

### **AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE FORMULAÇÕES REPELENTES SOBRE FÊMEAS DO *Aedes aegypti*.**

Daniel Lobo Sousa<sup>1</sup>, Penélope Barros Silva<sup>1</sup>, Erlon Oliveira Xavier<sup>1</sup>, Ana Shara Moura da Rocha<sup>1</sup>, Rafaela Brito Ribeiro Santos<sup>1</sup>, Thaimara Gomes Costa<sup>2</sup>, Sandra Lúcia da Cunha e Silva<sup>3</sup>, Débora Cardoso da Silva<sup>3</sup> Simone Andrade Gualberto<sup>3</sup>

1. Discente, Ciências Biológicas Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB/Itapetinga

2. Mestranda em Ciências Ambientais.UESB/Itapetinga

3. Docente do Departamento de Ciências Exatas e Naturais.UESB(LAPRON/LAPIN)-Praça Primavera s/n Bairro Primavera, 40. 45700-000,Itapetinga-BA.

#### **Resumo**

O DEET (N,N-dietil-meta-toluamida) é um dos repelentes mais utilizados contra a picada de insetos vetores, mas apresenta riscos para a saúde humana e ambiental. A busca por repelentes que apresentem menor risco é pertinente. Algumas plantas têm propriedades inseticidas, como as do gênero *Croton* (Euphorbiaceae). Avaliou-se o índice de atividade espacial das fêmeas de *Aedes aegypti* quando expostas a diferentes formulações repelentes de origem vegetal em comparação ao DEET. As fêmeas foram expostas às diferentes formulações de creme base, com ou sem fixador, acrescidos de extrato de *Croton* em diferentes proporções. Utilizaram-se 20 fêmeas por repetição/10 repetições por tratamento. Verificou-se que não houve diferença significativa do índice de atividade espacial das fêmeas nos diferentes tratamentos, inclusive do DEET. As formulações apresentaram efeito repelentes sobre as fêmeas do *A. aegypti*.

Palavra chave: Arboviroses; *Croton*; Parasitologia.

Apoio financeiro: CNPq;CAPES;FAPESB e UESB.

#### **Introdução**

Os vírus da dengue, febre amarela, chikungunya e zika podem ser transmitidos ao homem através da picada de fêmeas do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). A hematofagia das fêmeas é obrigatória, pois o sangue é essencial para maturação dos ovos. Assim, os mosquitos usam uma série de receptores químicos, visuais, térmicos e olfativos para localizar os seus hospedeiros, incluindo o homem (Van Breugelet al, 2015).

Diante disso, o ser humano tem buscado proteção contra picadas de insetos, e entre as formas, tem-se utilizado produtos de uso tópico com princípios ativos repelentes sintéticos, sendo o N,N-dietil-3-metilbenzamida - DEET o mais utilizado (Xu et al, 2014). No entanto, apesar da eficácia do DEET em repelir, estudos tem demonstrado resultados negativos sobre a saúde humana, ao meio ambiente (Legeay et al, 2016), e ainda na ineficiência da repelência de alguns insetos, entre eles o *A. aegypti* (Stanczyk et al, 2013).

Entre as alternativas aos repelentes sintéticos tem se buscado produtos de origem vegetal, uma vez que, na natureza os produtos sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas, atuam na defesa vegetal, como na repelência de ataques por insetos herbívoros, podendo, dessa forma, serem úteis na produção de repelentes (Moraes, 2009; Vizzoto, 2010), além de possuírem moléculas biodegradáveis e de baixo impacto ambiental (Krinskiet al., 2014). O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) vem ganhando destaque por possuir diversos compostos secundários, principalmente encontrados nos óleos essenciais (ANJOS et al, 2018).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o índice de atividade espacial (repelência) das fêmeas de *Aedes aegypti* quando expostas a diferentes formulações repelentes de origem vegetal em comparação ao DEET.

#### **Metodologia**

A extração do óleo essencial da parte aérea do *Croton* foi realizada por hidrodestilação, utilizando um extrator de Clevenger modificado, a partir de 100g da parte aérea da planta e 1,5L de água deionizada.

No primeiro teste utilizou-se as formulações: a) creme base não iônico + fixador (BF); b) creme base não iônico + fixador + o óleo essencial na proporção 2,5% (B.F.C. 2,5%); c) creme base não iônico + fixador + o óleo essencial na proporção 5% (B.F.C. 5%); d) o N,N-dietil-meta-toluamida a 10%, solubilizado em água deionizada (DEET10%).

No segundo teste utilizou-se as formulações: e) o creme base não iônico, sem acréscimo do fixador (B); f) o creme base não iônico + fixador (B.F); g) o creme base não iônico + óleo essencial na proporção 2,5% (B.C2,5%); h) e o creme base não iônico + DEET a 10% (B.DEET 10%).

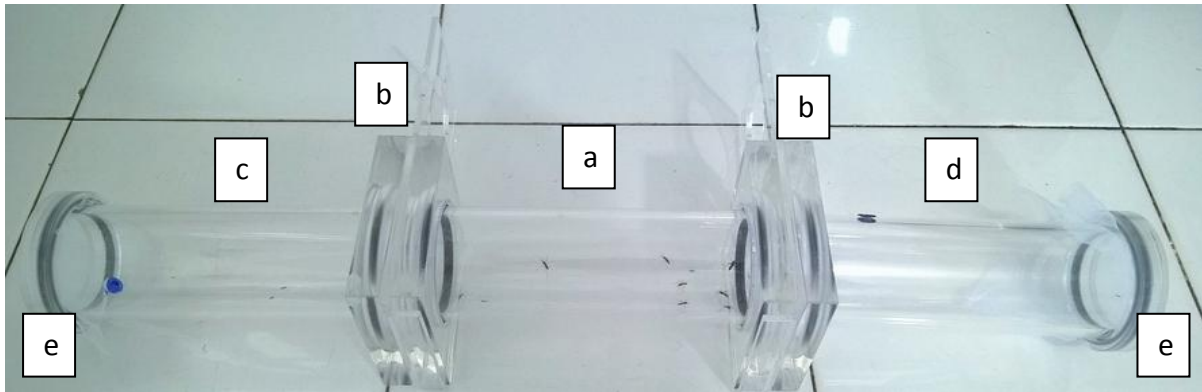
As formulações utilizadas nos bioensaios foram obtidas pelo processo de homogeneização em banho-maria, em uma placa aquecedora regulada a 6 C°. Após a homogeneização as formulações foram mantidas sob uma temperatura de (-4C°), sendo colocadas em temperatura ambiente uma hora antes do início do experimento.

As fêmeas foram oriundas de uma colônia estoque, a partir ovos da linhagem *Rockfeller*, cedidos pelo

Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores (LAFICAVE), da Fundação Oswaldo Cruz.

Nos dois bioensaios, os testes de repelência foram conduzidos em recipientes de acrílico (Figura 1) (37,3 cm) sendo constituído de três compartimentos, dois laterais (c,d) e um central (a), os compartimentos eram separados por “portas” de acrílico (b), nas extremidades dos tubos foi colocada uma tela tipo tule (e). No tubo central foram colocadas as fêmeas do *A. aegypti*, 24h antes do início do experimento, as quais não tiveram contato com os tubos laterais, até a realização do bioensaio. O experimento foi conduzido da seguinte forma: em um dos tubos laterais foi colocada uma das formulações e no outro tubo lateral não continha nenhuma formulação.

**Figura 1.** Cilindro de acrílico utilizado nos testes de repelência.



Utilizou-se 20 fêmeas (com até cinco dias de emergência) por repetição, sendo 10 repetições por tratamento, num total de 4 tratamentos. A avaliação da atividade repelente foi estabelecida pelo índice de atividade espacial (I.A.E.) onde se considerou a proporção de mosquitos que se movimentaram para os cilindros das extremidades. O I.A.E. foi calculado conforme a metodologia adaptada pela WHO (2013).

Para calcular o I.A.E. utilizou-se:  $SAI = ((Nc-Nt)/(Nc+Nt)) \times (Nm/N)$ , onde SAI = índice de atividade espacial, Nc = mosquitos atraídos para o tubo sem a formulação, Nt = mosquitos atraídos para o tubo com a formulação, Nm = total de mosquitos nos dois tubos das extremidades e N = total de mosquitos utilizados. O I.A.E. varia de -1 a 1, zero indica ausência de resposta, -1 indica a não repelência e 1 resposta espacial repelente.

O índice de repelência (%) foi submetido ao teste de Tukey em 5% de probabilidade e avaliação do intervalo de confiança.

## Resultados e Discussão

No primeiro bioensaio, de acordo com a avaliação dos índices de atividade espacial (I.A.E) todas as formulações apresentaram atividade repelência, não havendo diferença significativa entre os índices da atividade espacial e nem em relação à porcentagem de repelência (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Médias do índice de atividade espacial e percentual de repelência das fêmeas de *Aedes aegypti*, submetidas a diferentes formulações de um creme.

| Formulações | Í. A. E <sup>2</sup> | I. R (%) <sup>3</sup> | I.C <sup>4</sup> |
|-------------|----------------------|-----------------------|------------------|
| B.F.        | +0,38 <sup>a</sup>   | 75,02 <sup>a</sup>    | 59,66 - 90,39    |
| B.F.C.2,5%  | +0,37 <sup>a</sup>   | 73,44 <sup>a</sup>    | 52,55 - 94,34    |
| B.F.C.5%    | +0,46 <sup>a</sup>   | 80,09 <sup>a</sup>    | 70,97 - 89,21    |
| DEET 10%    | +0,26 <sup>a</sup>   | 67,04 <sup>a</sup>    | 57,42 - 73,63    |

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra (a), nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Índice de atividade Espacial (I.A.E)<sup>2</sup>. Índice de repelência % (I.R)<sup>3</sup>. Intervalo de Confiança (I.C)<sup>4</sup>.

No que diz respeito ao segundo bioensaio, os índices de atividade espacial (I.A.E) demonstraram atividade de repelência em todas as formulações, não havendo diferença significativa quando comparadas as diferentes formulações. Com relação à porcentagem de repelência, também não houve diferença significativa entre as diferentes formulações e nem em relação ao controle (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Médias do índice de atividade espacial e percentual de repelência das fêmeas de *Aedes aegypti*, submetidas a diferentes formulações de um creme.

| Formulações | Í. A. E <sup>2</sup> | I. R (%) <sup>3</sup> | I.C <sup>4</sup> |
|-------------|----------------------|-----------------------|------------------|
| B.F.        | +0,40 <sup>a</sup>   | 77,64 <sup>a</sup>    | 71,38 - 83,92    |

|            |                    |                    |               |
|------------|--------------------|--------------------|---------------|
| B.         | +0,27 <sup>a</sup> | 68,22 <sup>a</sup> | 57,72 - 78,73 |
| B.C.2,5%   | +0,34 <sup>a</sup> | 72,30 <sup>a</sup> | 64,08 - 80,53 |
| B.DEET 10% | +0,31 <sup>a</sup> | 65,51 <sup>a</sup> | 54,00 - 77,05 |

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra (a), nas colunas, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Índice de atividade Espacial (I.A.E)<sup>2</sup>. Índice de repelência % (I.R)<sup>3</sup>. Intervalo de Confiança (I.C)<sup>4</sup>.

O estudo realizado por Leagey et al (2016), onde buscaram estabelecer as propriedades angiogênicas de duas concentrações do DEET, sendo uma concentração plasmática comum em humanos expostos e uma concentração encontrada em águas superficiais e águas residuais, demonstraram que o DEET estimula as células endoteliais, promovendo a angiogênese, e, conseqüentemente, o crescimento de tumor.

Além disso, pesquisas têm demonstrado o aparecimento de populações de *A.aegypti* com resistência a ação repelente do DEET. Assim, o estudo realizado por Stanczyk et al (2013), ao investigarem o efeito do DEET sobre as fêmeas de *A. aegypti*, constataram que, três horas após a pré-exposição, as fêmeas mostraram insensibilidade ao repelente.

No presente trabalho, no primeiro experimento observou-se que não houve diferença na repelência sobre fêmeas do *A. aegypti* em relação a fórmula B.F e a fórmula B.F.C, demonstrando que, não houve incremento da repelência quando o creme era acrescido do óleo essencial do *Croton*, no entanto houve repelência semelhante em todas as formulações, inclusive ao DEET.

No segundo experimento foi comparado os elementos da formulação separadamente e foi observado que houve atividade de repelência, comparado as demais formulações e o controle positivo. Estes resultados preliminares demonstram que outros estudos devem ser realizados, visto ser comprovado, por outros autores, que substâncias vegetais podem ser utilizadas como repelente e/ou inseticidas. A busca de novos repelentes para a melhor qualidade ambiental, proporcionando saúde são necessárias e urgentes.

## Conclusões

Segundo a metodologia utilizada, todas as formulações apresentaram efeito repelente para as fêmeas do *Aedes aegypti*, no entanto este estudo demanda continuidade.

## Referências bibliográficas

- 1.Anjos, Q.Q.A; Silva, S.L.C; Silva, D.C.GualbetoS.A.;Santos, F.R.; Carvalho, M.G.; Souza, D.L. Composição química do óleo essencial da parte aérea de *Croton tetradenius*(Euphorbiaceae) e a Sua bioatividade sobre o *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae), em relação a diferentes períodos de coleta. **Periódico Tchê Química**, v. 15 n. 30, 2018.
- 2.Casanova, L. M., & Costa, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais:potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, 2017.
- 3.Krinski, D., Massaroli, A.,& Machado, M. Potencial inseticida de plantas da família *Annonaceae*. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, p. 225-242, 2014.
- 4.Legeay, S., Clere, N., Hilairret, G., Do, Q. T., Bernard, P., Quignard, J. F., ... & Faure, S.The insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide (DEET) induces angiogenesis via allosteric modulation of the M3 muscarinic receptor in endothelial cells. **Scientific reports**, v. 6, p. 28546.2016.
- 5.Legeay, S., Clere, N., Hilairret, G., Do, Q. T., Bernard, P., Quignard, J. F., ... & Faure, S. The insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide (DEET) induces angiogenesis via allosteric modulation of the M3 muscarinic receptor in endothelial cells. **Scientificreports**, v. 6, p. 28546. 2016.
- 6.Morais, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. v. 27, n. 2. 2009.
- 7.Paumgarten, F. J. R., & Delgado, I. F. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. **Revista Visa em debate sociedade, ciência tecnologia**, v.4, n.2, p.97-104.2016.
- 8.Stanczyk, N. M., Brookfield, J. F., Field, L. M., & Logan, J. G. **Acceleratingthepublicationofpeer-reviewedscience**, v. 8, n. 2, p. 54438.2013.
- 9.Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução Eliane Romanato Santarém et al. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, p.719. 2004.
- 10.VanBreugel, F., Riffell, J., Fairhall, A., & Dickinson, M. H. Mosquitoes use vision to associate odor plumes with thermal targets. **CurrentBiology**, v. 25, n. 16, p. 2123-2129. 2015.
- 11.Vizzotto, M., Krolow, A., & Weber, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado-Documentos (INFOTECA-E)**. 2010.

12. World Health Organization (WHO). **Guidelines for efficacy testing of spatial repellents**. 2013.

13. Xu, P., Choo, Y. M., De La Rosa, A., & Leal, W. S. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 46, p. 16592-16597. 2014.