tipo de larva x tempo de exposição</i>	47
Figura 15:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>concentração do larvicida x tempo de exposição</i>	47
Figura 16:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>larvicida x concentração do larvicida</i>	48
Figura 17:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>tipo de larva x concentração do larvicida</i>	48
Figura 18:	Perfis médios da proporção de mosquitos mortos com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação <i>larvicida x tipo de larva</i>	49
Figura 19:	Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 1.....	53
Figura 20:	Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 2.....	53
Figura 21:	Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 3.....	54
Figura 22:	Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 4.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 01:	Extratos vegetais e óleos essenciais utilizados no controle de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	33
Tabela 02:	Descrição das variáveis independentes com relação a variável dependente.....	43
Tabela 03:	Análise de desvio levando em consideração o modelo logístico....	49
Tabela 04:	Estimativas dos parâmetros referentes ao modelo logístico ajustado aos dados sobre larvas mortas.....	50
Tabela 05:	Concentração letal 50% (CL ₅₀) das larvas de <i>Aedes</i>	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Aspectos biológicos e ecológicos dos vetores de dengue no Brasil.....	18
1.1.1 <i>Aedes aegypti</i>	18
1.1.2 <i>Aedes albopictus</i>	21
1.2 Vigilância entomológica de <i>Aedes</i> spp.....	25
1.3 Controle vetorial de <i>Aedes</i> spp.....	26
1.3.1 Inseticidas sintéticos no controle de <i>Aedes</i> spp.....	28
1.3.2 Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de <i>Aedes</i> spp.....	31
1.4 Justificativa.....	38
2. OBJETIVOS.....	39
2.1 Geral.....	39
2.2 Específicos.....	39
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1 Espécies vegetais utilizadas para a obtenção de produtos naturais.....	40
3.2 Obtenção de extratos etanólicos.....	40
3.3 Obtenção de óleos essenciais.....	40
3.4 Obtenção de ésteres metílicos.....	41
3.5 Coleta de ovos e manutenção de larvas e adultos de <i>Ae. aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i>	41
3.6 Atividade larvicida dos óleos essenciais, extratos etanólicos e ésteres metílicos.....	43
3.7 Critérios para avaliação estatística.....	43
4. RESULTADOS.....	44
5. DISCUSSÃO.....	56
6. CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

As doenças que têm como vetores os mosquitos são consideradas preocupantes no mundo inteiro, principalmente em países tropicais e subtropicais, em decorrência das condições favoráveis para a proliferação e dispersão desses insetos (BOSSCHE; COETZER, 2008; KAMIABI; JAAL; KENG, 2013). Dentre as doenças transmitidas por vetores, destaca-se a dengue, infecção viral transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo considerada uma das maiores preocupações de saúde pública, diante da estimativa de 50 milhões de casos anualmente no mundo (SILVA et al., 2015; WHO, 2011).

Dengue é uma doença viral que expandiu o número de casos nos últimos 50 anos, sua incidência sendo identificada em áreas rurais e urbanas. Aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas vivem em países que a dengue é endêmica, sendo necessária a articulação entre os diversos continentes para controle desta doença (WHO, 2009).

As espécies do gênero *Aedes* são vetores potenciais de diversas doenças humanas, dentre elas dengue, febre amarela, chikungunya e Zika (SMITH; KASAI; SCOTT, 2016). Estimativas apontam que 40% da população está susceptível a infecção por dengue, sendo que nas Américas, os vírus dengue têm persistido na natureza através de seus ciclos de transmissão homem – *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) – homem, portanto, nos registros epidemiológicos do continente, o principal vetor para esta arbovirose é o *Ae. aegypti*. Outra espécie deste mesmo gênero, apresenta a capacidade de transmitir os vírus dengue, o *Aedes albopictus* (Skuse 1894). Entretanto, o *Ae. albopictus* ainda não tem sido associado a casos de epidemia da virose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; PANCETTI et al., 2015).

O *Ae. albopictus* encontra-se amplamente distribuído pelo Brasil, e mesmo não tendo-se casos confirmados pela literatura de surtos de dengue provocados por esta espécie, tal possibilidade não pode ser descartada (PESSOA et al., 2013b).

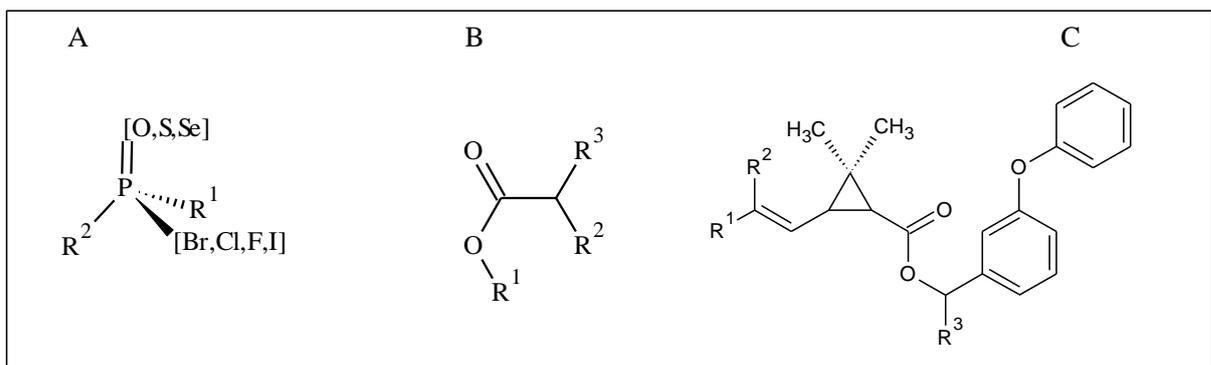
A espécie *Ae. albopictus* encontra-se bastante adaptada às condições silvestres, no entanto, devido ao crescimento desordenado das cidades, que em muitos casos envolve também a falta de instalações adequadas nas residências, como reservatórios descobertos que possam acumular água durante o período mínimo de desenvolvimento de imaturos do mosquito. Além disso, o processo de adaptação dessa espécie é favorecido nos espaços que circundam as residências, potencializando a capacidade de participar do ciclo de transmissão dos vírus dengue, e, desta forma, podendo ser considerado um vetor importante da dengue e de outras arboviroses (MARTINS et al., 2010b).

Diante da capacidade de se adaptar ao ambiente urbano, o *Ae. albopictus* torna-se um vetor potencial de dengue, podendo contribuir para o aumento no número de casos em grandes cidades. Deste modo, Valle e Braga (2007) considera que o *Ae. aegypti* apresenta uma melhor adaptabilidade as condições presentes no intradomicílio, já o *Ae. albopictus* consegue se desenvolver melhor no peridomicílio.

Analisando-se do ponto de vista epidemiológico, a dispersão e adaptação de *Ae. albopictus*, nos diversos gradientes ecológicos, nos remete ao já observado no continente asiático, onde esses mosquitos conseguiram se dissipar para as mais variadas regiões (GOMES et al., 1992). Neste âmbito, há possibilidade desta espécie realizar um elo entre o meio selvagem e o urbano, pois essa espécie vem desenvolvendo habilidades de sobrevivência, em especial, no ambiente peridomiciliar (TAIPE-LAGOS; NATAL, 2003).

O uso de inseticidas químicos como forma de controle de vetores de doenças humanas, como a dengue, tem sido a medida mais eficaz dentre as disponíveis até o momento. Entre os compostos químicos mais utilizados destacam-se os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (FIGURA 01; GOVINDARAJAN et al., 2013; MACORIS et al., 2003).

Figura 01: Fórmulas estruturais básicas de organofosforados (A), carbamatos (B) e piretróides (C).



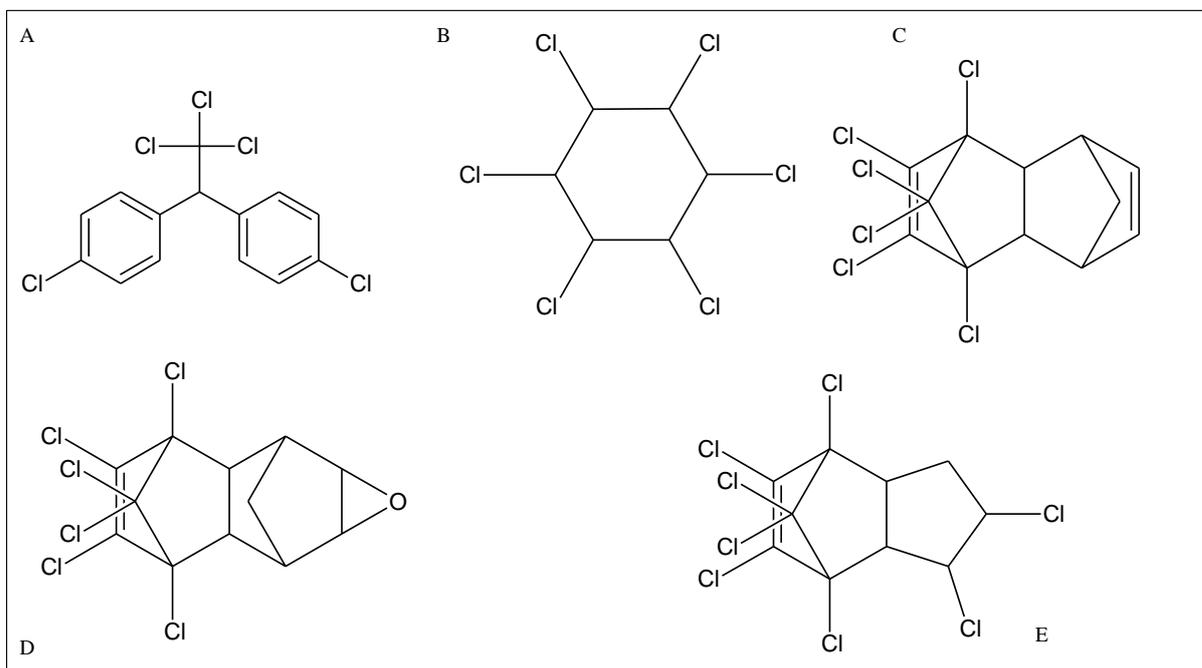
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os organoclorados apresentam a capacidade de bioacumulação nos organismos vivos e, deste modo, ao longo da cadeia alimentar, sendo identificada a biomagnificação desses compostos sintéticos, cujos principais inseticidas desta categoria são: para-diclorodifeniltricloroetano (DDT), hexaciclocloroexano, ((1R,4S,4aS,5S,8R,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexaclaro-1,4,4a,5,8,8a-hexa-1,4:5,8-dimetano-naftalina) (aldrin), ((1R,4S,4aS,5S,6S,7R,8R,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexaclaro-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octa-6,7-epóxi-

1,4:5,8-dimetano-naftalina) (dieldrin) e (1,2,4,5,6,7,8,8-octacloro-2,3,3alfa,4,7,7alfa-hexa-4,7-metanoindeno) (clordano) (FIGURA 02; OWENS, 1996).

Os organofosforados foram preparados pelo homem desde a Idade Média, entretanto, o seu estudo sistematizado teve início apenas no século XX. Logo após pesquisas, percebeu-se suas propriedades tóxicas e, deste modo, os compostos com o átomo de fósforo polarizável começaram a ser utilizados para fins comerciais, sendo que as diferenças em atividade destes compostos estão relacionadas, significativamente, com as propriedades estruturais. A razão principal para a alta eficiência dos compostos organofosforados como inseticidas é o seu alto efeito biológico (levando diversas espécies à morte), acoplado com a sua considerável instabilidade na biosfera - diante da sua meia-vida em plantas constituir na ordem de 2 a 10 dias (SANTOS et al., 2007). Esses compostos são amplamente estudados por sua capacidade de induzir neurotoxicidade no desenvolvimento (ZANQUETTA, 2011).

Figura 02: Fórmulas estruturais de DDT (A), hexaclorocicloexano (B), aldrin, (C), dieldrin (D) e clordano (E).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os carbamatos são inseticidas que derivam do ácido carbâmico, tendo sua comercialização iniciada na década de 1960. Dentre os mais difundidos no mercado encontra-se o (1-naftil metil carbamatos) - carbaril®. Da mesma forma que os organofosforados, os carbamatos apresentam alta letalidade para insetos, devido a sua possibilidade de inativação

enzimática, que inclusive irá configurar certa especificidade na sua atividade, sendo, porém, sistêmicos para plantas (BRAGA; VALLE, 2007a).

Os piretróides são bastante utilizados nos programas de saúde pública no controle de insetos que são vetores de doenças humanas. Em meio à segurança atribuída a estes compostos seu uso foi significativamente difundido na agricultura, fazendo com que a presença residual desses inseticidas nos alimentos que são consumidos oferece riscos à humanidade diante dos efeitos adversos que podem ocasionar a longo prazo (SANTOS; AREAS; REYES, 2007).

Fatores como a proliferação de indivíduos resistentes a esses compostos químicos, assim como o risco de trazer prejuízos para organismos não-alvo, são algumas das desvantagens do uso de tais compostos (MILAM; FARRIS; WILHIDE, 2000). Como método alternativo aos inseticidas químicos, surgem os inseticidas botânicos, que trazem uma série de vantagens, dentre elas, o fato de serem biodegradáveis, e, deste modo, não causarem um comprometimento maior ao meio ambiente. Some-se a isso, o fato de causarem poucos efeitos aos organismos não-alvos e serem muitas vezes de baixo custo (GOVINDARAJAN et al., 2013a).

1.1 Aspectos biológicos e ecológicos dos vetores de dengue no Brasil

1.1.1 *Aedes aegypti*

Muito embora haja a tendência de conferir uma origem africana ao *Ae. aegypti* (provavelmente oriundo da região da Etiópia, porém tendo sido descrito pela primeira vez no Egito), a presença na porção subsahariana do continente africano de variantes de *Ae. formosus*, tido como seu ancestral, reforça ainda mais essa tendência (FORATTINI, 1995). Partindo-se desta premissa, portanto, e com o suporte de inúmeros estudos epidemiológicos, pode-se inferir que da África o *Ae. aegypti* se dispersou para o hemisfério ocidental por volta do século XVII, para a região mediterrânea no século XVIII, para a Ásia tropical no século XIX e, finalmente, para as ilhas do Pacífico no final do século XIX e início do século XX (CHRISTOPHERS, 1960; COOKMAN; LEBRUN, 1986). Assim, é prudente dizer que o *Ae. aegypti* acompanhou o homem em suas incursões pelo mundo, permanecendo onde as alterações antrópicas permitiram a sua proliferação. Atualmente é considerada uma espécie

cosmopolita, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais situadas, sobretudo, entre os paralelos de 45°N e 35°S (FORATTINI, 2002; RODHAIN; ROSEN, 1997).

No Brasil, acredita-se que a introdução do *Ae. aegypti* deu-se durante o período colonial, provavelmente com o intenso tráfico de escravos. Em virtude de sua participação na transmissão da febre amarela urbana fora intensamente combatido e considerado erradicado em 1955 (FRANCO, 1976). Na década seguinte, entretanto, registros de sua presença em território brasileiro foram novamente assinalados, atribuindo-se a esta reinvasão o descuido das ações de controle deste culicídeo em países fronteiriços (SOPER, 1965). Estando presente em todos os Estados da Federação (FIGURA 03).

Diversos fatores estão relacionados com a disseminação de culicídeos domiciliados, sendo que a expansão geográfica de populações de *Ae. aegypti* envolve aspectos ambientais e sociais, como, por exemplo, o clima, a densidade demográfica e a atividade econômica. O clima tem influência crucial na distribuição e abundância de insetos, assim como na epidemiologia das doenças que por eles são transmitidas. A espécie *Ae. aegypti* tem uma distribuição significativa em regiões tropicais e subtropicais, limitada a uma isoterma do mês mais frio de 10 °C, fato que comprova uma menor infestação na região sul do Brasil (GLASSER; GOMES, 2002).

Figura 03: Municípios onde foram identificadas infestação por *Ae. aegypti*, mostrando a presença deste vetor em todos os Estados da Federação.



Fonte: (BRAGA; VALLE, 2007a)

No Estado do Ceará, as primeiras referências acerca da presença do *Ae. aegypti* datam do ano de 1851, quando foram registrados os primeiros casos de febre amarela (STUDART, 1997). Ações de combate à febre amarela, voltadas essencialmente ao controle do vetor, resultaram num período de silenciamento da doença no Estado, que perdurou até meados dos anos 1980, quando observou-se a sua reintrodução em território cearense, a partir dos registros de sua ocorrência feitos nos municípios de Aquiraz, Beberibe e Fortaleza (LIMA, 1985).

Trata-se de um mosquito de hábitos predominantemente sinantrópicos (animais que se adaptam a viver junto ao homem) e antropofílicos (parasitar ou infectar o ser humano), bem adaptado às temperaturas mais elevadas e às precipitações pluviométricas abundantes (GADELHA; TODA, 1985). Possui grande capacidade adaptativa aos criadouros artificiais, representados por aqueles abandonados pelo homem e preenchidos com água límpida, pobre em matéria orgânica em decomposição e em saís, sombreados e com fundo ou paredes escuras. Dentre estes, destacam-se pneus, latas, vidros, pratos de vasos de plantas, xaxins, vasos de cemitério, além daqueles que servem como reservatório de água para uso doméstico, como o são as caixas d'água, os toneis, os latões e as cisternas, os lagos artificiais, as piscinas e os aquários abandonados (FORATTINI, 1995). No entanto, já foram observadas formas imaturas de *Ae. aegypti* em recipientes naturais, tais como bromélias, muito utilizadas para a ornamentação, além de buracos em árvores e escavações em rochas (PONTES; CARNEIRO; LIMA, 2000).

As fêmeas de *Ae. aegypti* são bastante ecléticas quanto à fonte do repasto sanguíneo, sendo o homem o seu alvo principal. Preferem realizar a hematofagia no período diurno, com destaque para as primeiras horas da manhã e para as últimas do turno vespertino. Enquanto busca uma fonte de sangue para a maturação de seus ovos, uma única fêmea pode alimentar-se duas ou mais vezes, à custa de repastos curtos em diferentes hospedeiros, o que contribui para uma rápida disseminação dos vírus dengue, febre amarela, zika e chikungunya para as populações humanas (KANTOR, 2016; TRPIS; HAUSERMANN, 1986).

Considerado o principal vetor da dengue, no Brasil o *Ae. aegypti* tem sido encontrado naturalmente infectado com os vírus dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) e da febre amarela (SEGURA; CASTRO, 2007).

1.1.2 *Aedes albopictus*

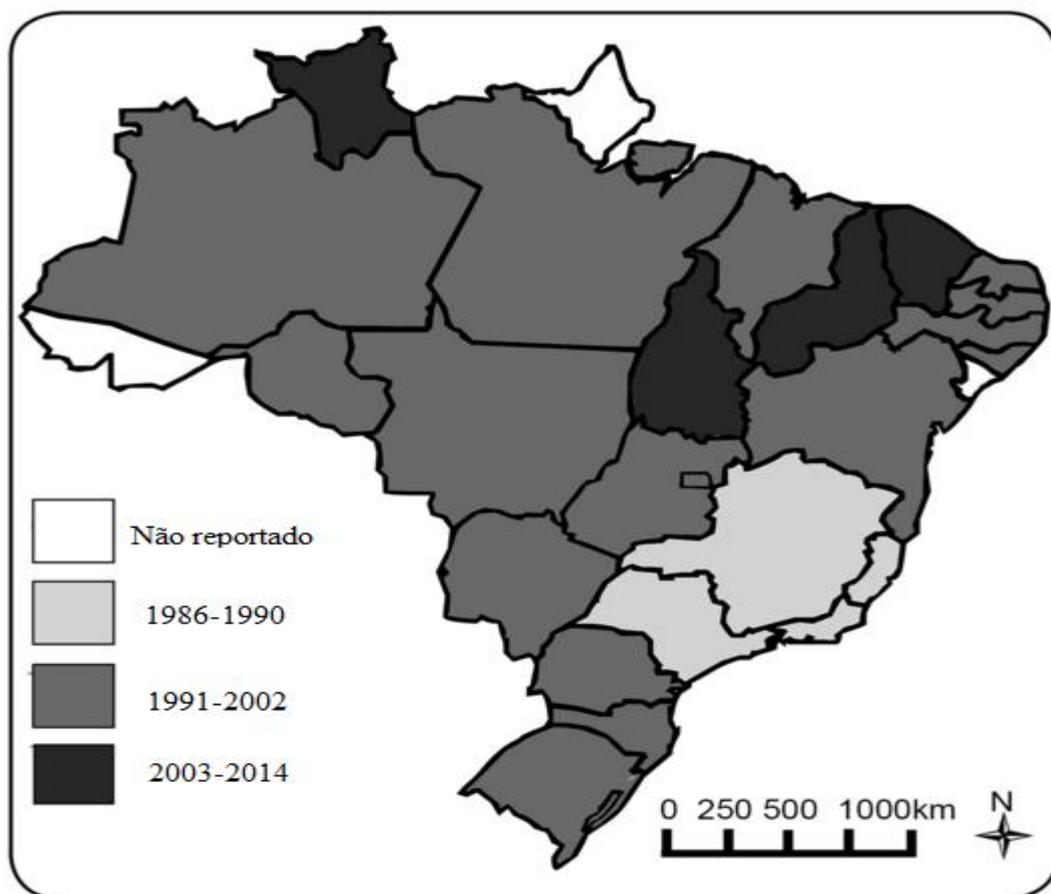
Oriundo das florestas do sudeste asiático, nas três últimas décadas o *Ae. albopictus* se disseminou e se estabeleceu em muitos países americanos (abrangendo uma região que se estende desde os Estados Unidos à Argentina), na África Central, na Europa, em ilhas nos oceanos Pacífico e Índico e no continente australiano (BENEDICT et al., 2007; GRATZ, 2004; KNUDSEN, 1995; PAUPY et al., 2009; WA; GB, 1981). Essa rápida expansão pelo mundo deveu-se, principalmente, ao transporte passivo de seus ovos, proporcionado pelos deslocamentos de contingentes humanos e mercadorias, sobretudo de pneus usados, agregada à aptidão com que seus ovos têm de entrar em diapausa, conservando-se viáveis por grandes períodos em ambientes quase completamente secos e com baixas temperaturas (HAWLEY et al., 1987; RAMASAMY et al., 2011; REITER, 1998).

O primeiro registro feito no Brasil do *Ae. albopictus* ocorreu em 1986, no Estado do Rio de Janeiro (FORATTINI, 1986). Ainda neste mesmo ano, já se apresentava nos Estados de São Paulo e Minas Gerais e, no ano posterior, foi notada sua presença no Espírito Santo (BRITO et al., 1986; MARQUES; DE CASTRO GOMES, 1997). Deste modo, em apenas um ano, o *Ae. albopictus* já se encontrava distribuído em todos os Estados da Região Sudeste. Suponha-se que sua chegada ao Brasil ocorreu por meio do comércio de minério de ferro com o Japão (FORATTINI, 1995), o que sustenta a semelhança genética notada entre os espécimes circulantes no Brasil e no Japão (KAMBHAMPATI; BLACK; RAI, 1991). A partir de então, tem-se verificado seu contínuo e acelerado crescimento pelo país, sendo, atualmente, apenas três os Estados brasileiros que ainda não registraram a sua presença – Acre, Amapá e Sergipe (FIGURA 04). No Estado do Ceará, o *Ae. albopictus* foi registrado pela primeira vez no ano de 2005, em um bairro situado em zona urbana da capital Fortaleza, onde 13 fêmeas da espécie foram encontradas tanto no intradomicílio (escritório e banheiro) quanto no peridomicílio (pneu velho e galinheiro) (MARTINS et al., 2006).

De modo geral, aceita-se a hipótese de que o *Ae. albopictus* foi fundamentalmente uma espécie selvagem que reproduzia e nutria-se nas margens das florestas, passando posteriormente a adaptar-se ao peridomicílio e ao intradomicílio das residências, apesar do predomínio de *Ae. aegypti* nesses ambientes (BRAKS et al., 2003; DA SILVA et al., 2006). A alteração antrópica no meio ambiente e o grau de cobertura vegetal parecem influenciar na distribuição e na frequência de *Ae. albopictus*, resultando em índices de infestação mais elevados em áreas suburbanas (DE LIMA-CAMARA; HONORIO; LOURENCO-DE-

OLIVEIRA, 2006), muito embora também tenha sido detectada sua presença em áreas totalmente urbanizadas (MARTINS et al., 2010).

Figura 04: Estados brasileiros onde foi identificada a presença de *Ae. albopictus*. Entre 1886-1990 (cinza claro: Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo), 1991-2002 (cinza escuro: Amazonas, Rondônia, Pará, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Maranhão, Paraíba, Rio grande do Norte, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), 2003-2014 (preto: Ceará, Tocantins, Roraima e Piauí), e os estados onde não ocorreu ainda a identificação da presença (branco: Acre, Amapá e Sergipe).

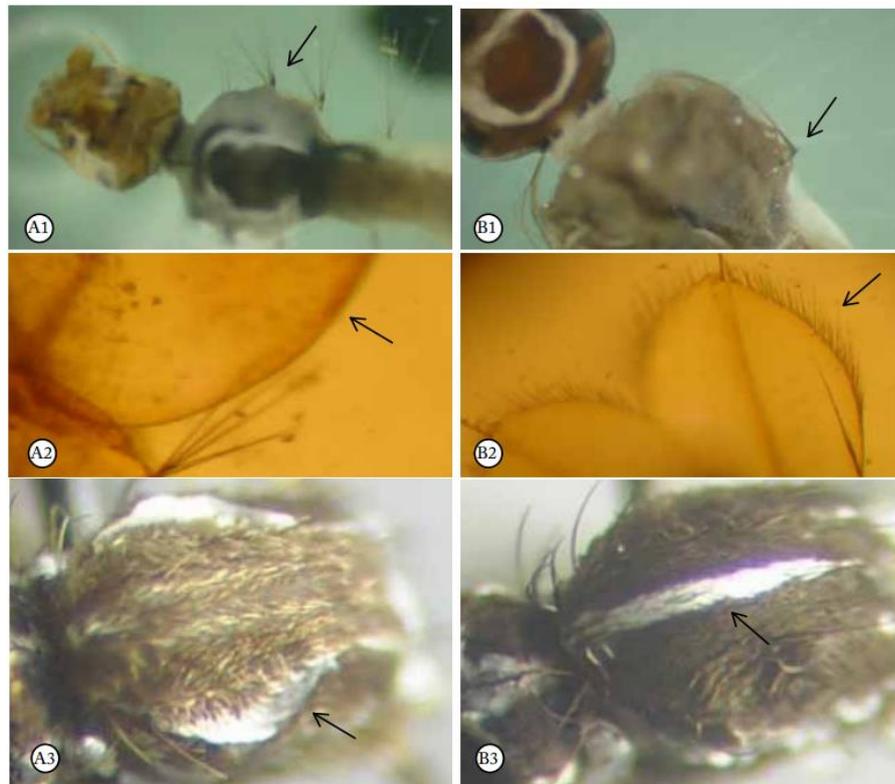


Fonte: (PANCETTI et al., 2015)

Hipóteses têm sido levantadas sobre a possibilidade de existência de competição interespecífica entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* quando ocorre sobreposição na sua distribuição nas diferentes regiões, podendo colaborar para a redução na abundância de uma das duas populações (GLASSER; GOMES, 2002). Uma redução na abundância de *Ae. aegypti* pode ser observada nos Estados Unidos após o estabelecimento de *Ae. albopictus*

(BLACK et al., 1989), assim como no Sudeste da Ásia houve redução na abundância de *Ae. albopictus* depois do estabelecimento de *Ae. aegypti* (CHAN; CHAN; HO, 1971). Entretanto, as evidências ainda não são suficientes para afirmar se esses dados resultam realmente da sobreposição dos nichos ecológicos entre as duas espécies, e consequente competição.

Figura 05: Diferenças morfológicas de larvas, pupas e adultos de *Ae. aegypti* (A) e *Ae. albopictus* (B). A1: espículas laterotorácicas (bastante desenvolvidas), B1: espículas laterotorácicas (pouco desenvolvidas); A2: palhetas natatórias de pupas (ausência de cílios), B2: palhetas natatórias de pupas (presença de cílios); A3: mesonoto com escamas brancas em forma de lira, B3: mesonoto com escamas brancas com apenas uma faixa longitudinal presente.



Fonte: (PESSOA et al., 2013b)

Os imaturos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são bastante similares, sendo que alguns caracteres peculiares permitem a correta identificação, como definido por Pessoa (2013b) no estágio larval pode-se perceber um maior ou menor desenvolvimento das espículas laterotorácicas, caracterizando no primeiro caso uma larva de *Ae. aegypti* e no segundo de *Ae. albopictus*, no estágio de pupa a presença de cílios nas paletas natatórias indicam que é *Ae. albopictus* e a ausência desses cílios indicam *Ae. aegypti* e no adulta a pode-se diferenciar

pelas escamas brancas do mesonoto, onde *Ae. albopictus* apresentam apenas uma faixa longitudinal e *Ae. aegypti* apresentam em forma de lira (FIGURA 05).

As formas juvenil e adulta do *Ae. albopictus*, mostram-se bastante ecléticas no que tange à habilidade de desenvolverem-se e procriarem em variadas formas de criadouros, tanto naturais quanto artificiais, preferencialmente localizados em regiões sombreadas ou parcialmente sombreadas (NEVES; SILVA, 1989). Esses criadouros podem acumular água limpa ou com pouca matéria orgânica em decomposição (HONÓRIO; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 2001), podendo ainda expor níveis diversos de salinidade (WEAVER; REISEN, 2010). Os criadouros naturais preferencialmente visitados são as bromélias, ocos de árvores, axilas de folhas, cascas de frutas e internódios de bambus (GOMES; MARQUES, 1988), já os artificiais contêm um leque de recipientes construídos pela ação do homem, os quais incluem tanques, calhas, jarros decorativos, pneus descartados, sucatas de veículos e de eletrodomésticos, entulhos da construção civil, vasos de cemitérios e recipientes plásticos (FORATTINI et al., 1998; HONÓRIO; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 2001).

A distribuição e abundância de *Ae. albopictus*, assim como *Ae. aegypti* envolve fatores ambientais e sociais. Sendo que *Ae. albopictus* por ser uma espécie adaptada as condições de frio da Ásia setentrional, possui uma maior facilidade de dispersão por regiões frias, podendo vir a ser encontrada em cidades com temperatura média de $-4,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ no mês mais frio (GLASSER; GOMES, 2002).

O *Ae. albopictus* tem sido caracterizado como uma espécie oportunista que realiza seu repasto sanguíneo preferencialmente em hospedeiros mamíferos, tais como bovinos, cães e humanos (SULLIVAN; GOULD; MANEECHAI, 1971), assim como em répteis, aves e anfíbios (SCHOLTE; SCHAFFNER, 2007). Entretanto, quando dispõe de oportunidade, o *Ae. albopictus* prefere picar humanos em detrimento de outros animais (VALERIO et al., 2010). Geralmente, as fêmeas de *Ae. albopictus* realizam seus repastos durante o dia (de 7:00 h às 18:00 h, com pico entre às 14:00 h e 15:00 h) e no peridomicílio (PAUPY et al., 2009).

A gradual aquisição de comportamento doméstico intradomiciliar tende a modificar o padrão da atividade hematofágica do *Ae. albopictus*, considerada predominantemente oportunista. Com isso, pode-se elevar os riscos de transmissão de doenças às populações humanas (DIENG et al., 2010), tendo em vista a sua competência em infectar-se e transmitir, sob condições laboratoriais, 22 tipos distintos de arbovírus, incluindo muitos vírus de importância para a saúde pública (MOORE, 1997; ROSEN et al., 1985).

Nos últimos anos, tem-se observado uma significativa antropofilia do *Ae. albopictus*, que, combinada com sua habilidade de transitar pelos ambientes urbano e periurbano, fazem

deste culicídeo uma ponte entre patógenos silvestres e urbanos (SIMARD et al., 2005), dentre os quais destacam-se os vírus chikungunya, dengue e da febre amarela (WEAVER; REISEN, 2010). De fato, recentemente tem sido sugerido que o *Ae. albopictus* pode contribuir para o estabelecimento de uma conexão entre os ciclos silvestre e urbano do vírus do Oeste do Nilo, nos Estados Unidos (SARDELIS et al., 2001), e do vírus da febre amarela no Brasil (GOMES et al., 2008). No Brasil, em virtude dos escassos relatos de pesquisas conduzidas em campo direcionadas ao *Ae. albopictus*, é possível que sua participação como vetor dos vírus dengue tenha sido negligenciada (DEGALLIER et al., 2003), em virtude de sua ocupação não uniforme das áreas urbanas, especialmente as mais periféricas, onde as coletas normalmente não cobrem toda a sua extensão (CHIARAVALLOTI NETO et al., 1996).

Nos últimos anos, entretanto, relatos da ocorrência de transmissão vertical natural (quando uma fêmea infectada transmite o vírus para os descendentes) dos vírus dengue em populações de seus culicídeos vetores foram feitos por De-Figueiredo et al., (2010) em larvas de *Ae. albopictus* coletadas na cidade de Santos (SP). Martins, Alencar e Kamimura (2012), em estudos realizados na cidade de Fortaleza – CE, isolaram e detectaram fragmentos de DENV-2 e DENV-3 em fêmeas adultas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* privadas do repasto sanguíneo, comprovando, pela primeira vez, a ocorrência de transmissão transovariana no Estado do Ceará.

1.2 Vigilância entomológica de *Aedes* spp.

Em programas de controle da dengue, a vigilância entomológica é realizada, especialmente, a partir de coletas de larvas (pesquisa larvária) para medir a densidade desses culicídeos em áreas urbanas, através do cálculo dos índices de infestação predial (IIP) – razão entre o número de imóveis positivos e o número de imóveis pesquisados - e de Breteau (IB) – razão entre o número de recipientes positivos e o de imóveis pesquisados – sendo calculados por meio do levantamento rápido de índices para *Ae. aegypti* (LIRAA), o que representa uma ação importante para verificar o impacto das estratégias básicas de controle da doença (FUNASA, 2001; MS, 2013; SAÚDE., 2001).

Outro procedimento adotado é através da coleta de mosquitos adultos, cuja operacionalização é árdua e demorada, além de ter valor restrito para uma avaliação do risco de transmissão, uma vez que a relação entre as coletas e os números absolutos de adultos é desconhecida, o número de espécimes coletados representa apenas uma estimativa do total e a correlação entre o número de vetores coletados e o número de humanos na área da coleta, a

qual poderia fornecer o número de mosquitos adultos por pessoa, não é suficiente para quantificar o risco (GRATZ; HALSTEAD, 2009).

Além disso, no âmbito das ações direcionadas para a avaliação da densidade do vetor, são empregadas armadilhas de oviposição (ovitrapas) e armadilhas para a coleta de larvas (larvitrapas), as quais visam estimar a atividade de postura. As ovitrapas, além de formarem uma ferramenta eficaz quando se estuda a dispersão do vetor, proporcionam dados úteis sobre a distribuição espacial e temporal do mesmo, ao passo que as larvitrapas têm seu uso recomendado para a detecção precoce de novas infestações e para a vigilância de populações de *Aedes* spp. com baixa densidade (FUNASA, 2001; HONÓRIO et al., 2003).

Práticas que visam ao controle de insetos são muito antigas na história das civilizações humanas, tendo sido seu uso voltado, basicamente, para as ações de controle biológico direcionadas ao enfrentamento de pragas agrícolas. No final do século XIX, porém, descobriu-se que certas espécies de insetos e outros artrópodes eram responsáveis pela transmissão de algumas das mais importantes doenças como filariose, bancroftiana e malária (FORATTINI, 1995). Vacinas ou medicamentos efetivos contra a maioria delas ainda não estavam disponíveis, e o controle da transmissão era, todavia, fortemente centralizado no combate ao vetor (VALLE; BRAGA, 2007). Atualmente, muitas doenças contam com vacinas eficazes (febre amarela) ou com medicamentos geralmente eficientes (malária); contudo, o controle integrado do vetor ainda é imprescindível para prevenir diversas doenças, dentre as quais a dengue, visando ao bloqueio ou redução da transmissão (SAÚDE., 2001).

No contexto da saúde pública, o controle integrado de vetores, o qual inclui a vigilância, a redução da fonte (ou manejo ambiental – medidas para eliminar o vetor ou seus focos), o controle biológico, o controle químico com o uso de inseticidas e repelentes e o manejo da resistência a inseticidas (WHO, 2002), tem como principais objetivos o manejo dos problemas deles decorrentes, tais como surtos, epidemias, alta mortalidade e alta morbidade, a prevenção de epidemias ou a (re)introdução de doenças e a redução dos fatores de risco ambiental da transmissão (BRASIL, 1999).

1.3 Controle vetorial de *Aedes* spp.

As práticas desenvolvidas em prol do controle de vetores de doenças são muito antigas. Estudos relatam sua aplicabilidade há 2.000 anos na China, com o objetivo de combater pragas agrícolas por meio de controle biológico (VALLE; BRAGA, 2007).

Ao final do século XIX, tomou-se conhecimento de que algumas espécies de insetos e outros artrópodes eram capazes de transmitir certas doenças, sendo algumas delas preocupação de saúde pública (BRAGA; VALLE, 2007a).

Devido à ausência de vacinas eficientes para prevenir a dengue e de medicamentos competentes no tratamento, a forma mais eficaz de controle da doença era, e continua sendo, o controle das populações de mosquitos vetores. As medidas iniciais de controle tinham como foco primordial um controle físico, por meio da eliminação dos criadouros potenciais desses vetores. Atualmente, muitas doenças contam com vacinas bastante eficazes, como é o caso da febre amarela, e outras possuem uma grande produção de fármacos, que conseguem ser em sua maioria eficiente, como é o caso do fármaco contra a malária. Entretanto, o controle das populações de vetores ainda é considerado imprescindível para que se tenha o controle de várias doenças, sendo incluído de forma bastante comum em programas profiláticos de várias viroses, das quais a dengue é o exemplo mais comum (BRAGA; VALLE, 2007a).

Além do incentivo que é feito corriqueiramente pelas organizações vinculadas ao sistema de saúde para o controle físico dos insetos vetores, outras buscas se tornam constantes de modo a contribuir adicionalmente aos métodos já existentes. Dentre estas técnicas, surgem os métodos de controle biológico, que visam à utilização de peixes larvófagos, toxinas de bactérias, fungos entomopatogênico, baculovírus e endossimbiontes, que sejam capazes de impedir o desenvolvimento larval de mosquitos, especialmente *Ae. aegypti*, de forma a interromper o ciclo de desenvolvimento do vetor (VALLE; BRAGA, 2007).

Em meio à utilização de peixes larvófagos no controle de populações de mosquitos *Ae. aegypti*, três espécies apresentam importância crucial neste aspecto, que são *Betta splendens* (Regan, 1910), *Trichogaster trichopteros* (Pallas, 1770) e *Poecilia reticulata* (Peters, 1859). As fêmeas da espécie de peixe *B. splendens* conseguem atingir quase que 100% do potencial máximo esperado, ou seja, conseguem realizar a predação de até 500 larvas por dia. A *T. trichopteros*, também é evidenciada pela sua elevada capacidade de realizar a predação de larvas de *Ae. aegypti*, podendo chegar a 100% do potencial esperado de predação (CAVALCANTI et al., 2007). Na utilização de *P. reticulata*, percebem variações quanto ao potencial larvófago de acordo com o sexo, em que as fêmeas da espécie apresentam um nível de controle duas vezes maior que grupos compostos de machos da mesma espécie, demonstrando dessa forma uma maior aplicabilidade da utilização de fêmeas nos processos de controle (PEREIRA; OLIVEIRA, 2014).

Um método alternativo de controle de vetores tem sido a utilização da bactéria *Bacillus thuringiensis israelenses* (BTI), que possui toxinas com atividade citolítica (capaz de

provocar a morte celular) sobre insetos. A ação dessas toxinas age de forma positiva, favorecendo para a não ocorrência de resistência. Além disso, BTI não produz toxinas prejudiciais para os seres humanos, o que é um fator crucial para a utilização de um microrganismo no controle de populações de mosquitos, pois esses agentes de controle normalmente são utilizados no meio urbano. Outro fator contributivo é que o BTI pode ser utilizado de forma complementar aos inseticidas químicos no controle. O BTI é considerado como representante de uma das formas mais válidas no controle de populações de *Ae. aegypti*, embora existam limitações no que concerne à aplicação e ao baixo efeito residual ocorrido em consequência à radiação da luz que pode reduzir o efeito da toxina. Ele apresenta vantagens elementares como a segurança humana, e a minimização na seleção de organismos resistentes, além de poder ser usado de forma complementar aos produtos químicos (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003).

Além do potencial entomopatogênico das bactérias, Dhanasekaran e Thangaraj (2014) reportaram a atividade entomopatogênica de toxinas liberadas por fungos, principalmente os pertencentes às classes Hyphomycetes e Zygomycota, quando em contato com populações de mosquitos.

Mesmo diante das diversas formas de controle de vetores de doenças humanas, o controle muitas vezes, torna-se ineficiente se a população não se sensibiliza para a adoção de práticas contributivas para a eliminação de criadouros potenciais, e se as autoridades não desenvolvem campanhas e programas preventivos para impedir epidemias. Muitas vezes na gestão de políticas públicas de controle de arboviroses como a dengue, o custo de manutenção dos programas, e os efeitos adversos frente às formas de controle do vetor são algumas das limitações encontradas (WERMELINGER; FERREIRA; HORTA, 2014).

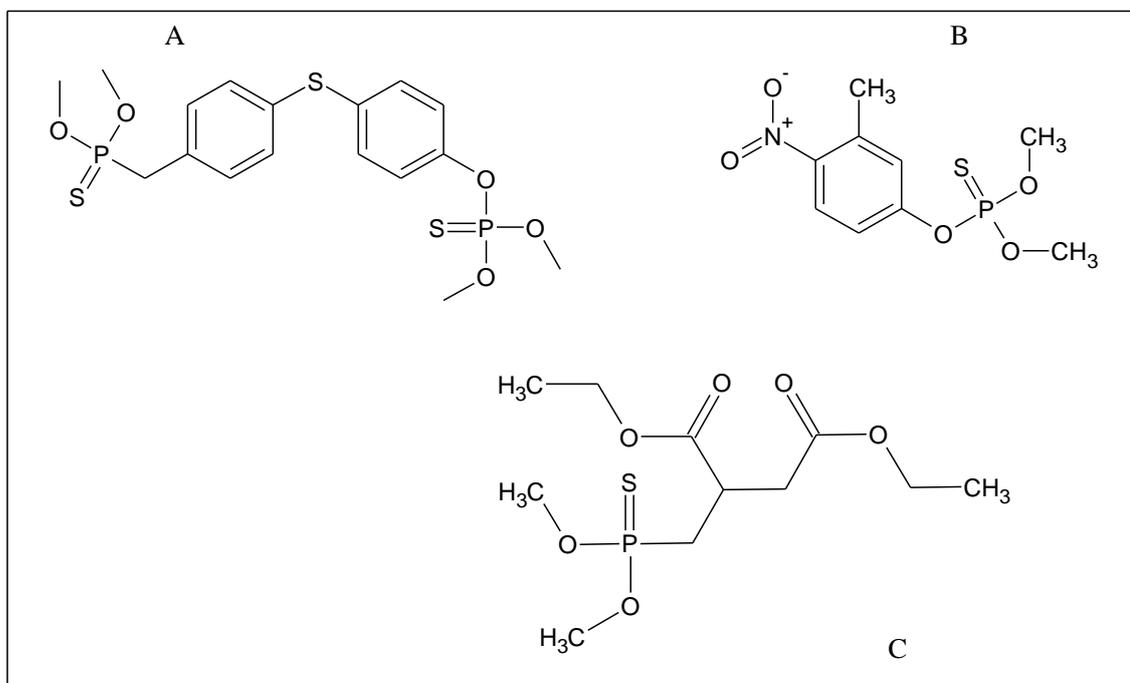
1.3.1 Inseticidas sintéticos no controle de *Aedes* spp.

O método mais utilizado no controle da dengue tem sido o uso de inseticidas sintéticos para a eliminação de *Aedes* spp. Deste modo, frequentemente faz-se necessário avaliar a eficácia dos inseticidas químicos utilizados para eliminação do vetor, ou o desenvolvimento de resistência por parte dos mosquitos (CAMPOS; ANDRADE, 2001).

Em um estudo realizado por Macoris et al. (2003) em que pôde ser observada a resistência de mosquitos oriundos de dez cidades do Estado de São Paulo ao temefós® (difosforotioato de O,O,O',O'-tetrametil-O,O'-sulfanodiilabis(1,4-fenileno)) e ao fenitrotion (fosforotioato de O,O-dimetil-O-(3-metil-4-nitrofenila)), observou-se que apenas populações

originárias de dois dos municípios estudados eram susceptíveis a ambos os inseticidas, e que as demais populações eram resistentes a um dos inseticidas ou a ambos (FIGURA 06).

Figura 06: Representação da fórmula estrutural de alguns compostos organofosforados. A- temefós, B- fenitrothion e C- malation.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os inseticidas químicos sintéticos são desvantajosos, pois são tóxicos em sua maioria e podem provocar efeitos nocivos para aplicadores e para a população de forma geral, além de causar danos ao meio ambiente (GUIMAR; MENEZES, 2015).

O entendimento de como ocorre o processo de seleção de características resistentes torna-se crucial para impedir ou reverter o desenvolvimento de resistência pelas populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, assim como identificar novas formas de controlar as cepas que são resistentes (KARUNARATNE et al., 2013).

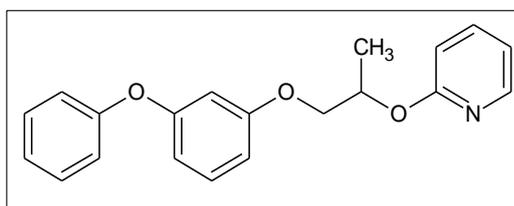
Apesar de populações de *Ae. albopictus* normalmente não serem alvo de programas de controle da dengue no Brasil, quando essas populações coexistem com *Ae. aegypti*, tornam-se expostas ao mesmo processo de pressão seletiva com a utilização de inseticidas químicos, e desta forma acabam desenvolvendo resistência ao longo das gerações (PROPHIRO et al., 2011).

Os inseticidas químicos citados (temefós e fenitrothion) e o malation (2-(dimetóxi-fosfinotioilto)butanodioato de dietila) compõe organofosforados bastante eficientes na eliminação destes vetores (FIGURA 06; SANTOS et al., 2007). Entretanto, após a

detecção em vários municípios brasileiros de que as populações atuais de mosquitos não mais seriam susceptíveis a estes inseticidas (BRAGA; VALLE, 2007b), diversas medidas têm sido buscadas, entre elas a utilização de BTI como substituto em áreas consideradas críticas. No entanto, embora a medida fosse pertinente às formulações existentes no BTI acabam não suportando de forma tão eficaz quanto o temefós as condições do meio (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003). No Brasil, ultimamente, vem se usando um produto a base de (4-fenoxifenil (RS)-2-(2-piridiloxi) éter propílico 2-[1-(4-fenoxifenoxi) propan-2-iloxi] piridina) (piriproxifeno), o Sumilarv®, no controle de larvas de *Aedes* spp., este composto químico é um análogo do hormônio juvenil, e sua principal atividade consiste no impedimento da emergência de adultos (FIGURA 07; GÓMEZ et al., 2011; MARCOMBE et al., 2014; MONNERAT et al., 2012).

A principal classe de compostos químicos utilizados como inseticidas atualmente são os piretróides. Ainda existem no mercado, entretanto em quantidade bem menor, produtos de grupos como organofosforados e carbamatos, que estão sendo excluídos gradativamente diante do efeito residual no ambiente e à toxicidade (DUAVÍ, 2015).

Figura 07: Representação da fórmula estrutural do piriproxifeno.

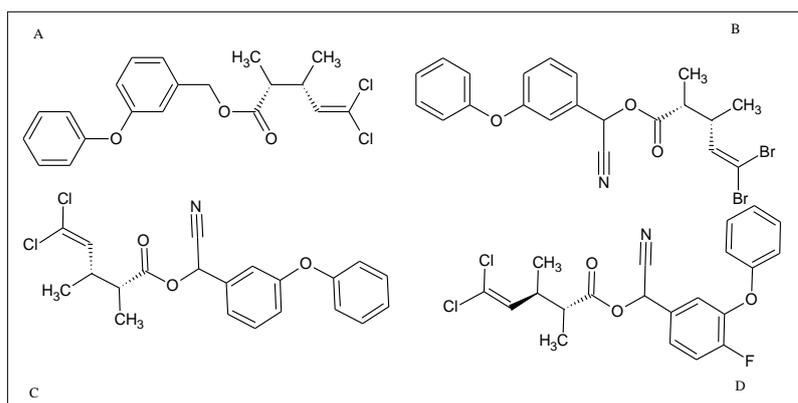


Fonte: Elaborado pelo autor.

Os inseticidas piretróides são neurotoxinas que interagem com o canal de sódio sensível à tensão de insetos, e o tornam mais vulneráveis. Torna-se tóxico por prolongar o tempo de abertura do canal de sódio sensível à tensão, e são amplamente utilizados no controle de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Entretanto, tem-se identificado que essas espécies manifestam resistência ao tratamento com 3-fenoxibencil (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil) (permetrina), (S)- α -ciano-3-fenoxibencil(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato(deltametrina), (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo (cipermetrina), [(R)-ciano-[4-fluoro-3-(fenoxi)fenil]metil](1R,3R)-3-(2,2-dicloroetenil)-2,2-dimetilciclopropano-1-carboxilato (ciflutrina) que são os principais piretróides utilizados (FIGURA 08; SMITH; KASAI; SCOTT, 2016). Similar a isso, observa-se relatos, como o de Rocha et al. (2015), que

retrata a resistência de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* à organofosforados, em especial ao Temefós®, além de baixa susceptibilidade ao deltametrina. Ressaltando-se, ainda, que esses dois são inseticidas muito difundidos no combate a mosquitos.

Figura 08: Representação da fórmula estrutural de alguns compostos piretróides: permetrina (A), deltametrina (B), cipermetrina (C) e ciflutrina (D).



Fonte: Elaborado pelo autor.

1.3.2 Uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de *Aedes* spp.

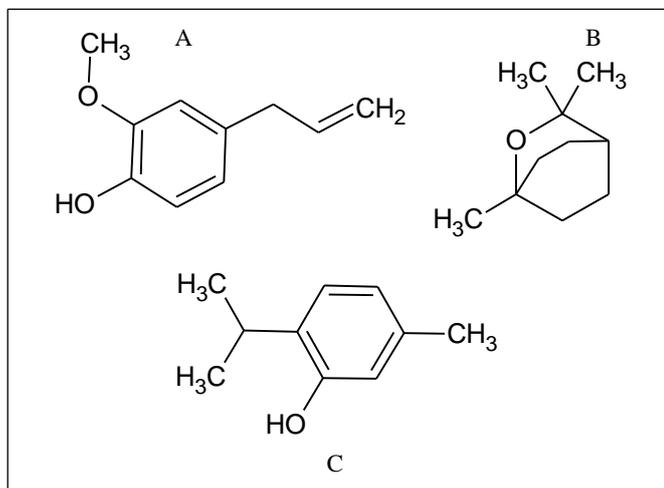
As plantas são ricas em substâncias bioativas, que de forma frequente, têm sido utilizadas no controle de populações de insetos. Dentre as vantagens proporcionadas pelo uso de produtos naturais de origem vegetal, está o fato de a maioria ser biodegradável. Os inseticidas botânicos são compostos secundários resultantes do próprio metabolismo do vegetal, os quais são utilizados em defesa de insetos herbívoros, e outros possíveis parasitas, e dessa forma, conseguem agregar componentes eficazes para eliminação de várias espécies de insetos vetores de doenças (CORRÊA; SALGADO, 2011).

Os produtos naturais utilizados no controle de insetos vetores de doenças se dividem em dois grupos, os lipossolúveis que são os óleos essenciais e os óleos fixos e os extratos vegetais. Os óleos essenciais ou óleos voláteis são produtos obtidos a partir de partes de plantas por meio da destilação por arraste a vapor d'água, assim como produtos oriundos da expressão dos pericarpos de frutos cítricos. Sendo, de forma complexa, mistura de amplas substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (SANTOS, 2004).

Dentre os principais constituintes de óleos essenciais, Costa et al., (2005) apontam o 4-alil-2-metóxi-fenol (eugenol), o 1,3,3-trimetil-2-oxabicyclo-[2,2,2]-octano (1,8-cineol) e o 2-

isopropil-5-metilfenol (timol), sendo que os componentes majoritários poderão diferir diante da espécie vegetal em estudo, horário da coleta e período do ano (FIGURA 09).

Figura 09: Fórmulas estruturais básicas de eugenol (A), 1,8-cineol (B) e timol (C).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Extratos agrupam um conceito vasto de produtos naturais, podendo ser líquidos, viscosos, hiperviscosos ou sólidos. Em primeiro caso, consideram-se todos aqueles produtos oriundos de matérias-primas vegetais, a partir de diversos procedimentos extratores ou de dissolução, com a utilização de misturas solventes adequadas, com o objetivo de retirada, em maior ou menor especificidade, compostos biotativos. Apesar da ampla gama de substâncias líquidas conhecidas como extratores, são poucas as utilizadas na extração de produtos naturais de origem vegetal, sendo essa limitação decorrida das propriedades extrativas, adequação tecnológica e inocuidade fisiológica. Os líquidos extratores mais utilizados são os hidrocarbonetos alifáticos (éter de petróleo e o *n*-hexano), hidrocarbonetos halogenados (clorfórmio e diclorometano), álcoois (etanol e metanol), cetonas (acetona e metiletilacetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e água (SANTOS, 2004).

Os compostos de origem vegetal constituem a principal forma alternativa de controle de populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, apresentando moléculas potenciais na interação com os sistemas biológicos. Desta forma, os bioinseticidas vêm suprir as necessidades de compostos naturais capazes de eliminar populações de *Aedes* spp. que desenvolveram resistência a inseticidas químicos, frente às suas características de apresentar propriedades efetivas na mortalidade dos diversos estágios de vida de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (LOUISE, 2014).

Na Tabela 01 é possível perceber a ação de diversos extratos vegetais e óleos essenciais frente às populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, mostrando suas concentrações letais (CL).

Tabela 01 – Extratos vegetais (Extrato etanólico – EE, Extrato hexânico EH, Extrato metanólico – EM, Extrato éter de petróleo – EP, Extrato acetato de etila – EA) e óleos essenciais (OE) utilizados no controle de *Aedes aegypti* (AE) e *Aedes albopictus* (AA).

Planta/Alga utilizada	Família	Pro. Uti.	Mos .alvo	Constituintes majoritários	Concentração Letal (mg/L)	Referência
<i>Vanillosmopsis arborea</i> (Gardner)	Asteraceae	OE	AE	Alfa-bisabolol	CL ₅₀ = 15.910 CL ₉₀ = 28.590	(FURTADO et al., 2005)
<i>Lippia sidoides</i> (Cham.)	Verbenaceae	OE	AE	Timol (73,1%)	CL ₅₀ = 45.490 CL ₉₀ = 48.290	(FURTADO et al., 2005)
<i>Amyris balsamifera</i> (Linnaeus)	Rutaceae	OE	AE	Elemol e eudesmol (80%) e β-sesquifelandrene	CL ₅₀ = 58 CL ₉₀ = 72	(ZHU et al., 2006)
<i>Amyris balsamifera</i>		OE	AA		CL ₅₀ = 78 CL ₉₀ = 130	(ZHU et al., 2006)
<i>Annona crassiflora</i> (Mart)	Annonaceae	EE	AE	-----	CL ₅₀ = 0,71 CL ₉₀ = -----	(DE OMENA et al., 2007)
<i>Annona glabra</i> (Linnaeus)		EE	AE	-----	CL ₅₀ = 0,06 CL ₉₀ = -----	(DE OMENA et al., 2007)
<i>Cryptomeria japônica</i> (Linnaeus)	Cupressaceae	EE	AE	Epi-cubebol, cubebol, ferruginol e isopimarol	CL ₅₀ = 63,2 CL ₉₀ = 154,7	(GU et al., 2009)
<i>Cryptomeria japonica</i>		EE	AA		CL ₅₀ = 93,8 CL ₉₀ = 261,8	(GU et al., 2009)

<i>Clausena excavata</i> (Burm.)		OE	AE		CL ₅₀ = 37,1	(CHENG et al., 2009c)
	Rutaceae			Safrole (75,85%) e terpinolene	CL ₉₀ = 110,0	
<i>Clausena excavata</i>		OE	AA	(17,86%)	CL ₅₀ = 41,2	(CHENG et al., 2009c)
					CL ₉₀ = 116,1	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (Dehnh)		OE	AE		CL ₅₀ = 31	(CHENG et al., 2009a)
	Myrtaceae			□-Pino, □-felandreno, <i>p</i> -	CL ₉₀ = 71,8	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>		OE	AA	cimeno, <i>γ</i> -terpineno, 1,8-cineol e	CL ₅₀ = 55,3	(CHENG et al., 2009a)
				limoneno	CL ₉₀ = 192,4	
<i>Cinnamomum</i> <i>osmophloeum</i> (Kaneh.)	Lauraceae	OE	AA	Trans-cinamaldeído (91,09%) e	CL ₅₀ = 40,8	(CHENG et al., 2009b)
				benzeno propanal (3,3%)	CL ₉₀ = 81,7	
<i>Eucalyptus cinerea</i> (Muell)	Myrtaceae	OE	AE	----	CL ₅₀ = 270	(CAVALCA et al., 2010)
					CL ₉₀ = 380	
<i>Enteromorpha intestinalis</i> (Linnaeus)	Ulvaceae	EE	AE	----	CL ₅₀ = 0,0744	(BEULA; RAVIKUMAR; ALI, 2011)
					CL ₉₀ = 0,1399	
<i>Dictyota dichotoma</i> (Hudson, 1809)	Rhodomelacea e	EE	AE	----	CL ₅₀ = 0,0683	(BEULA; RAVIKUMAR; ALI, 2011)
					CL ₉₀ = 0,1401	
<i>Aloe vera</i> (Linnaeus)	Liliaceae	EP	AE	----	CL ₅₀ = 300,059	(SUBRAMANIAM et al., 2012)
					CL ₉₀ = 612,96	
<i>Citrus sinensis</i> (Linnaeus)	Rutaceae	EH	AE	----	CL ₅₀ = 446,84	(WARIKOO et al., 2012)

					CL ₉₀ = 1370,96	
<i>Parthenium hysterophorus</i> (Linnaeus)	Asteraceae	EH	AE	----	CL ₅₀ = 432,38	(KUMAR et al., 2012)
					CL ₉₀ = 1118,50	
<i>Tribulus terrestris</i> (Linnaeus)	Zygophyllacea e	EE	AE	----	CL ₅₀ = 376,4	(EL-SHEIKH; AL-FIFI; ALABBOUD, 2016)
<i>Ocimum basilicum</i> (Linnaeus)		OE	AE		CL ₅₀ = 14,01	(GOVINDARAJAN et al., 2013b)
<i>Ocimum basilicum</i>	Lamiaceae			Linalol (52,42%) e metil eugenol (18,74%)	CL ₉₀ = 23,44	
		OE	AA		CL ₅₀ = 11,97	(GOVINDARAJAN et al., 2013b)
					CL ₉₀ = 21,17	
<i>Cunninghamia konishii</i> (Hayata)		OE	AE		CL ₅₀ = 85,7	(CHENG et al., 2013)
<i>Cunninghamia konishii</i>	Taxodiaceae			Cedrol (53,03%), α -pineno (25,57%) e β -cedreno (6,61%)	CL ₉₀ = 171,4	
		OE	AA		CL ₅₀ = 189,5	(CHENG et al., 2013)
					CL ₉₀ = 375,0	
<i>Pinus densiflora</i> (Siebold & Zucc.)		OE	AA		CL ₅₀ = 20,33	(LEE; AHN, 2013)
<i>Pinus densiflora</i>	Pinaceae			Limoneno, timol, peneno, terpinoleno	CL ₉₀ = -----	
		OE	AE		CL ₅₀ = 21,01	(LEE; AHN, 2013)
					CL ₉₀ = -----	
<i>Anarmita cocculus</i> (Linnaeus)	Menispermaceae	EP	AE	----	CL ₅₀ = 56,731	(QADIR, 2014)
					CL ₉₀ = 87,908	
<i>Polygala arvensis</i> (Willd)	Polygalaceae	EM	AE	----	CL ₅₀ = 58,21	(DEEPA et al., 2014)
					CL ₉₀ = 208,45	

<i>Impatiens balsamina</i> (Linnaeus)	Balsaminaceae	EM	AE	----	CL ₅₀ = 119,68 CL ₉₀ = 210,14	(REVIEW, 2014)
<i>Halodule pinifolia</i> (Miki)	Cymodoceacea e	EE	AE	----	CL ₅₀ = 22,0 CL ₉₀ = 54,2	(VIJAYAKUMAR et al., 2014)
<i>Thalassia testudinum</i> (Braks)	Hydrocharitaceae ae	EE	AE	----	CL ₅₀ = 44,8 CL ₉₀ = 81,2	(VIJAYAKUMAR et al., 2014)
<i>Cymodocea serrulata</i> (R. Br.)	Cymodoceacea e	EE	AE	----	CL ₅₀ = 42,9 CL ₉₀ = 76,3	(VIJAYAKUMAR et al., 2014)
<i>Chloroxylon swietenia</i> (Roxb.)	Rutaceae	EA	AE	----	CL ₅₀ = 173,04 CL ₉₀ = 442,73	(JAYARAMAN; SENTHILKUMAR; VENKATESALU, 2015)
<i>Piper aduncum</i> (Linnaeus)		OE	AE	E-isocroweacin (29,52%), apiole (28,62%) e elemicina (7,82%) e trans-ocimeno (7,7%)	CL ₅₀ = 46 CL ₉₀ = 156	(SANTANA et al., 2015)
<i>Piper arboretum</i> (Aub.)	Piperaceae	OE	AE	Germacreno D (31,83%), biciclogermacreno (21,40%) e beta cariofileno (10,88%)	CL ₅₀ = 55 CL ₉₀ = 214	(SANTANA et al., 2015)
<i>Piper marginatum</i> (Jacq.)		OE	AE	E-Metil-isoegenol (27,08%), E-anetol (23,98%) e Z-metil-isoegenol (12,01%)	CL ₅₀ = 34 CL ₉₀ = 85	(SANTANA et al., 2015)

1.4 Justificativa

Não obstante o controle químico de culicídeos vetores de doenças, através do uso de inseticidas como temefós, malation e fenitrothion, constituir uma das mais importantes estratégias adotadas pelos Programas de Saúde Pública no Brasil, convém ressaltar seus efeitos danosos sobre o meio ambiente e os organismos a eles expostos, tais como o acúmulo em tecidos animais e humanos, hipersensibilização e irritação das mucosas de aves e mamíferos e a associação com o aparecimento de certos tipos de câncer em humanos (FERRER, 2003; WALISZEWSKI et al., 2003). Além disso, a resistência cruzada observada entre inseticidas de classes diferentes, baseada em alterações em seus sítios comuns de ação ou em mecanismos de detoxificação, pode impactar negativamente sobre o uso de um determinado produto. Os mecanismos bioquímicos de resistência estão associados, principalmente, com uma mudança na sensibilidade do sítio-alvo do inseticida no sistema nervoso central (canais de sódio e receptores do GABA e da acetilcolinesterase), bem como a um aumento na taxa de detoxificação do inseticida, promovido, sobretudo, pela ação das esterases, glutathione-S-transferases e monooxigenases dependentes de citocromo P450 (HEMINGWAY; RANSON, 2000).

Tais obstáculos impulsionaram, na última década, as pesquisas em busca de novas alternativas de substâncias com efeitos larvicida e inseticida para o controle de *Aedes* spp. no Brasil. Neste contexto, metabólitos secundários de plantas, os quais são produzidos pelo vegetal para proteger-se de micro-organismos e insetos predadores são candidatos naturais para a descoberta de novos produtos para o combate de *Ae. aegypti* (CAVALCANTI et al., 2004) e, por extensão, de *Ae. albopictus*, este último com pronunciada dispersão no território nacional e candidato potencial a contribuir com a transmissão dos vírus dengue no país (PESSOA et al., 2013a).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o potencial larvicida de produtos naturais de origem vegetal sobre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

2.2 Específicos

- Coletar espécimes de *Aedes* spp. para manutenção em laboratório e tratamento posterior com produtos naturais de origem vegetal.
- Identificar, a partir da revisão de literatura, as principais classes de compostos que apresentam atividade larvicida frente a *Aedes* spp.
- Avaliar o potencial larvicida de extratos etanólicos (*Mormodica charantia*, *Anadenanthera colubrina* e *Sterculia striata*), óleos essenciais (*Syzygium aromaticum*, *Croton nepetaefolius* e *Cymbopogon citratus*) e ésteres metílicos (*Helianthus annuus*, *Linum usitatissimum* e *Brassica napus*) sobre larvas de 3º e 4º estádios de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.
- Identificar as diferenças de atividade larvicida de extratos etanólicos, óleos essenciais e ésteres metílicos frente ao *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Espécies vegetais utilizadas para a obtenção de produtos naturais

Exemplares das espécies *Syzygium aromaticum* Linnaeus, 1788 (cravo-da-índia), *Croton nepetaefolius* Baill (marmeleiro vermelho), *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (capim-limão, capim-santo), *Linum usitatissimum* Linnaeus (linhaça), *Brassica napus* Linnaeus (canola), *Helianthus annuus* Linnaeus (girassol), *Mormodica charantia* Linnaeus, 1763 (Melão São Caetano), *Anadenanthera colubrina* Vellozo (Angico preto) e *Sterculia striata* A. St. Hill & Naudin (Chichá) oriundas de coleções mantidas na Universidade Estadual do Ceará e na Universidade Federal do Piauí – Campus de Bom Jesus, foram utilizadas para a obtenção de extratos e óleos essenciais, tendo sua classificação taxonômica sido realizada com base num banco de exsicatas próprio de cada instituição acima mencionada. Todos os espécimes coletados foram lavados, inicialmente, com água corrente oriunda da rede de abastecimento local, sendo, em seguida, lavadas duas vezes com água destilada, com o propósito de remover resquícios de sais e quaisquer outros elementos que porventura estejam aderidos à sua superfície.

3.2 Obtenção de extratos etanólicos

Amostras de folhas de *Mormodica charantia* e *Anadenanthera colubrina* e de frutos de *Sterculia striata*, secos à sombra, foram imersos em álcool etílico e, decorridos 20 dias de incubação ao abrigo da luz, a solução resultante foi submetida ao tratamento para a completa eliminação do solvente, utilizando-se, para isso, um evaporador rotativo a vácuo. O percentual de extração foi calculado pela relação *peso do extrato/peso seco* das folhas, multiplicado por 100 (ALI; RAVIKUMAR; BEULA, 2013).

3.3 Obtenção de óleos essenciais

A partir de folhas de *Croton nepetaefolius* e *Cymbopogon citratus* e do botão foliar de *Syzygium aromaticum*, procedeu-se à extração dos óleos essenciais, através de destilação a vapor, segundo Craveiro, Matos e de Alencar (1976).

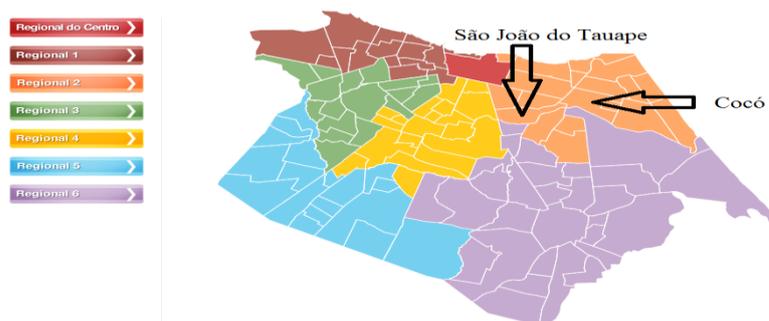
3.4 Obtenção de ésteres metílicos

Os ácidos graxos de *H. annuus*, *L. usitatissimum* e *B. napus*, provenientes dos extratos hexânicos, foram metilados seguindo os passos descritos pela Methods e The (1979) com algumas adaptações que consistem em misturar 500 mg de lipídios com hexano (5 mL) e hidróxido de potássio a 0,1 mol/L em metanol (5 mL) utilizando-se um tubo de ensaio de 30 cm com tampa. Logo após, o tubo de ensaio foi colocado em banho-maria a uma temperatura de 50 °C por um período de uma hora, seguido da adição de mais 5 mL de hexano e 15 mL de ácido clorídrico a 5% à solução que foi transferida para um funil de separação, onde a fase hexânica contendo os ésteres metílicos é separada, sendo seca em sulfato de sódio anidro e mantido em geladeira à 4 °C.

3.5 Coleta de ovos e manutenção de larvas e adultos de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*

Durante o período de agosto de 2014 a abril de 2015 foram realizadas coletas de ovos de *Aedes* spp. no parque Adahil Barreto, localizado no bairro São João do Tauape, e na trilha do Cocó, no bairro Cocó, ambos no município de Fortaleza-CE, com vistas a adquirir amostras de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* de populações geograficamente distintas (FIGURA 10). A realização de tais coletas foi através de armadilhas de oviposição (conhecidas como ovitrampas), preparadas em acordo com Fay e Eliason (1966). Os espécimes coletados serviram de base para a formação de colônias de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* utilizados durante os ensaios de atividade larvicida.

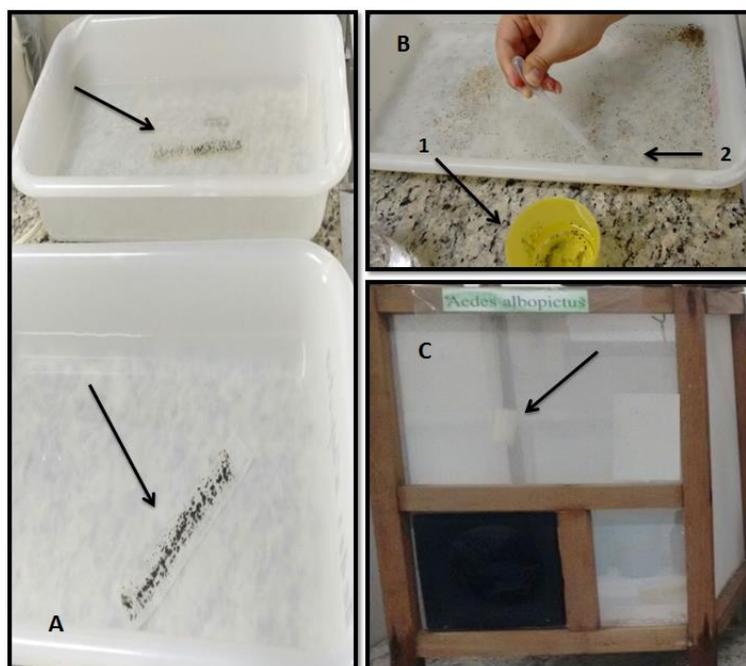
Figura 08: Representação das regionais de Fortaleza-CE, com ênfase na Regional II, especialmente nos bairros São João do Tauape e Cocó, locais onde foram realizadas as coletas de ovos de *Aedes* spp.



Fonte: (PREFEITURA MUNICIPAL DE FORTALEZA, [s.d.])

As ovitrampas positivas foram enviadas ao Laboratório de Entomologia Médica do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, onde foram imersas em água destilada para induzir a eclosão dos ovos, cujas larvas resultantes foram transferidas para recipientes plásticos de 300 mL, sendo alimentadas com ração à base de proteína de soja e mantidas sob temperatura de 25 ± 2 °C. As pupas resultantes foram distribuídas em recipientes plásticos de 100 mL, os quais foram inseridos no interior de gaiolas, adaptadas à manutenção das formas aladas emergentes (FIGURA 11). Uma vez atingido o estágio adulto, os mosquitos, identificados de acordo com chave de classificação específica (FORATTINI, 1995), foram alimentados com uma solução de sacarose a 10%, embebida em algodão, e para o repasto sanguíneo das fêmeas foram utilizadas codornas (*Coturnix coturnix*) anestesiadas. Em acordo com Qadir (2014) os mosquitos foram expostos a um fotoperíodo controlado, com 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

Figura 11: Esquema representativo de atividades de manutenção de colônia de *Aedes* spp. A – Momento de imersão em água dos ovos obtidos da colônia. B – Pupas sendo distribuídas em recipientes plásticos de 100mL (1), utilizando-se uma pipeta (2). C – Gaiola para manutenção das formas aladas, que utilizam como alimento a solução açucarada.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Espécimes de *Ae. aegypti*, pertencentes à linhagem Rockefeller, a qual serve como controle de susceptibilidade em ensaios com larvicidas/inseticidas, também foram mantidos

continuamente em colônias no laboratório, seguindo-se os procedimentos de manutenção acima citados.

3.6 Atividade larvívica dos óleos essenciais, extratos etanólicos e ésteres metílicos

Larvas (20 espécimes/amostra) de 3^o e 4^o estádios da geração de descendentes oriundos das colônias mantidas em laboratório (F1) de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, foram utilizadas para os ensaios larvívicos com os ésteres metílicos, extratos etanólicos e óleos essenciais obtidos, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1981). As amostras foram submetidas ao tratamento com quatro concentrações diferentes (50, 100, 250 e 500 mg/L) dos extratos etanólicos, ésteres metílicos e óleos essenciais obtidos, realizado em triplicatas, a partir das quais serão estimadas as concentrações letais do(s) produto(s) responsáveis pela mortalidade de 50% (CL₅₀) dos espécimes testados.

3.7 Critérios para avaliação estatística

A ação larvívica foi demonstrada por meio da CL₅₀, com limite de confiança de 95%, a partir de tabelas construídas com base no método de regressão logística, assim como através de gráficos que demonstram a interação entre as variáveis dependentes e independentes, utilizando o software estatístico R.

4. RESULTADOS

Os resultados dos ensaios de atividade larvicida são demonstrados, a partir de gráficos e tabelas descritivas, onde são avaliados os principais fatores que podem interferir no número de larvas mortas durante o tratamento com os diversos produtos naturais de origem vegetal.

Como variáveis do presente estudo tem-se o número de larvas mortas durante o tratamento, variável dependente, e como variáveis independentes: o larvicida utilizado no tratamento, dividido em nove categorias, *A. colubrina* (AC), *M. charantia* (MC), *S. striata* (SS), *B. napus* (BN), *H. annuus* (HA), *L. usitatissimum* (LU), *S. aromaticum* (SA), *C. citratus* (CC) e *C. nepetaefolius* (CN); as larvas utilizadas, divididas em três categorias, *Ae. aegypti* (AE), *Ae. albopictus* (AA) e Rockfeller (RF); o tempo de exposição de 24h e 48h; e a concentração do produto natural, dividido em quatro categorias, 50 mg/L, 100 mg/L, 250 mg/L e 500 mg/L. Sendo todos os ensaios realizados com um total de 20 larvas de 3º e 4º estádios.

Na Tabela 02, pode-se observar uma análise descritiva das variáveis independentes (larvicidas, larvas, tempo de exposição e concentração) em relação a variável dependente (mortalidade larval). O n é o número de ensaios onde são verificadas as mortalidades para cada variável independente, permitindo estabelecer a média, mediana, mínimo e máximo de mortalidade larval.

Os larvicidas naturais que condicionaram uma maior mortalidade larval são SA (74,4%), CN (70,5%) e BN (47,75%), sendo os dois primeiros de óleos essenciais e o último por ésteres metílicos. De forma complementar, as larvas mais sensíveis ao tratamento com produtos naturais são as pertencentes à espécie AA, com mortalidade média de 34,8%.

Tabela 02: Descrição das variáveis independentes com relação a variável dependente.

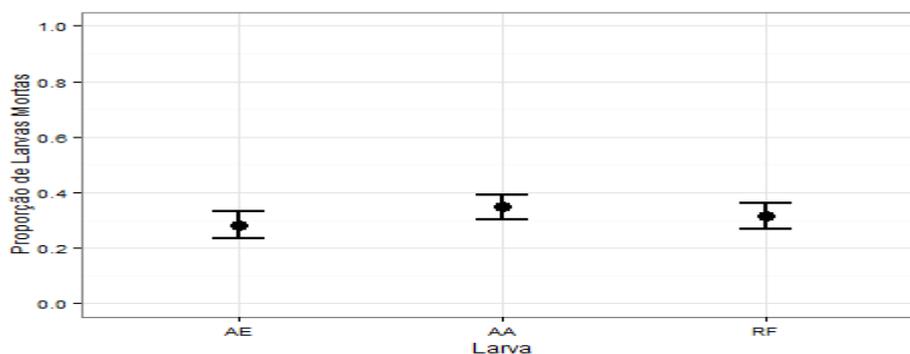
Larvas mortas							
	n	Média	Mínimo	Mediana	Máximo	Erro da Média	Desvio Padrão dos dados
Larvicidas							
AC	72	1,40	0,00	1,00	7,00	0,20	1,73
MC	72	4,08	0,00	2,00	20,00	0,57	4,87
SS	72	1,90	0,00	0,00	12,00	0,36	3,09
BN	72	9,49	0,00	9,00	20,00	0,79	6,74

HÁ	72	4,65	0,00	3,00	16,00	0,54	4,56
LU	72	3,61	0,00	1,00	16,00	0,57	4,80
SA	72	14,88	1,00	17,00	20,00	0,72	6,08
CC	72	2,78	0,00	2,00	11,00	0,31	2,62
CN	72	14,10	0,00	18,50	20,00	0,84	7,13
Larvas							
AA	216	6,96	0,00	5,00	20,00	0,46	6,74
AE	216	5,66	0,00	2,00	20,00	0,48	7,09
RF	216	6,34	0,00	3,00	20,00	0,47	6,94
Tempo de exposição							
24H	324	4,90	0,00	2,00	20,00	0,37	6,69
48H	324	7,74	0,00	6,00	20,00	0,38	6,90
Concentração							
50	162	2,72	0,00	1,00	20,00	0,31	3,90
100	162	4,87	0,00	3,00	20,00	0,45	5,72
250	162	7,38	0,00	4,00	20,00	0,58	7,39
500	162	10,31	0,00	10,00	20,00	0,60	7,64

Fonte: Dados gerados pelo autor

Analisando-se o perfil médio de mortalidade larval, é possível observar que AA apresenta maior proporção de larvas mortas quando comparado ao AE (FIGURA 12).

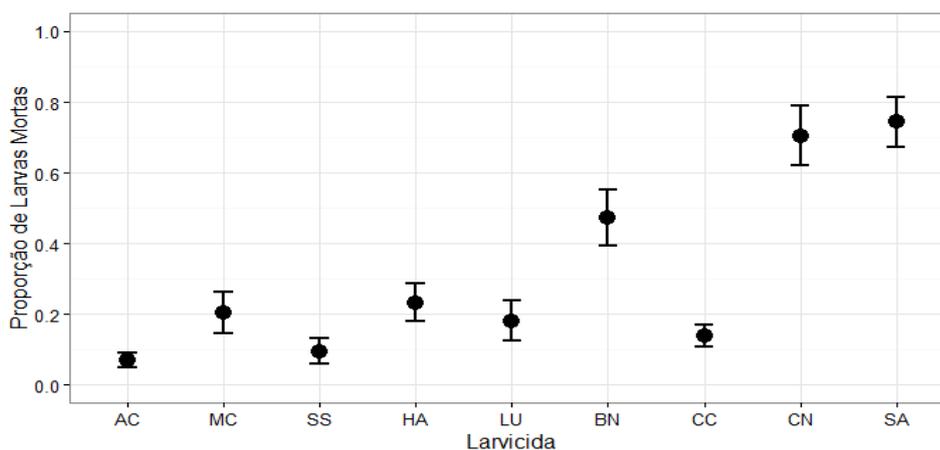
Figura 12: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à espécie.



Fonte: Dados gerados pelo autor

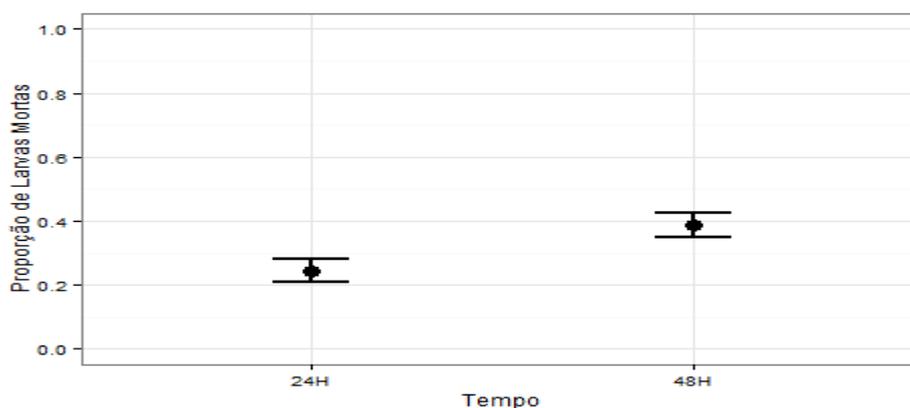
Observou-se, a partir da Figura 13, os perfis médios de larvas mortas diante do tratamento com os diversos produtos naturais de origem vegetal, onde a menor proporção é encontrada em AC e a maior em SA. Da mesma forma, na Figura 14 observa-se que o tempo influencia no número de larvas mortas.

Figura 13: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tipo de larvicida natural.



Fonte: Dados gerados pelo autor

Figura 14: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação ao tempo de exposição.

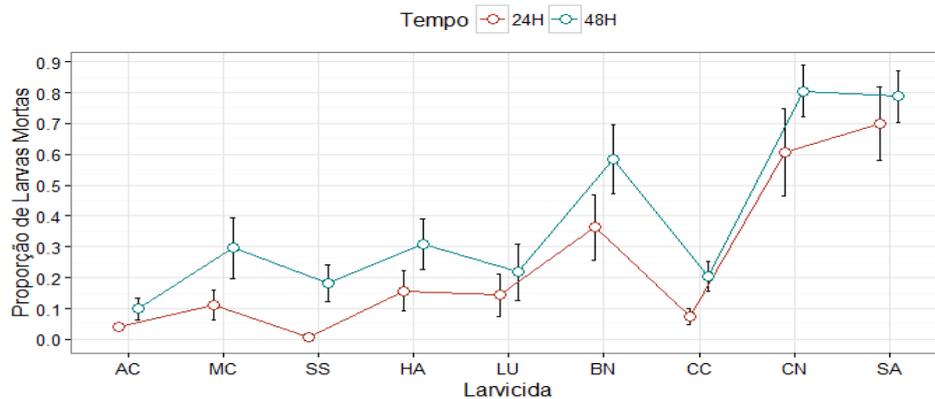


Fonte: Dados gerados pelo autor

Pode-se notar na Figura 15 a interação entre os larvicidas utilizados e o tempo, tendo-se como o extrato etanólicos de AC como padrão para comparação com os demais. Deste modo, observa-se que o efeito do tempo é diferente nos diversos larvicidas utilizados quando verificada a proporção de larvas mortas durante o tratamento, larvicidas como BN,

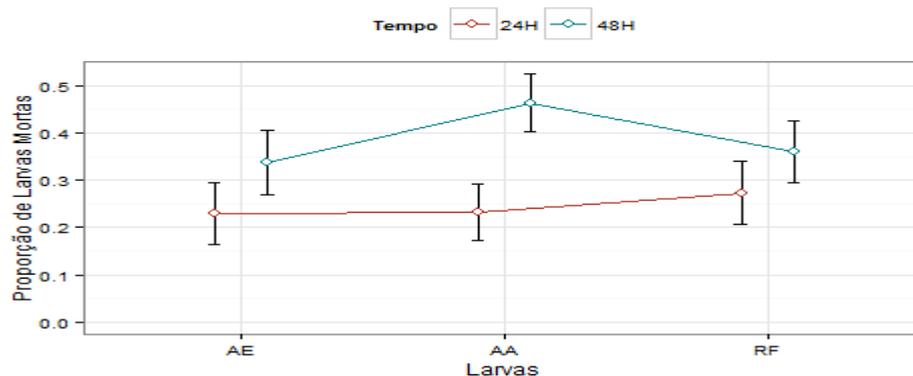
CN e SS interagem com um tempo de exposição de forma bastante divergente do que é notado em AC. De forma similar, percebe-se na Figura 16 que as cepas AE e RF apresentam interações similares com relação à mortalidade e o tempo de exposição ao tratamento, entretanto, as larvas de AA sofrem uma variação mais acentuada entre o tempo de exposição de 24h e 48h, tornando-as mais sensíveis.

Figura 15: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação larvicida x tempo de exposição.



Fonte: Dados gerados pelo autor

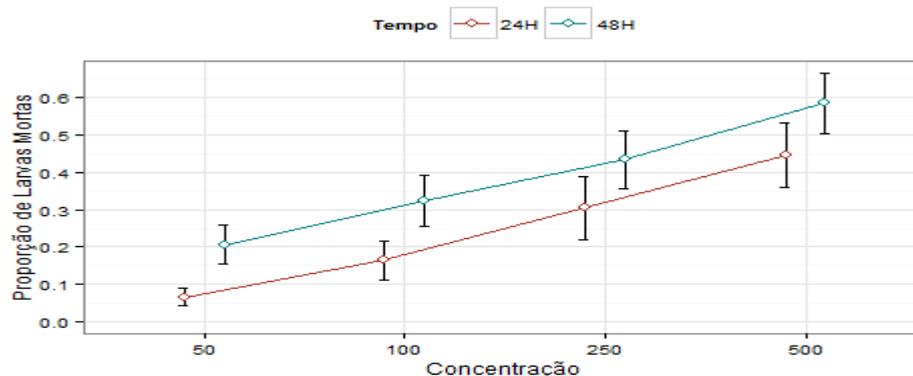
Figura 16: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação espécie x tempo de exposição.



Fonte: Dados gerados pelo autor

A interação entre a concentração e o tempo não sofre variação, diante da condição de que o maior tempo de exposição não altera a concentração do larvicida, entretanto, observa-se o aumento do número de larvas mortas em consequência de um período mais elevado de exposição dos espécimes ao tratamento (FIGURA 17).

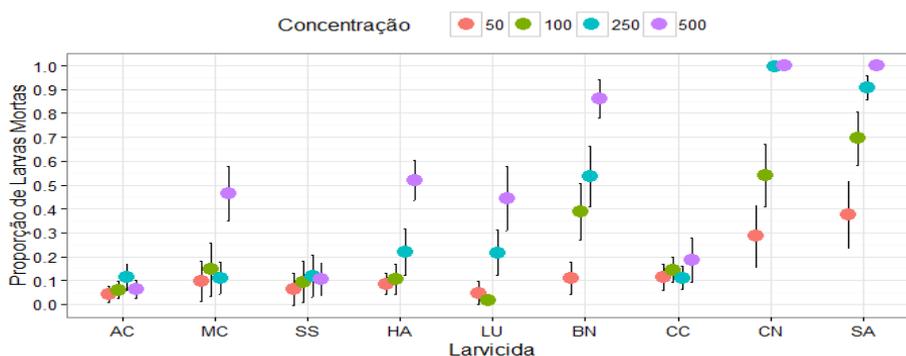
Figura 17: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação concentração do concentração x tempo de exposição.



Fonte: Dados gerados pelo autor

A maioria dos produtos naturais testados apresentou uma atividade larvicida constante em consonância com o aumento da concentração (FIGURA 18). Os casos onde se pode observar uma proporção de larvas mortas que não sofre aumento linear com a concentração são os extratos etanólicos de AC e MC, o óleo essencial de CC e os ésteres metílicos de LU. Podendo ser notado em comum dentre estes produtos naturais à baixa proporção de larvas mortas durante o tratamento. Em produtos naturais com maior ação larvicida como os ésteres metílicos de BN e os óleos essenciais de SA e CN o aumento gradativo na proporção de larvas mortas com o acréscimo da concentração pode ser mais bem evidenciado.

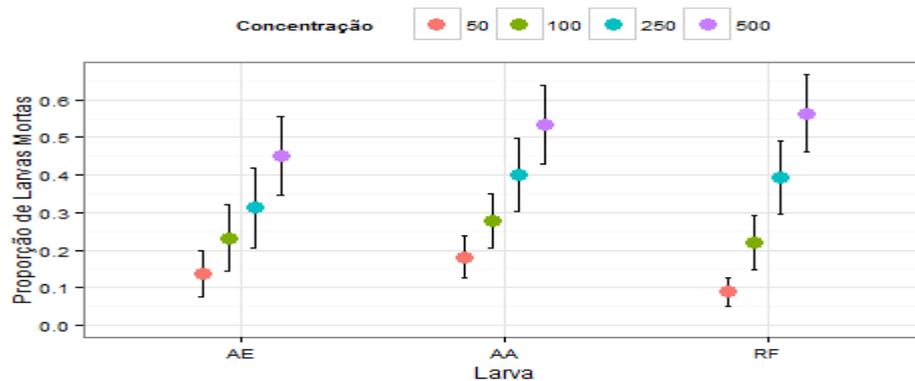
Figura 18: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação larvicida x concentração do larvicida.



Fonte: Dados gerados pelo autor

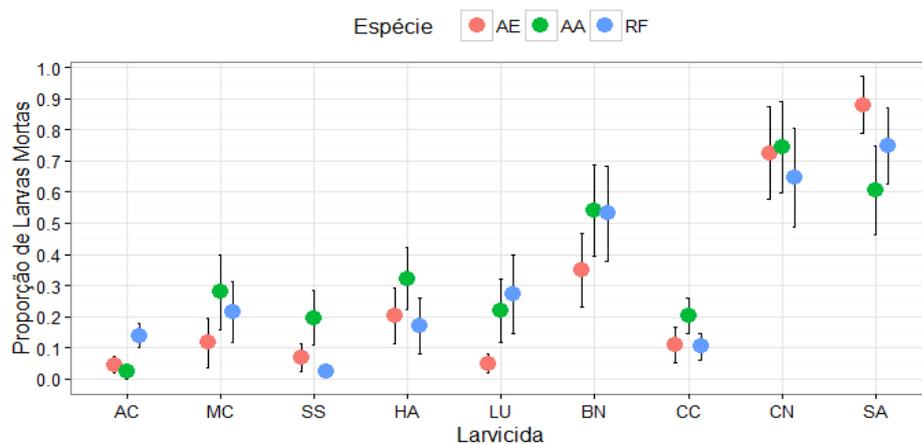
A cepa de AE de maneira geral aparece como sendo a mais resistente ao tratamento com produtos naturais de origem vegetal, sobretudo nas concentrações de 250 mg/L e 500 mg/L, onde a proporção de larvas mortas é significativamente menor do que a observada nas cepas de AA e RF a partir da Figura 19. Isso pode ainda ser evidenciado através da Figura 20, onde as larvas de AE morrem em menor proporção que as outras duas cepas, com exceção do óleo essencial de SA.

Figura 19: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação espécie x concentração do larvicida.



Fonte: Dados gerados pelo autor

Figura 20: Perfis médios da proporção de larvas mortas com acréscimo do intervalo de confiança de 95% em relação à interação larvicida x espécie.



Fonte: Dados gerados pelo autor

Diante da Tabela 03, nota-se que houve resultados significativos em todos os efeitos individuais, assim como também entre as interações das variáveis independentes, exceto entre

o tempo de exposição e a concentração. Em todos os casos individuais o p-valor é inferior a 0,001, como, por exemplo, quanto ao tipo de larva utilizada, demonstrado na Figura 10, as larvas de AA apresentaram maior proporção média de mortalidade, e deste modo manifestando diferenças a depender da espécie de culicídeo utilizado.

O único caso que a interação não pode ser notada entre as variáveis independentes foi entre o tempo de exposição e a concentração do larvicida, conforme observado na Tabela 03, com p-valor 0,561, não significativo, como demonstrado na Figura 17.

Tabela 03: Análise de desvio levando em consideração o modelo logístico.

	g.l	Deviance	Resid. g.l	Resid. Dev	Pr (>Chi)
Modelo Nulo			647	8505,8	
Larvicida	8	3614,6	639	4891,2	< 0,001 ***
Tempo	1	422,7	638	4468,5	< 0,001 ***
Concentração	1	1695,9	637	2772,6	< 0,001 ***
Espécie	2	71,6	635	2701	< 0,001 ***
Larvicida*Tempo	8	98,2	627	2602,8	< 0,001 ***
Larvicida*Concentração	8	773,4	619	1829,4	< 0,001 ***
Larvicida* Espécie	16	559,3	603	1270	< 0,001 ***
Tempo*Concentração	1	0,3	602	1269,7	0,561
Tempo* Espécie	2	50,2	600	1219,5	< 0,001 ***
Concentração* Espécie	2	61	598	1158,5	< 0,001 ***

*** representa efeito significativo a nível de significância de 0,1%.

Fonte: Dados gerados pelo autor

Após identificar os efeitos que influenciam na proporção de larvas mortas, como a concentração do larvicida, as cepas testadas, os tipos de larvicida e o tempo de exposição, faz-se necessário estimar os parâmetros do modelo logístico utilizado.

Ao tratarmos de variáveis categóricas (TABELA 04) é necessário estabelecer uma categoria de referência, e, a partir desta, estabelecer comparações com base nesta categoria. Sendo, nas variáveis independentes, as seguintes categorias: AC para o tipo de larvicida natural; AE para a espécie e 24 h para o tempo.

Observa-se na Tabela 04 os parâmetros que influenciam a proporção média de larvas mortas. Ou seja, para cada estimativa significativa (p-valor<0,05) ocorre interferência na proporção média de larvas mortas.

Nos casos onde se têm uma interação significativa, torna-se desnecessária a análise individual, visto que as interações mostram informações acerca dos efeitos individuais. Observa-se, por exemplo, na relação entre o larvicida CN e o tempo de exposição de 48h, como também o larvicida SS e 48h de exposição, ambos com p-valor < 0,05, demonstrando um maior efeito na mortalidade larval quando comparado à categoria de referência do larvicida AC e tempo de 48h. As demais análises podem ser feitas com base na Tabela 04.

Tabela 04: Estimativas dos parâmetros referentes ao modelo logístico ajustado aos dados sobre larvas mortas.

Efeito	Estimativa	Erro Padrão	Valor Z	P-valor	
Intercepto	-3,727	0,333	-11,2	0,000	***
Larvicida_BN	0,276	0,375	0,7	0,461	
Larvicida_CC	0,644	0,386	1,7	0,095	.
Larvicida_CN	0,140	0,430	0,3	0,744	
Larvicida_HA	0,028	0,384	0,1	0,941	
Larvicida_LU	-2,134	0,465	-4,6	0,000	***
Larvicida_MC	-0,718	0,406	-1,8	0,077	.
Larvicida_SA	3,328	0,376	8,9	0,000	***
Larvicida_SS	-1,839	0,572	-3,2	0,001	**
Tempo_48H	1,121	0,257	4,4	0,000	***
Concentração	0,000	0,001	0,0	0,968	
Espécie_AA	-0,627	0,400	-1,6	0,117	
Espécie_RF	1,100	0,307	3,6	0,000	***
Larvicida_BN:Tempo_48H	0,168	0,274	0,6	0,539	
Larvicida_CC:Tempo_48H	-0,073	0,293	-0,2	0,803	
Larvicida_CN:Tempo_48H	0,823	0,301	2,7	0,006	**
Larvicida_HA:Tempo_48H	-0,148	0,280	-0,5	0,597	
Larvicida_LU:Tempo_48H	-0,458	0,292	-1,6	0,116	
Larvicida_MC:Tempo_48H	0,216	0,285	0,8	0,448	
Larvicida_SA:Tempo_48H	-0,421	0,284	-1,5	0,138	
Larvicida_SS:Tempo_48H	2,022	0,489	4,1	0,000	***
Larvicida_BN:Concentração	0,009	0,001	11,1	0,000	***
Larvicida_CC:Concentração	0,002	0,001	2,0	0,043	*

Larvicida_CN:Concentração	0,032	0,003	12,4	0,000	***
Larvicida_HA:Concentração	0,006	0,001	8,6	0,000	***
Larvicida_LU:Concentração	0,008	0,001	9,6	0,000	***
Larvicida_MC:Concentração	0,006	0,001	7,4	0,000	***
Larvicida_SA:Concentração	0,018	0,001	12,6	0,000	***
Larvicida_SS:Concentração	0,002	0,001	2,4	0,018	*
Larvicida_BN: Espécie_AA	1,964	0,407	4,8	0,000	***
Larvicida_CC: Espécie_AA	1,489	0,416	3,6	0,000	***
Larvicida_CN: Espécie_AA	0,739	0,432	1,7	0,087	.
Larvicida_HA: Espécie_AA	1,669	0,409	4,1	0,000	***
Larvicida_LU: Espécie_AA	3,024	0,459	6,6	0,000	***
Larvicida_MC: Espécie_AA	2,156	0,420	5,1	0,000	***
Larvicida_SA: Espécie_AA	-1,716	0,431	-4,0	0,000	***
Larvicida_SS: Espécie_AA	2,047	0,437	4,7	0,000	***
Larvicida_BN: Espécie_RF	-0,014	0,313	0,0	0,964	
Larvicida_CC: Espécie_RF	-1,369	0,336	-4,1	0,000	***
Larvicida_CN: Espécie_RF	-1,907	0,347	-5,5	0,000	***
Larvicida_HA: Espécie_RF	-1,720	0,327	-5,3	0,000	***
Larvicida_LU: Espécie_RF	1,102	0,378	2,9	0,004	**
Larvicida_MC: Espécie_RF	-0,467	0,332	-1,4	0,159	
Larvicida_SA: Espécie_RF	-2,263	0,339	-6,7	0,000	***
Larvicida_SS: Espécie_RF	-2,421	0,451	-5,4	0,000	***
Tempo_48H: Espécie_AA	0,471	0,147	3,2	0,001	**
Tempo_48H: Espécie_RF	-0,311	0,150	-2,1	0,038	*
Concentração: Espécie_AA	-0,002	0,000	-4,3	0,000	***
Concentração: Espécie_RF	0,001	0,000	3,0	0,003	**

Fonte: Dados gerados pelo autor

Diante das proporções de larvas mortas nos ensaios realizados, foi possível determinar a concentração necessária para condicionar a morte de 50% das larvas das diversas cepas de mosquitos utilizadas nos testes (TABELA 05).

Tabela 05: Concentração letal 50% (CL₅₀) das larvas de *Aedes* spp.

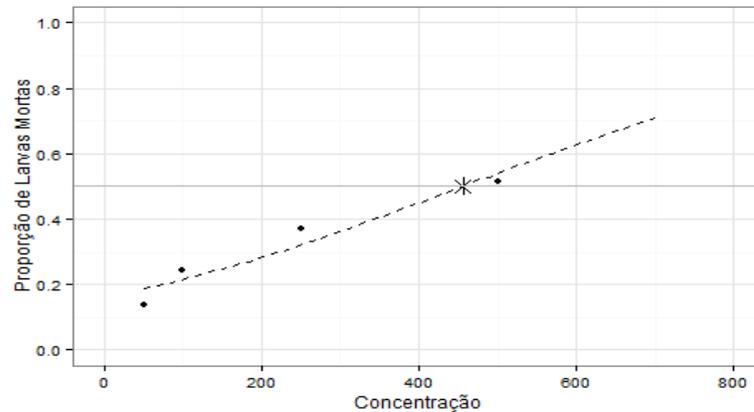
Modelo	CL₅₀ (mg/L)	AE	AA	RF
1 Concentração	455,85	-	-	-
2 Tempo 24H x Concentração	521,84	-	-	-
Tempo 48H x Concentração	372,49	-	-	-
3 Espécie AE x Concentração	545,55	-	-	-
Espécie AA x Concentração	431,79	-	-	-
Espécie RF x Concentração	412,35	-	-	-
4 LarvicidaAC x Concentração	4106,70	2803,87	2779,82	5434,26
LarvicidaBN x Concentração	231,72	342,84	181,49	180,92
LarvicidaCC x Concentração	1969,85	2876,19	3789,48	1120,19
LarvicidaCN x Concentração	89,11	81,73	76,14	110,90
LarvicidaHA x Concentração	485,12	555,00	399,69	492,97
LarvicidaLU x Concentração	520,28	753,53	502,29	381,85
LarvicidaMC x Concentração	560,18	542,12	795,42	473,51
LarvicidaSA x Concentração	68,35	32,80	138,19	71,12
LarvicidaSS x Concentração	2973,60	998,43	-	1162,34

Fonte: Dados gerados pelo autor

Com base na Tabela 05, dispomos a seguir gráficos que representam a concentração letal em cada modelo desenvolvido. As linhas tracejadas representam o modelo estimado, os pontos representam as proporções de larvas mortas e os asteriscos são marcações da CL₅₀.

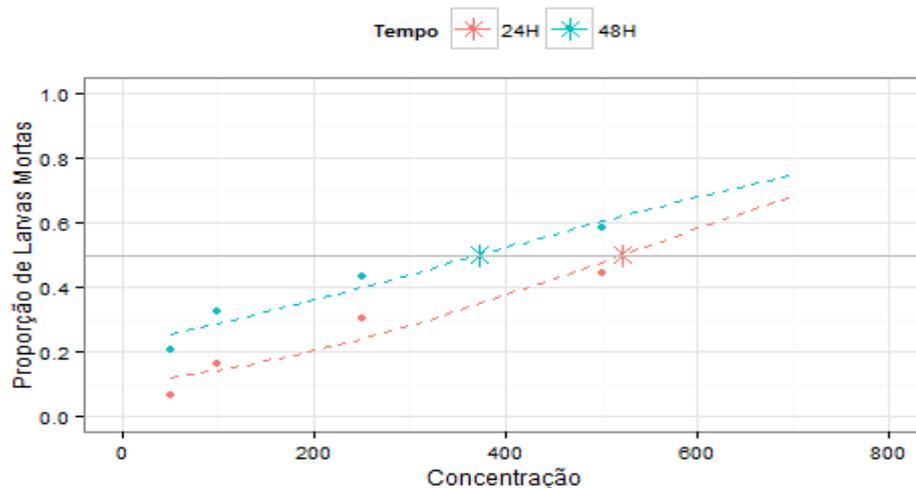
Observa-se na Figura 21 a concentração letal para o modelo 1, que demonstra a concentração média para mortalidade de 50% das larvas tratadas. Enquanto na Figura 22 têm-se a CL₅₀ para o tempo de exposição de 24h (521,84 mg/L) e 48h (372,49 mg/L), onde, nitidamente, a concentração é menor para um tempo maior de exposição.

Figura 21: Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 1.



Fonte: Dados gerados pelo autor

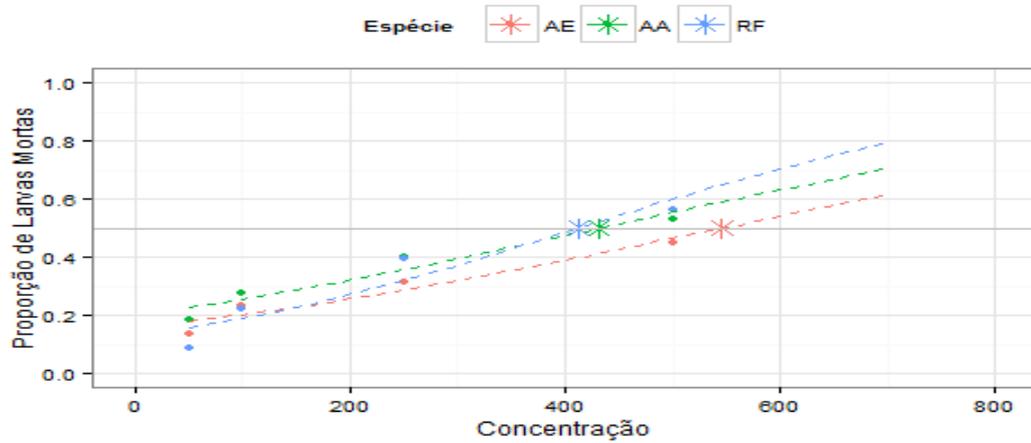
Figura 22: Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 2.



Fonte: Dados gerados pelo autor

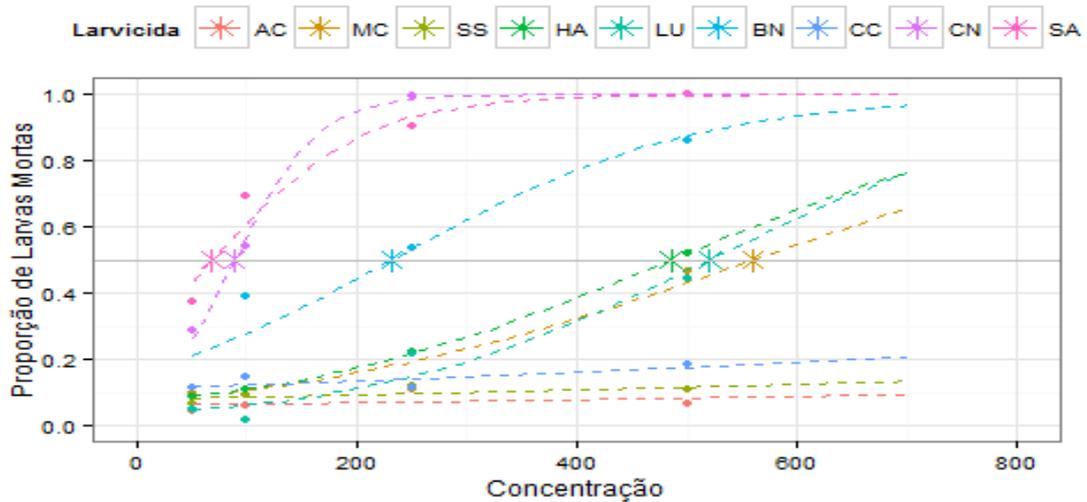
A concentração letal para as diferentes cepas testadas neste estudo é demonstrada pela Figura 23, a partir da qual é possível notar uma menor CL_{50} para RF (412,35 mg/L), seguida de AA (431,79 mg/L). Sendo, portanto, as larvas de AE (545,55 mg/L) as mais resistentes ao tratamento larvicida de forma geral. De forma similar, a Figura 24 demonstra as CL_{50} de acordo com o larvicida natural utilizado, sendo identificadas as menores concentrações para SA (68,35 mg/L), CN (89,11 mg/L) e BN (231,72 mg/L), respectivamente.

Figura 23: Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 3.



Fonte: Dados gerados pelo autor

Figura 24: Proporção de larvas mortas com acréscimo da concentração letal de 50% para o modelo 4.



Fonte: Dados gerados pelo autor

5. DISCUSSÃO

Os produtos naturais são considerados, no controle de populações de mosquitos, como compostos de eficiência significativa em alternativa ao tradicional uso de compostos sintéticos (ZARA et al., 2016). Deste modo, óleos essenciais e extratos de plantas têm sido investigados para comprovação de efeito larvicida contra populações de *Aedes* spp. (PEREIRA et al., 2014). Sendo sua atividade relacionada com as características específicas de alguns grupamentos químicos estruturais destes compostos ou a partir de um sincronismo entre eles, conferindo aumento da ação larvicida (SANTOS et al., 2011).

No que concerne ao tipo de cepa mais susceptível ao tratamento, com a utilização dos diversos produtos naturais, a mortalidade de Rockefeller foi mais significativa, com uma CL_{50} de 412,35 mg/L, fato já esperado diante de ser uma cepa mantida por várias linhagens em laboratório e que não encontra-se exposta a seleções impostas pelo meio. A cepa de *Ae. albopictus* demonstrou uma susceptibilidade relativamente próxima, CL_{50} de 431,79, sendo esta identificada no Brasil apenas na década de 1980 (PANCETTI et al., 2015). A cepa que manifestou maior resistência foi a de *Ae. aegypti*, com uma CL_{50} de 545,55 mg/L. Este resultado corrobora com o obtido por Lee e Ahn (2013), onde em seu teste utilizando componentes de *Pinus densiflora* a cepa de *Ae. aegypti* se manifestou como levemente resistente ao tratamento quando comparada a *Ae. albopictus*.

A partir dos bioensaios realizados, dentre o grupo de nove plantas utilizadas, representando três classes de produtos naturais – a saber: ésteres metílicos, óleos essenciais e extratos etanólicos – os óleos essenciais se manifestam com as duas maiores taxas de mortalidade nos mosquitos e, conseqüentemente, menores CL_{50} .

O óleo essencial de *S. aromaticum* demonstra maior mortalidade larval (74,4%), sendo esta uma planta de origem indiana, com cultivo no Brasil especialmente nos estados de São Paulo e Bahia, muito utilizada como aromatizante e para fins culinários (COSTA et al., 2005). Sua atividade larvicida sobre *Ae. aegypti* já foi evidenciada por Costa et al. (2005), Affonso et al. (2012), Fayemiwo et al. (2014), Santos (2014). Deste modo, é notável sua toxicidade sobre larvas de *Ae. aegypti*, que são consideradas susceptíveis ao tratamento com concentrações relativamente baixas, CL_{50} de 68,35 mg/L.

A toxicidade do óleo essencial de *S. aromaticum* pode ser evidenciada diante da mortalidade ocasionada em todas as cepas testadas. Essa eficácia enquanto larvicida já havia sido relatada por Fayemiwo et al. (2014), que obteve CL_{50} de 92,56 mg/L em testes realizados

com larvas de *Ae. aegypti* provenientes da Nigéria, valor superior ao obtido neste estudo (CL₅₀ de 32,80 mg/L).

Os componentes majoritários do óleo essencial de *S. aromaticum* são o eugenol (80,95%) e o acetato de eugenol (5,01%), segundo identificou Fayemiwo et al. (2014). A eficácia destes compostos enquanto larvicidas já foi evidenciada por Santos (2014) sobre larvas de *Ae. aegypti*. Entretanto, a atividade larvicida deste óleo essencial ainda não foi evidenciada na literatura contra larvas de *Ae. albopictus*.

Os relatos identificados na literatura sobre a ação larvicida de óleos essenciais de outras plantas contra mosquitos *Aedes* spp. resumem-se, predominantemente, ao controle de *Ae. aegypti*: *Carum carvi* Linnaeus (CL₅₀ = 54,62 mg/L), *Apium graveolens* Linnaeus (CL₅₀ = 42,07 mg/L), *Foeniculum vulgare* Mill. (CL₅₀ = 49,32 mg/L), *Zanthoxylum limonella* Alston (CL₅₀ = 24,61 mg/L) e *Curcuma zedoaria* Christm. (CL₅₀ = 31,87 mg/L) (PITASAWAT et al., 2007), *E. camaldulensis* (CL₅₀ = 31 mg/L), *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake (CL₅₀ = 95,5 mg/L) (CHENG et al., 2009a).

Os trabalhos relacionados ao controle de *Ae. albopictus* com a utilização de produtos naturais são menos difundidos em comparação com os relacionados ao *Ae. aegypti*, isso se justifica por ele ser considerado o vetor mais importante de dengue, e demais arboviroses transmitidas por *Aedes* spp. (SOUZA; SILVA; SILVA, 2010). Sumitha e Thoppil (2016), em seus estudos sobre as propriedades do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* Linnaeus (alfavaca), relataram ação larvicida contra *Ae. albopictus*, identificando uma CL₅₀ de 26,10 mg/L.

Dentre os compostos que apresentaram maior média de larvas mortas, logo após o óleo essencial de *S. aromaticum*, encontra-se o óleo essencial de *C. nepetaefolius* que matou 70,5% das larvas tratadas, apresentando uma CL₅₀ de 89,11 mg/L, sendo para *Ae. aegypti* de 81,73 mg/L. Este resultado corrobora com o apresentado por Morais et al. (2006), que testaram várias espécies de *Croton*, que apresentaram efeito larvicida sobre *Ae. aegypti*, sendo que para o *C. nepetaefolius* a CL₅₀ de 84 mg/L, valor significativamente próximo do obtido neste estudo para as cepas *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e Rockfeller. As outras espécies vegetais que apresentaram propriedades larvicidas foram o *C. zenhtneri*, *C. argyrophyloides* e *C. sonderianus*, apresentando CL₅₀ com valores de 28 mg/L, 102 mg/L e 104 mg/L, respectivamente.

Morais et al. (2006) identificaram, ainda, que os componentes majoritários presentes no óleo essencial de *C. nepetaefolius* foram o metileugenol (48,47%) e α -copaeno (19,87%),

que quando isolados apresentaram-se como larvicidas potencias, sugerindo que sejam os responsáveis pelo efeito larvicida do óleo essencial.

Diante da atividade larvicida manifestada pelos óleos essenciais de *S. aromaticum* e *C. nepetaefolius* sobre as três cepas testadas, eles podem ser considerados fortes candidatos para o controle dos mosquitos *Aedes* spp. Sumitha e Thoppil (2016) defendem a utilização de compostos de origem vegetal como alternativa ao controle com base em produtos químicos sintéticos, por considerar que estes oferecem menos prejuízos ao meio ambiente. Estes autores em ensaios larvicidas contra *Ae. albopictus* com a utilização do óleo essencial de *O. gratissimum*, obtiveram uma CL₅₀ de 82,83 mg/L, e consideram este como um suposto larvicida no controle integrado de *Aedes* spp., sugerindo, portanto, que *C. nepetaefolius* também manifesta uma atividade larvicida considerável, juntamente com *S. aromaticum*.

Sobre o polimorfismo químico de óleos essenciais, pesquisadores têm defendido que ele pode está associado à influência de fatores ambientais, como temperatura, fotoperíodo, umidade e variabilidade genética (CERQUEIRA et al., 2009; DUARTE, 2012; ROSA et al., 2016; STEFANELLO et al., 2010). Essas alterações podem se relacionar as variações obtidas com relação à atividade larvicida de óleos essenciais da mesma espécie em diferentes estudos.

O efeito larvicida do óleo essencial de *C. citratus* sobre as cepas testadas foi consideravelmente menor do que os apresentados pelo óleo essencial de *S. aromaticum* e *C. nepetaefolius*, com CL₅₀ de 1969,85 mg/L, valor que diverge de forma bastante discrepante do obtido por Morais et al. (2006), com CL₅₀ de 69 mg/L, em testes larvicidas contra *Ae. aegypti*. Sendo seus componentes majoritários descritos por Costa et al. (2013) como o geranial (49,98%) e o neral (37,78%).

Alguns fatores podem se relacionar com as variações encontradas entre a eficiência como larvicida de *C. citratus* identificada, sobretudo, por Morais et al. (2006) podem se relacionar, inicialmente, com a constituição das populações de mosquitos testados, onde neste trabalho foram utilizadas cepas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e Rockfeller, enquanto no estudo citado os experimentos foram realizados apenas com *Ae. aegypti*. Soonwera e Phasomkusolsil (2016) em testes com atividade repelente notaram que o tempo que a amostra de óleo essencial passa diluída no solvente também pode interferir na toxicidade do produto natural. Além disso, é imprescindível considerar as variações genéticas que as populações de animais e plantas se submetem ao longo do tempo, e, conseqüentemente a diversidade encontrada.

Soonwera e Phasomkusolsil (2016) demonstraram a ação larvicida de *C. citratus* e *S. aromaticum* por meio de soluções com concentrações de 1%, 5% e 10%, concentrações

superiores às demonstradas neste estudo. Sendo que o tempo de exposição necessário para uma mortalidade de 50% das larvas de *Ae. aegypti* foi de 14,7h e 6,3h, respectivamente. Contudo, a atividade larvicida do óleo essencial de *C. citratus* tem sido evidenciada sobre mosquitos das espécies *Anopheles arabiensis* (Patton, 1905) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823), pertencentes à ordem díptera (KARUNAMOORTHY; ILANGO, 2010; PUSHPANATHAN; JEBANESAN; GOVINDARAJAN, 2006)

Os relatos da literatura se relacionam predominantemente ao potencial repelente do óleo essencial de *C. citratus* frente às espécies *Ae. aegypti*, *An. Arabiensis* e *Cx. quinquefasciatus*, vetores de dengue, malária e filariose, respectivamente (LUPI; HATZ; SCHLAGENHAUF, 2013; NEGRELLE; GOMES, 2007; SOONWERA; PHASOMKUSOLSIL, 2015).

A capacidade das plantas em produzir óleos essenciais (compostos bioativos que podem manifestar propriedades ovicidas, larvicidas, pupicidas, etc.) é relacionada por Pavela (2015) a plantas comumente cultivadas por suas propriedades medicinais. Essa relação pode ser ratificada pela presença de compostos com atividade larvicida nos óleos essenciais de *C. nepetaefolius*, *S. aromaticum* e *C. citratus*.

De forma geral, quanto aos tipos larvais testados, nota-se que as larvas de *Ae. albopictus* são as mais susceptíveis aos tratamentos com óleos essenciais de *C. nepetaefolius* e *C. citratus*, sendo, contudo, as mais resistentes a exposição ao óleo essencial de *S. aromaticum*. Em estudos realizados em Taiwan com a utilização de óleos essenciais de *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus camaldulensis* as CL_{50} obtidas foram de 95,5 mg/L e 31 mg/L para larvas de *Ae. aegypti* e 285,8 mg/L e 55,3 mg/L para *Ae. albopictus*, respectivamente (CHENG et al., 2009a), demonstrando uma maior susceptibilidade para larvas de *Ae. aegypti* para ambos os tratamentos.

Já em estudos realizados em Cuba para identificar a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Cx. quinquefasciatus* ao tratamento com óleo de *Melaleuca quinquenervia*, observou-se uma variação de 2% entre as taxas de mortalidade das espécies *Aedes* spp., evidenciando, ainda, o caráter sustentável na utilização de produtos naturais de origem vegetal (LI; TUERGAN; ABULIZI, 2016). É possível notar que de maneira geral as larvas que são mais frequentes no local de estudo, acabam sendo mais resistentes ao tratamento com os produtos naturais quando são comparadas com aquelas menos frequentes ou que foram incluídas em um novo hábitat recentemente, ou seja, das larvas testadas neste estudo, nos diversos produtos naturais, as larvas de *Ae. aegypti* aparecem como sendo as mais resistentes.

Diante das frequentes limitações para a sustentabilidade na utilização de inseticidas sintéticos no controle de vetores, sendo em primeiro ponto associado ao desenvolvimento de resistência, e em segundo ao número limitado de novos inseticidas que são comercializados a fim de controlar vetores de doenças, como defendido por Smith, Kasai e Scott (2016), tais resultados podem oferecer alternativas eficazes no controle de populações de mosquitos transmissores de doenças, em especial o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, que estão associados à arboviroses (EL-SHEIKH; AL-FIFI; ALABBOUD, 2016). Sendo a principal vantagem dos óleos essenciais apresentados aqui sua capacidade de causar à mortalidade em ambas as espécies vetores.

Os ésteres metílicos testados, neste estudo, manifestam na maior parte dos casos uma menor atividade larvicida do que os óleos essenciais, uma possível evidência deve-se aos componentes químicos presentes nestes produtos. A mortalidade média de larvas tratadas com ésteres metílicos de *B. napus*, *H. annuus* e *L. usitatissimum* foram 47,45%, 23,25% e 18,05%, respectivamente, valores significativamente menores que os obtidos com o tratamento a base de óleos essenciais de *S. aromaticum* e *C. nepetaefolius*.

Embora o percentual de mortalidade condicionada por ésteres metílicos *H. annuus* tenha sido relativamente baixo, a sua CL_{50} é de 485,12 mg/L, um valor representativo para larvicidas naturais. A literatura não traz evidências sobre a ação de componentes desta planta sobre larvas de *Aedes* spp., contudo, Pereira et al. (2008) em testes realizados com relação à oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) utilizando óleos fixos de *H. annuus*, além de óleos essenciais de outras plantas, identificaram uma inibição considerável, além de alterações na longevidade dos sobreviventes.

Os ésteres metílicos de *L. usitatissimum* apresentaram uma CL_{50} de 520 mg/L, valor relativamente próximo ao obtido com os ésteres metílicos de *H. annuus* e também menores que os obtidos pela maioria dos óleos essenciais. Embora a ação de componentes de *L. usitatissimum* não tenha sido relatada pela literatura contra larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, a ação adulticida é evidenciada por Nawaz et al. (2011) sobre *Ae. aegypti* onde foram utilizadas soluções de acetona com 1% de óleo de *L. usitatissimum*, provocando mortalidade nos adultos de 57,5% e 72,75% após 24h e 48h de exposição, respectivamente. Uma variação semelhante na mortalidade influenciada pelo tempo também é percebida no presente estudo, onde a proporção de larvas mortas entre os tempos de 24h e 48h é bem pequena, sendo preponderante para larvas de *Ae. albopictus*, como observado nos resultados.

Com base nos resultados, percebe-se que os diferentes tipos larvais apresentam diferentes sensibilidades em relação ao tratamento com ésteres metílicos. No caso do *L.*

usitatissimum as larvas mais sensíveis são as da cepa Rockefeller e a mais resistente é a de *Ae. aegypti*. Já com relação ao tratamento com *H. annuus* a cepa de *Ae. albopictus* é a que apresenta maior mortalidade e a de Rockefeller sendo a mais resistente.

Os ésteres metílicos de *B. napus* foram os que apresentaram melhores resultados no tratamento de larvas de *Aedes* spp., apresentando CL₅₀ de 231,72 mg/L. Tendo-se as larvas de *Ae. albopictus* como sendo as mais susceptíveis e *Ae. aegypti* como as mais resistentes. Este resultado diverge do obtido por Vargas (2012) para óleos essenciais de *Brassica* spp, onde a CL₅₀ foi de 71,37 mg/L e 83,36 mg/L, sobre larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, respectivamente. Diante disso, ratifica-se a afirmação de que os diferentes compostos testados poderão proporcionar mortalidades distintas.

Embora os ésteres metílicos se mostrem menos ativos que os óleos essenciais sobre as larvas de *Aedes* spp., no caso de *B. napus*, obtêm-se resultados satisfatórios na atividade sobre *Aedes* spp., colaborando para a possibilidade de utilização de produtos que sejam menos agressivos ao meio ambiente em substituição e/ou complementação aos compostos sintéticos historicamente utilizados no controle de vetores de doenças humanas (SUMITHA; THOPPIL, 2016).

Os extratos vegetais, assim como os óleos essenciais manifestam, em grande maioria, atividade larvicida considerável sobre diversas espécies de mosquitos transmissores de doenças (BEZERRA-SILVA et al., 2015; RUIZ-GUERRERO; RODRÍGUEZ-PÉREZ; NORZAGARAY-CAMPOS, 2015; YADAV et al., 2015). Entretanto, assim como a maioria dos ésteres metílicos testados neste trabalho os extratos etanólicos tiveram uma eficácia enquanto larvicidas proporcionalmente baixa, com percentuais de mortalidade de 7%, 24% e 9,5% para o tratamento com *A. colubrina*, *M. charantia* e *S. striata*, respectivamente.

O extrato etanólico de *A. colubrina* teve influência bastante semelhante na mortalidade de larvas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, sendo a segunda levemente mais susceptível. A CL₅₀ obtida foi de 4.106,7 mg/L, deste modo sendo a concentração letal mais alta de todos os produtos naturais testados neste estudo. Bezerra-Silva et al. (2015) realizou testes de atividade larvicida no estado do Pernambuco, com *A. colubrina* sobre larvas de *Ae. aegypti*, utilizando-se de extratos de hexano, diclorometano e acetato de etila, com CL₅₀ >800 mg/L, >500 mg/L e > 1000 mg/L, respectivamente. Ratificando, portanto, o baixo potencial larvicida desta planta com relação a mosquitos *Aedes* spp.

Barbosa et al. (2014), em um estudo realizado a partir de plantas provenientes da Caatinga, nordeste brasileiro, realizam ensaios larvicidas com a utilização de extrato bruto de *A. colubrina* sobre larvas de *Ae. aegypti*, obtendo uma CL₅₀ de 2.150 mg/L. Embora as

concentrações sejam altas, significando um baixo potencial larvicida, o fato de serem produtos oriundos de plantas e, portanto, menos agressivos ao meio ambiente, ressalta a importância de estudos sobre a aplicabilidade de tais compostos no controle de populações de mosquitos vetores, em alternativa aos compostos sintéticos, historicamente utilizados (HE et al., 2014).

O extrato etanólico de *M. charantia* foi o que apresentou a melhor atividade larvicida dentre os compostos da mesma classe que foram estudados neste trabalho com uma CL_{50} de 560,18 mg/L, valor bastante similar ao encontrado nos ésteres metílicos de *L. usitatissimum* e *H. annuus*. Sobre a susceptibilidade, as larvas de *Ae. albopictus* também se apresentou mais sensível ao tratamento, ao passo que a cepa *Ae. aegypti* manifestou maior resistência. Na literatura, evidencia-se o efeito larvicida causado pelo extrato de tetracloreto de carbono de *M. charantia* contra larvas de *An. stephensi*, obtendo CL_{50} de 176,94 mg/L (BATABYAL et al., 2007). Essa propriedade larvicida também é reportada por Singh et al. (2006) na utilização de extrato hexânico, com CL_{50} de 66,05 mg/L sobre *An. stephensi* e 122,45 mg/L contra larvas de *Ae. aegypti*, ainda nas primeiras 24h de tratamento.

O extrato de éter de petróleo também já tem demonstrado efeito larvicida sobre *Ae. aegypti*, apresentando CL_{50} de 199,14 mg/L (RAHUMAN; VENKATESAN, 2008). Diante dos resultados obtidos, e com base na literatura, é possível, portanto, defender a possibilidade de utilização de extratos vegetais no controle de mosquitos, sendo *M. charantia* um possível candidato a larvicida natural.

Já para o extrato etanólico de *S. striata*, a concentração letal suficiente para eliminar 50% das larvas de *Aedes* spp. foi intermediária entre os dois anteriormente mostrados, CL_{50} de 2.973,50 mg/L. Tendo-se um fator curioso que foi a maior resistência da cepa Rockfeller em relação a de *Ae. aegypti*, fato incomum diante da característica de Rockfeller ser uma cepa oriunda de linhagem de laboratório, não sendo exposta a constituintes químicos sintéticos por várias gerações. Na literatura não foram encontrados relatos de testes de ação larvicida de *S. striata* sobre populações de mosquitos de importância epidemiológica.

Na literatura evidencia-se, entretanto, a atividade de extratos etanólicos sobre *Ae. albopictus*, por exemplo, os oriundos de *C. japonica* (CL_{50} = 93,8 mg/L) (GU et al., 2009), *Inula racemosa* Hook. (CL_{50} = 25,23 mg/L) (HE et al., 2014), *Evodia rutaecarpa* Benth (CL_{50} = 43,21 mg/L) (LIU et al., 2012), *C. konishii* (CL_{50} > 400 mg/L) (CHENG et al., 2013).

Em relação ao controle de *Ae. aegypti* com a utilização de extratos etanólicos têm-se relatos da atividade de *C. japônica* (CL_{50} = 63,2 mg/L) (GU et al., 2009), *E. intestinalis* (CL_{50} = 0,0744 mg/L), *D. dichotoma* (CL_{50} = 0,0683 mg/L) (BEULA; RAVIKUMAR; ALI, 2011),

T. terrestres (CL₅₀ = 376,4 mg/L) (EL-SHEIKH; AL-FIFI; ALABBOUD, 2016), *C. multijuga* (CL₅₀ = 166 mg/L) (TRINDADE et al., 2013) e *Bowdichia virgilioides* Kunth (CL₅₀ > 200 mg/L) (BEZERRA-SILVA et al., 2015).

6. CONCLUSÃO

Diante do estudo, pode-se perceber uma maior susceptibilidade de *Ae. albopictus* em relação ao *Ae. aegypti* aos tratamentos com as diversas classes de compostos: óleos essenciais, ésteres metílicos e extratos etanólicos.

Dentre os produtos naturais testados os óleos essenciais manifestam maior atividade frente às cepas de *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e Rockfeller, sendo que a maior mortalidade foi obtida com *S. aromaticum* (CL₅₀ de 68,35 mg/L) e *C. nepetaefolius* (CL₅₀ de 89,11 mg/L). Em meio a este potencial larvicida este estudo poderá ser útil para o desenvolvimento de novas pesquisas, com a possibilidade de identificação de compostos naturais ainda mais eficazes como larvicidas, bem como para a identificação dos constituintes químicos desses óleos essenciais que são responsáveis pela intoxicação das larvas.

Nas classes de compostos testados, destacam-se dentre os ésteres metílicos o de *B. napus* (CL₅₀ de 231,72 mg/L) e dentre os extratos etanólicos o de *M. charantia* (CL₅₀ de 560,18 mg/L), por apresentaram as melhores (mais baixas) CL₅₀ de cada uma das classes, podendo servir como base para estudos posteriores que possam evidenciar as características desses produtos naturais que interferem no desenvolvimento larval de *Aedes* spp.

Estudos posteriores poderão ser conduzidos para obtenção dos componentes majoritários encontrados nos óleos essenciais, extratos etanólicos e ésteres metílicos testados neste estudo. Bem como, estudos de proteômica poderão ser conduzidos para identificar variações dentro das linhagens resistentes e susceptíveis de cepas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. D. S. et al. Chemical and Biological Aspects of the Essential Oil of Indian Cloves. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146–161, 2012.
- ALI, M. Y. S.; RAVIKUMAR, S.; BEULA, J. M. Mosquito larvicidal activity of seaweed extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 3, n. 3, p. 196–201, 2013.
- BARBOSA, P. B. B. M. et al. Evaluation of seed extracts from plants found in the Caatinga biome for the control of *Aedes aegypti*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 10, p. 3565–3580, 24 out. 2014.
- BATABYAL, L. et al. Larvicidal Efficiency of Certain Seed Extracts Against *Anopheles Stephensi*, with Reference to *Azadirachta indica*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 10, n. 3, p. 251–255, 2007.
- BENEDICT, M. Q. et al. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. **Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 7, n. 1, p. 76–85, 2007.
- BEULA, J. M.; RAVIKUMAR, S.; ALI, M. S. Mosquito larvicidal efficacy of seaweed extracts against dengue vector of *Aedes aegypti*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 2, p. S143–S146, out. 2011.
- BEZERRA-SILVA, P. C. et al. Extract of *Bowdichia virgilioides* and *maackiain* as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. **Experimental Parasitology**, v. 153, p. 160–164, jun. 2015.
- BLACK, W. C. TH et al. Laboratory study of competition between United States strains of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **J Med Entomol**, v. 26, n. 4, p. 260–271, 1989.
- BOSSCHE, P. VAN DEN; COETZER, J. A. W. Climate change and animal health in Africa. **Revue Scientifique et Technique - Office International des Épizooties**, v. 27, n. 2, p. 551–562, 2008.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007a.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 295–302, dez. 2007b.
- BRAKS, M. A. et al. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Brazil and Florida. **J Med Entomol**, v. 40, n. 6, p. 785–794, 2003.
- BRASIL, M. DA S. **Controle seletivo de vetores da malária: guia para o nível municipal**, 1999.
- BRITO, M. DE et al. Primeiro encontro de *Aedes (Stegomyia) Albopictus* (Skuse) no Estado de São Paulo (Brasil). **Revista de Saúde Pública**, v. 20, n. 6, p. 489–489, dez. 1986.

- CAMPOS, J.; ANDRADE, C. F. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 3, p. 232–236, jun. 2001.
- CAVALCA, P. A. M. et al. Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinerea* essential oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 835–843, ago. 2010.
- CAVALCANTI, E. S. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 5, p. 541–544, 2004.
- CAVALCANTI, L. P. DE G. et al. Competência de peixes como predadores de larvas de *Aedes aegypti*, em condições de laboratório. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 4, p. 638–644, ago. 2007.
- CERQUEIRA, M. D. DE et al. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1544–1548, 2009.
- CHAN, K. L.; CHAN, Y. C.; HO, B. C. *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore City. 4. Competition between species. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 44, n. 5, p. 643–649, 1971.
- CHENG, S. S. et al. Larvicidal activities of wood and leaf essential oils and ethanolic extracts from *Cunninghamia konishii* Hayata against the dengue mosquitoes. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 310–315, maio 2013.
- CHENG, S.-S. et al. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 452–456, jan. 2009a.
- CHENG, S.-S. et al. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 457–464, jan. 2009b.
- CHENG, S.-S. et al. Insecticidal activities of leaf and twig essential oils from *Clausena excavata* against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. **Pest Management Science**, v. 65, n. 3, p. 339–343, mar. 2009c.
- CHIARAVALLOTI NETO, F. et al. [Description of the colonization of *Aedes albopictus* (Diptera: culicidae) in the region of São José do Rio Preto, SP, 1991-1994]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 6, p. 543–8, 1996.
- CHRISTOPHERS, R. *Aedes aegypti* The Yellow Fever Mosquito. **Cambridge**, 1960.
- COOKMAN, J. E.; LEBRUN, R. A. *Aedes aegypti* larvae in Portsmouth, Rhode Island. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, n. 1, p. 96–7, mar. 1986.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Insecticidal activities of plants and applications: a review. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 500–506, 2011.
- COSTA, A. V. et al. Óleo essencial de *cymbopogon citratus* (Poaceae) sobre *Frankliniella schultzei* (Thysanoptera: Thripidae) e *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **Bioscience Journal**, v. 29, n. 6, p. 1840–1847, 2013.
- COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira**

de **Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304–309, 2005.

CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; DE ALENCAR, J. W. A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. **Journal of Chemical Education**, v. 53, n. 10, p. 652, out. 1976.

DA SILVA, V. C. et al. Diversidade de criadouros e tipos de imóveis freqüentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. **Revista de Saude Publica**, v. 40, n. 6, p. 1106–1111, 2006.

DE FIGUEIREDO, M. L. G. et al. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. **Virology journal**, v. 7, n. Table 1, p. 152, 2010.

DE LIMA-CAMARA, T. N.; HONORIO, N. A.; LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R. [Frequency and spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) in Rio de Janeiro, Brazil]. **Cad Saude Publica**, v. 22, n. 10, p. 2079–2084, 2006.

DE OMENA, M. C. et al. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 13, p. 2549–2556, 2007.

DEEPA, M. et al. Mosquitocidal activity of *Polygala arvensis* Willd against *Aedes aegypti* (Linn .), *Anopheles stephensi* (Liston .) and *Culex quinquefasciatus* (Say .) (Diptera : Culicidae). v. 1, n. 4, p. 30–34, 2014.

DEGALLIER, N. et al. *Aedes albopictus* may not be vector of dengue virus in human epidemics in Brazil. **Revista de saúde pública**, v. 37, n. 3, p. 386–7, jun. 2003.

DHANASEKARAN, D.; THANGARAJ, R. Microbial secondary metabolites are an alternative approaches against insect vector to prevent zoonotic diseases. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 4, p. 253–261, 2014.

DIENG, H. et al. Indoor-breeding of *Aedes albopictus* in northern peninsular Malaysia and its potential epidemiological implications. **PLoS ONE**, v. 5, n. 7, 2010.

DUARTE, A. R. VARIABILIDADE QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS E DO TEOR DE FENÓIS EM FOLHAS E FRUTOS DA JABUTICABEIRA (*Myrciaria cauliflora*). 2012.

DUAVÍ, W. C. “AGROTÓXICOS URBANOS”: OCORRÊNCIA, PARTIÇÃO AMBIENTAL E ECOTOXICOLOGIA - RIO CEARÁ, FORTALEZA-CE, BRASIL. 2015.

EL-SHEIKH, T. M. Y.; AL-FIFI, Z. I. A.; ALABBOUD, M. A. Larvicidal and repellent effect of some *Tribulus terrestris* L., (*Zygophyllaceae*) extracts against the dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, n. 1, p. 13–19, 2016.

FAY, R. W.; ELIASON, D. A. A Preferred Oviposition Site as a Surveillance Method for *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, p. 531-535, 1966.

FAYEMIWO, K. A. et al. Larvicidal efficacies and chemical composition of essential oils of *Pinus sylvestris* and *Syzygium aromaticum* against mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 1, p. 30–34, jan. 2014.

FERRER, A. [Pesticide poisoning]. **Anales del sistema sanitario de Navarra**, v. 26 Suppl 1, p. 155–71, 2003.

FORATTINI, O. P. Identificação de *Aedes* (*Stegomyia*) *Albopictus* (Skuse) no Brasil.

Revista de Saúde Pública, v. 20, n. 3, p. 244–245, jun. 1986.

FORATTINI, O. P. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, n. 1, p. 157–158, mar. 1995.

FORATTINI, O. P. et al. Significado epidemiológico dos criadouros de *Aedes albopictus* em bromélias. **Revista de Saude Publica**, v. 32, n. 2, p. 186–188, 1998.

FORATTINI, O. P. Culicidologia Médica. **Edusp**, v. 2, p. 451, 2002.

FRANCO, O. História da febre-amarela no Brasil. **História da febre-amarela no Brasil**, 1976.

FUNASA. **Controle de Vetores - Procedimentos de Segurança**, Ministério da Saúde, 1ª edição, p. 204, 2001.

FURTADO, R. F. et al. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843–847, 2005.

GADELHA, D. P.; TODA, A. T. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti* / Biology and behavior of *Aedes aegypti*. **Rev bras malariol doencas trop**, v. 37, p. 29–36, 1985.

GLASSER, C. M.; GOMES, A. DE C. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, p. 166–172, abr. 2002.

GOMES, A. DOS C.; MARQUES, G. R. Encontro de criadouro natural de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse), Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saude Publica**, v. 22, n. 3, p. 245, 1988.

GOMES, A. C. et al. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizoóticas de febre amarela das Regiões Sudeste e Sul do Brasil (Diptera: Culicidae). **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 17, n. 1, p. 71–76, 2008.

GOMES ADE, C. et al. [Microhabitats of *Aedes albopictus* (Skuse) in the region of the Paraíba Valley, Sao Paulo State, Brazil]. **Rev Saude Publica**, v. 26, n. 2, p. 108–118, 1992.

GÓMEZ, A. et al. Comparison of the insecticide susceptibilities of laboratory strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 8, p. 993–6, dez. 2011.

GOVINDARAJAN, M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 7–11, 2013a.

GOVINDARAJAN, M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). **Experimental Parasitology**, v. 134, n. 1, p. 7–11, 2013b.

GRATZ, N. G. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 215–227, 2004.

GRATZ, N. G.; HALSTEAD, S. B. The control of dengue vectors. **Dengue**, v. 5, p. 361,

2009.

GU, H. J. et al. Mosquito larvicidal activities of extractives from black heartwood-type *Cryptomeria japonica*. **Parasitology Research**, v. 105, n. 5, p. 1455–1458, 2009.

GUIMAR, C. W.; MENEZES, E. S. D. E. CLAUBERT WAGNER GUIMARÃES DE MENEZES ANÁLISE QUÍMICA POR CG-EM E TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum selloi* BENTH . E ESTRAGOL PARA *Spodoptera frugiperda* E *Zabrotes subfasciatus*. 2015.

HAWLEY, W. A et al. *Aedes albopictus* in North America: probable introduction in used tires from northern Asia. **Science (New York, N.Y.)**, v. 236, n. 4805, p. 1114–1116, 1987.

HE, Q. et al. Mosquito Larvicidal Constituents from the Ethanol Extract of *Inula racemosa* Hook. f. Roots against *Aedes albopictus*. **Journal of Chemistry**, v. 2014, p. 1–6, 2014.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annu Rev Entomol**, v. 45, p. 371–391, 2000.

HONÓRIO, N. A. et al. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 2, p. 191–198, 2003.

HONÓRIO, N. A.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. Frequência de larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em armadilhas, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 4, p. 385–391, ago. 2001.

JAYARAMAN, M.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Evaluation of some aromatic plant extracts for mosquito larvicidal potential against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi*. **Parasitology Research**, v. 114, n. 4, p. 1511–1518, 2015.

KAMBHAMPATI, S.; BLACK, W. C.; RAI, K. S. Geographic origin of the US and Brazilian *Aedes albopictus* inferred from allozyme analysis. **Heredity**, v. 67 (Pt 1), n. September 1990, p. 85–93, 1991.

KAMIABI, F.; JAAL, Z.; KENG, C. L. Bioefficacy of crude extract of *Cyperus aromaticus* (Family: Cyperaceae) cultured cells, against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 10, p. 767–775, 2013.

KANTOR, I. N. [Dengue, Zika and Chikungunya]. **Medicina**, p. 1–5, 2016.

KARUNAMOORTHY, K.; ILANGO, K. Larvicidal activity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. and *Croton macrostachyus* Del. against *Anopheles arabiensis* Patton, a potent malaria vector. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 14, n. 1, p. 57–62, 2010.

KARUNARATNE, S. H. P. P. et al. Insecticide resistance and, efficacy of space spraying and larviciding in the control of dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Sri Lanka. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 107, n. 1, p. 98–105, set. 2013.

KNUDSEN, A. B. Global distribution and continuing spread of *Aedes albopictus*. **Parassitologia**, v. 37, p. 91-97, 1995.

- KUMAR, S. et al. Evaluation of the larvicidal efficiency of stem, roots and leaves of the weed, *Parthenium hysterophorus* (Family: Asteraceae) against *Aedes aegypti* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 5, p. 395–400, 2012.
- LEE, D. C.; AHN, Y. J. Laboratory and simulated field bioassays to evaluate larvicidal activity of *Pinus densiflora* hydrodistillate, its constituents and structurally related compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* in relation to their inhibition. **Insects**, v. 4, n. 2, p. 217–229, 2013.
- LI, X.; TUERGAN, M.; ABULIZI, G. *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae): Natural alternative for mosquito control. v. 8, n. 11, p. 937–943, 2016.
- LIMA, J. T. F. Risco de urbanização da febre amarela no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 1, n. 3, p. 377–384, set. 1985.
- LIU, Z. L. et al. Mosquito larvicidal activity of alkaloids and limonoids derived from *Evodia rutaecarpa* unripe fruits against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 111, n. 3, p. 991–996, 2012.
- LOUISE, N.; II, C. Mortalidade acumulativa de larvas de *Aedes aegypti* tratadas com compostos Cumulative mortality of *Aedes aegypti* larvae treated with compounds. **Saúde Pública**, v. 48, n. 3, p. 445–450, 2014.
- LUPI, E.; HATZ, C.; SCHLAGENHAUF, P. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. – A literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 11, n. 6, p. 374–411, nov. 2013.
- MACORIS, M. D. L. G. et al. Resistance of *Aedes aegypti* from the State of São Paulo, Brazil, to Organophosphates Insecticides. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 703–708, 2003.
- MARCOMBE, S. et al. Insecticide Resistance Status of United States Populations of *Aedes albopictus* and Mechanisms Involved. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. e101992, 11 jul. 2014.
- MARIO VARGAS, V. An update on published literature (period 1992-2010) and botanical categories on plant essential oils with effects on mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Boletín de Malariología y Salud Ambiental**, v. 52, p. 143-193, 2012.
- MARQUES, G. R. A. M.; DE CASTRO GOMES, A. Comportamento antropofílico de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 2, p. 125–130, 1997.
- MARTINS, V.; ALENCAR, C.; KAMIMURA, M. Occurrence of Natural Vertical Transmission of Dengue-2 and Dengue-3 Viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. **PloS one**, v. 7, n. 8, p. 1-9, 2012.
- MARTINS, V. E. P. et al. First report of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* in the state of Ceará, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 4, p. 737–739, 2006.
- MARTINS, V. E. P. et al. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 73–77, 2010a.
- MARTINS, V. E. P. et al. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes*

albopictus e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 73–77, fev. 2010b.

METHODS, S.; THE, F. O. R. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. **Pure and Applied Chemistry**, v. 51, n. 12, p. 2503–2525, 1 jan. 1979.

MILAM, C. D.; FARRIS, J. L.; WILHIDE, J. D. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 3, p. 324–328, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, p. 2498-2498, 2010.

MONNERAT, R. et al. Avaliação de diferentes larvicidas para o controle de *Aedes aegypti* (Linnaeus)(Diptera: Culicidae) em condições simuladas de campo. **BioAssay**, v.7, n. 154, 2012.

MOORE, C. *Aedes albopictus* in the United States: Ten-Year Presence and Public Health Implications. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 329–334, set. 1997.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian croton species against *Aedes aegypti* L. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 1, p. 161–164, 2006.

MS, M. D. S. **Levantamento rápido para índices de *Aedes argypti* – LIRAA – para vigilância entomológica do *Aedes aegypti***. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis – Brasília : Ministério da Saúde, 84 p., 2013.

NAWAZ, R. et al. Adulticidal Activity of *Olea vera*, *Linum usitatissimum* and *Piper nigrum* against *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti* under Laboratory Conditions. **Iranian journal of arthropod-borne diseases**, v. 5, n. 2, p. 2–9, 2011.

NEGRELLE, R.; GOMES, E. *Cymbopogon citratus* (DC .) Stapf : chemical composition and biological activities. **Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu**, v. 9, n. 1, p. 80–92, 2007.

NEVES, D. P.; SILVA, R. F. DA. Aspectos da biologia do *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae), a nível de campo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 403–404, 1989.

OWENS, P. M. Environmental Chemistry (Baird, Colin). **J. Chem. Educ.**, v. 73, n. 11, p. A276, 1996.

PANCETTI, F. G. M. et al. Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 1, p. 87–89, fev. 2015.

PAUPY, C. et al. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. **Microbes and Infection**, v. 11, n. 14–15, p. 1177–1185, 2009.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 174–187, 2015.

PEREIRA, A. C. R. L. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre

- Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 717–724, jun. 2008.
- PEREIRA, Á. I. S. et al. Atividade antimicrobiana no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti*: Homogeneização dos óleos essenciais do linalol e eugenol. **Educacion Quimica**, v. 25, n. 4, p. 446–449, 2014.
- PEREIRA, B. B.; OLIVEIRA, E. A. DE. Determinação do potencial larvófago de *Poecilia reticulata* em condições domésticas de controle biológico. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 22, n. 3, p. 241–245, 2014.
- PESSOA, M. R. A. et al. *Aedes albopictus* in Brazil: ecological aspects and risks of transmission of dengue fever T4 - *Aedes albopictus* no Brasil: aspectos ecologicos e riscos de transmissao da dengue. **Entomotropica**, v. 28, n. 2, p. 75–86, 2013a.
- PESSOA, V. E. et al. *Aedes albopictus* no brasil: Aspectos ecológicos e riscos de transmissão da dengue. **Entomotropica**, v. 28, n. 2, p. 75–86, 2013b.
- PITASAWAT, B. et al. Aromatic plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. **Fitoterapia**, v. 78, n. 3, p. 205–210, abr. 2007.
- POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. DE O.; ALVES, S. B. [Potential of *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner for controlling *Aedes aegypti*]. **Revista de saúde pública**, v. 37, n. 6, p. 813–6, dez. 2003.
- PONTES, R.; CARNEIRO, E.; LIMA, J. Infestação de diferentes tipos de depósitos pelo *Aedes aegypti* em bairros de Fortaleza. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 416, 2000.
- PREFEITURA MUNICIPAL DE FORTALEZA. **Mapa com as Regionais de Fortaleza-CE**. Disponível em: <<http://www.fortaleza.ce.gov.br/>>. Acesso em: 21 mar. 2015.
- PROPHIRO, J. S. et al. *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 300–305, jun. 2011.
- PUSHPANATHAN, T.; JEBANESAN, A.; GOVINDARAJAN, M. Larvicidal, ovicidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* Stapf (Graminae) essential oil against the filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera : Culicidae). **Tropical biomedicine**, v. 23, n. 2, p. 208–12, dez. 2006.
- QADIR, U. Bioefficacy of *Anamirta cocculus* Linn. (Menispermaceae) seed extracts against dengue vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. S2, p. S556–S562, 2014.
- RAHUMAN, A. A.; VENKATESAN, P. Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. **Parasitology Research**, v. 103, n. 1, p. 133–139, 15 jun. 2008.
- RAMASAMY, R. et al. Larval development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in peri-urban brackish water and its implications for transmission of arboviral diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 11, 2011.

- REITER, P. *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come? **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 14, n. 1, p. 83–94, 1998.
- REVIEW, P. Mosquito larvicidal properties of *Impatiens balsamina* (Balsaminaceae) against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 2, n. 3, p. 222–224, 2014.
- ROCHA, H. D. R. et al. Susceptibility profile of *Aedes aegypti* from Santiago Island, Cabo Verde, to insecticides. **Acta Tropica**, v. 152, p. 66–73, 2015.
- RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. **Dengue and dengue hemorrhagic fever. Edited by: Gubler DJ, Kuno G; Cambridge, MA: CABI Publishing;**, n. Dengue and dengue hemorrhagic fever, p. 1997, 1997.
- ROSA, C. S. et al. Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 19–26, mar. 2016.
- ROSEN, L. et al. Comparative susceptibility of mosquito species and strains to oral and parenteral infection with dengue and Japanese encephalitis viruses. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 34, n. 3, p. 603–15, maio 1985.
- RUIZ-GUERRERO, R.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M. A.; NORZAGARAY-CAMPOS, M. Toxicity of Mexican native plant extracts against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 4, p. 287–291, 2015.
- SANTANA, H. T. et al. Essential oils of leaves of piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *aedes aegypti* (diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 105–111, 2015.
- SANTOS, A. **Nanocompósitos contendo óleo essencial de *Syzygium aromaticum*: obstenção, caracterização e atividade larvicida contra o *Aedes aegypti***. 2012, 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- SANTOS, S. R. L. et al. Structure-activity relationships of larvicidal monoterpenes and derivatives against *Aedes aegypti* Linn. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 150–153, 2011.
- SANTOS, M. A. T. DOS; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides - uma visão geral. **Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 18, n. 3, p. 339–349, 2007.
- SANTOS, R. I. DOS. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, p. 403–434, 2004.
- SANTOS, V. M. R. DOS et al. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159–170, fev. 2007.
- SARDELIS, M. R. et al. Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 6, p. 1018–1022, 2001.
- SAÚDE., M. D. S. F. N. DE. Dengue, Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor - Manual

de Normas Técnicas. p. 75, 2001.

SCHOLTE, E.; SCHAFFNER, F. Waiting for the tiger: Establishment and spread of the Asian tiger mosquito in Europe. In: **Emerging Pests and Vector-Borne Diseases in Europe**, v. 14p. 241–261, 2007.

SEGURA, M.; CASTRO, F. Atlas de culicídeos na Amazônia brasileira: características específicas de insetos hematófagos da família Culicidae. **Instituto Evandro Chagas**, 2007.

SILVA, A. M. et al. Modelagem geoestatística dos casos de dengue e da variação termopluviométrica em João Pessoa, Brasil. **Sociedade & Natureza**, v. 27, n. 1, p. 157–169, abr. 2015.

SIMARD, F. et al. Geographic distribution and breeding site preference of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae) in Cameroon, Central Africa. **Journal of medical entomology**, v. 42, n. 5, p. 726–31, set. 2005.

SINGH, R. K.; DHIMAN, R. C.; MITTAL, P. K. Mosquito larvicidal properties of *Momordica charantia* Linn (Family: Cucurbitaceae). **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 43, n. 2, p. 88–91, 2006.

SMITH, L. B.; KASAI, S.; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 1–12, abr. 2016.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Efficacy of Thai herbal essential oils as green repellent against mosquito vectors. **Acta Tropica**, v. 142, p. 127–130, fev. 2015.

SOONWERA, M.; PHASOMKUSOLSIL, S. Effect of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and *Syzygium aromaticum* (clove) oils on the morphology and mortality of *Aedes aegypti* and *Anopheles dirus* larvae. **Parasitology Research**, v. 115, n. 4, p. 1691–1703, 2016.

SOPER, F. L. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 14, n. 6, p. 887–891, 1965.

SOUZA, S. S. DE; SILVA, I. G. DA; SILVA, H. H. G. DA. Associação entre incidência de dengue, pluviosidade e densidade larvária de *Aedes aegypti*, no Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 152–155, abr. 2010.

STEFANELLO, M. É. A. et al. Composição e variação sazonal do óleo essencial de *Myrcia obtecta* (O. Berg) Kiaersk. var. *obtectata*, Myrtaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 1, p. 82–86, 2010.

STUDART, G. Climatologia, epidemias e endemias do Ceará. **Fundação Waldemar Alcântara**, 1997.

SUBRAMANIAM, J. et al. Mosquito larvicidal activity of *Aloe vera* (Family: Liliaceae) leaf extract and *Bacillus sphaericus*, against *Chikungunya* vector, *Aedes aegypti*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 4, p. 503–509, 2012.

SULLIVAN, M. F.; GOULD, D. J.; MANEECHAI, S. Observations on the host range and feeding preferences of *Aedes albopictus* (Skuse). **J Med Entomol**, v. 8, n. 6, p. 713–716, 1971.

- SUMITHA, K. V.; THOPPIL, J. E. Larvicidal efficacy and chemical constituents of *O. gratissimum* L. (Lamiaceae) essential oil against *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 115, n. 2, p. 673–680, 2016.
- TAIPE-LAGOS, C. B.; NATAL, D. Culicidae mosquito abundance in a preserved metropolitan area and its epidemiological implications. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 3, p. 275–279, 1 jun. 2003.
- TRINDADE, F. T. T. et al. Copaifera multijuga ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 3, p. 464–470, 2013.
- TRPIS, M.; HAUSERMANN, W. Dispersal and other population parameters of *Aedes aegypti* in an African village and their possible significance in epidemiology of vector-borne diseases. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 35, n. 6, p. 1263–1279, 1986.
- VALERIO, L. et al. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in urban and rural contexts within Rome province, Italy. **Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 10, n. 3, p. 291–4, 2010.
- VALLE, D.; BRAGA, I. A. *Aedes aegypti* : histórico do controle no Brasil *. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007.
- VIJAYAKUMAR, S. et al. International Journal of Microbiology & Parasitology Bioactive Potential of Seagrass Extracts Against Dengue Fever Mosquito. **Year**, n. 1, 2014.
- WA, H.; GB, C. *Aedes Albopictus* in the Americas: Future Prospects. **Distribution**, n. 1976, p. 202–205, 1981.
- WALISZEWSKI, S. M. et al. Comparison of Organochlorine Pesticide Levels Between Abdominal and Breast Adipose Tissue. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 71, n. 1, p. 156–162, 1 jul. 2003.
- WARIKOO, R. et al. Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 152–155, 2012.
- WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, 2010.
- WERMELINGER, E. D.; FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. The use of modified mosquitoes in Brazil for the control of *Aedes aegypti*: methodological and ethical constraints. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 11, p. 2259–2261, nov. 2014.
- WHO. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquitoes larvae to insecticide.** Who/Vbc/81.807, 1981. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/handle/10665/69615>>. Acesso em: 1 jul. 2016
- WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. **Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases**, p. 147, 2009.
- WHO, W. H. O. **Dengue [Monography on the Internet]**.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) REGIONAL OFFICE FOR SOUTH-EAST ASIA. **Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever**, v.1, p. 1-212, 2011.

YADAV, R. et al. Screening of some weeds for larvicidal activity against *Aedes albopictus*, A vector of dengue and chikungunya. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 52, n. 1, p. 88–94, 2015.

ZANQUETTA, M. M. **Exposição a praguicidas organofosforados e obesidade**. n. 1984–3577, p. 82–95, 2011.

ZARA, L. DE S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 2, p. 1–2, jun. 2016.

ZHU, J. et al. Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 3, p. 515–522, 2006.