



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM QUÍMICA**  
Laboratório de Síntese e Isolamento de Feromônios

---



**ANDRESSA PATRÍCIA DOS SANTOS**

**ESTUDO DO POTENCIAL ESTIMULANTE DE OVIPOSIÇÃO DO MOSQUITO *Aedes Aegypti* UTILIZANDO ALDEÍDOS ISOLADOS E IDENTIFICADOS EM INFUSÃO DE *ALOE VERA***

**MACEIÓ - AL**

**2018**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
QUÍMICA LICENCIATURA



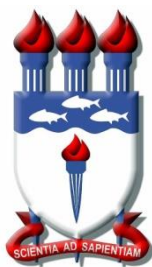
ANDRESSA PATRÍCIA DOS SANTOS

ESTUDO DO POTENCIAL ESTIMULANTE DE OVIPOSIÇÃO DO MOSQUITO *Aedes Aegypti* UTILIZANDO ALDEÍDOS ISOLADOS E IDENTIFICADOS EM INFUSÃO DE *ALOE VERA*

Monografia apresentada ao Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, sob orientação da **Professora Dra. Maria Cristina Caño de Andrade**, como requisito parcial para obtenção do grau de **Licenciatura em Química**.

MACEIÓ - AL

2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM QUÍMICA**  
Laboratório de Síntese e Isolamento de Feromônios



Membros da banca avaliadora do trabalho de conclusão de curso de Andressa Patrícia dos Santos, apresentado ao Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 26 de novembro de 2018:

**Comissão avaliadora:**

**Assinatura:**

---

Prof. Dra. Maria Cristina Caño de Andrade.

**Assinatura:**

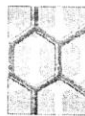
---

Prof. Dra. Cenira Monteiro de Carvalho.

**Assinatura:**

---

Prof. Dr. Dimas José Paz Lima.



### ATA DE APRESENTAÇÃO E DEFESA DE TCC - IQB

1. Data da apresentação do TCC: 26/11/2018

2. Aluno / matrícula: Andressa Patrícia dos Santos

3. Orientador(es) / Unidade Acadêmica:  
maria cristina laño de Anchoche - IQB

4. Banca Examinadora (nome / Unidade Acadêmica):

maria cristina laño de Anchoche (presidente)	Nota: 9,0
Cenira Monteiro de Carvalho (1º avaliador)	Nota: 9,0
Dimas José Paz Lima (2º avaliador)	Nota: 9,0
(3º avaliador)	Nota: 9,0

5. Título do Trabalho: Estudo do potencial estimulante de sinapses dos mosquitos *Aedes aegypti* utilizando aldeídos isolados e identificados em infusões de *Albizia* vera.

6. Local: Sala da Pós-graduação

7. Apresentação: Horário início: 9:06 hrs Horário final: 9:45 hrs  
Arguição: Horário início: 9:47 hrs Horário final: 11:00 hrs

8. Nota final: 9,0 (nove inteiros)

Em sessão pública, após exposição do seu trabalho de TCC por cerca de 39 minutos, o candidato foi arguido oralmente pelos membros da banca por 1:13 minutos, tendo como resultado:

APROVADO

( ) APROVADO COM RESTRIÇÕES - mediante modificações no trabalho que foram sugeridas pela banca como condicional para aprovação.

( ) NÃO APROVADO.

Na forma regulamentar foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da banca, na ordem acima determinada, e pelo candidato:

Maceió, 26 de novembro de 2018

Presidente: [Assinatura]  
1º Avaliador: Cenira Monteiro de Carvalho  
2º Avaliador: Dimas José da Paz Lima  
3º Avaliador: \_\_\_\_\_  
Candidato: Andressa Patrícia dos Santos

À Deus.

À minha mãe.

À minha orientadora.

Aos meus amigos e integrantes do grupo de pesquisa.

Dedico

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia.

À professora Maria Cristina Caño de Andrade pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta monografia, pelo convívio, pelo apoio, pela compreensão e pela amizade e a todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia, em especial aos da banca examinadora, Cenira Monteiro de Carvalho e Dimas José Paz Lima, pela ajuda e compreensão.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Em especial a minha mãe, pois seu cuidado e dedicação foi que deram, em alguns momentos, a esperança para seguir, sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinho nessa caminhada.

Aos amigos, Andressa Soares, Aglaupe Meira, Marcio Conceição, Gregório Manoel, Aniéli Firmino, Ítalo Almeida, Flávia Soares e Giselli Santana, pelo incentivo e pelo apoio constantes, sem vocês não valeria a pena, foram essenciais em cada passo meu, me aguentando, aconselhando e me proporcionando os melhores momentos durante toda a trajetória e ao demais colegas de curso.

Ao instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, e às pessoas com quem convivi nesses espaços ao longo desses anos. A experiência de uma produção compartilhada na comunhão com amigos nesses espaços foram a melhor experiência da minha formação acadêmica, enfim a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende."

(Leonardo da Vinci)

## RESUMO

O mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal agente transmissor da febre amarela urbana e da dengue, doença que ameaça cerca de 2,5 bilhões de pessoas em todo o mundo. Essa espécie atualmente também transmite o vírus da chikungunya e da zika, doenças que nos últimos anos têm mostrado aumento de casos, principalmente devido a urbanização desorganizada, a falta de saneamento e ao grande crescimento populacional em diversas áreas do Brasil. Devido a pouca eficiência dos métodos utilizados atualmente para controle e combate da população do *Ae. aegypti* e o uso descomedido de inseticidas e larvicidas, tem levado ao surgimento de populações resistentes, as quais já foram confirmadas em diversos estados brasileiros, o que nos mostra a urgente necessidade em desenvolver estratégias e métodos eficazes de controle alternativo. Nos últimos anos tem sido estudada e comprovada a eficácia do uso de armadilhas de oviposição contendo água, em conjunto com semioquímicos com potencial atraente, direcionadas para o controle e monitoramento destas populações. O grupo de Síntese e Isolamento de Feromônios (LaSIF – IQB - UFAL) com o objetivo de encontrar ações técnicas científicas que possam a vir contribuir para o controle e vigilância do principal vetor dessas doenças virais, o mosquito *Ae. aegypti* tem realizado nos últimos anos estudos voltados a esta espécie. Dessa forma, estudar o potencial estimulante de oviposição das matrizes aquosas, já que temos o conhecimento de que as fêmeas do *Ae. aegypti*, procuram e escolhem sítios aquosos específicos para depositarem seus ovos e assim, manterem a preservação natural da espécie. Após bioensaios de oviposição positivos realizados com a infusão de *Aloe vera*, realizamos a extração por sorção em barras de agitação (ESBA) e os compostos foram identificados através da Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Os compostos identificados foram então analisados por bioensaios individuais nas diferentes concentrações de 0,1 à 0,0001ppm, para avaliação e se possível confirmação de sua atividade atrativa e estimulante. Os resultados obtidos foram tratados através da análise estatística utilizando o programa Graphpad Prism 5, através do Teste T de Student.



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 01:</b> Mapa do índice de infestação pelo <i>Ae. aegypti</i> no Brasil em 2017.....	16
<b>Figura02:</b> Mapa da infestação global dos vírus .....	16
<b>Figura 03:</b> Fêmea do mosquito <i>Ae. aegypti</i> .....	19
<b>Figura 04:</b> Fêmea do mosquito <i>Ae. albopictus</i> .....	20
<b>Figura 05:</b> Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i> .....	21
<b>Figura 06:</b> Estrutura Química do DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis (4-clorofenil) etano].....	23
<b>Figura 07:</b> Estrutura química do malation.....	24
<b>Figura 08:</b> Estrutura química do carbaril.....	24
<b>Figura 09:</b> Estrutura química da cipermetrina.....	25
<b>Figura 10:</b> Gaiola de madeira e nylon utilizada para abrigar os mosquitos adultos para os bioensaios.....	29
<b>Figura 11:</b> Copo com suporte de oviposição.....	29
<b>Figura 12:</b> Infusão de <i>Aloe vera</i> .....	30

## INDICE DE GRÁFICO

<b>Gráfico 01:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> para a infusão de <i>Aloe vera</i> (Babosa) <i>versus</i> H <sub>2</sub> O destilada.....	34
<b>Gráfico 02:</b> Constituintes orgânica identificados pela Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) .....	35
<b>Gráfico 03:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> frente ao Heptanal <i>versus</i> hexano (controle) nas concentrações 0,1 e 0,01 ppm.....	36
<b>Gráfico 04:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> frente ao octanal <i>versus</i> hexano (controle) em diferentes concentrações.....	37
<b>Gráfico 05:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> para o nonanal <i>versus</i> hexano (controle) em diferentes concentrações.....	38
<b>Gráficos 06:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> para o decanal <i>versus</i> hexano (controle) em diferentes concentrações.....	39
<b>Gráfico 07:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> para o ( <i>E</i> )-2-decanal <i>versus</i> hexano (controle) em diferentes concentrações.....	40
<b>Gráfico 08:</b> Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito <i>Ae. aegypti</i> para o Undecanal <i>versus</i> hexano (controle) em diferentes concentrações.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ae.....	Aedes
CHIKV.....	Vírus da chikungunya
Den-1 .....	Vírus do Sorotipo 1
Den-2 .....	Vírus do Sorotipo 2
Den-3 .....	Vírus do Sorotipo 3
Den-4 .....	Vírus do Sorotipo 4
DENV.....	Vírus da dengue
CG-EM.....	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
ELL.....	Extração líquido-líquido
LaSIF.....	Laboratório de Isolamento e Síntese de Feromonios
ESBA.....	Extração por sorção com barras de agitação revestida com polietileno
YFV.....	Vírus da febre amarela urbana
ZIKV.....	Vírus da zika

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
2.1	GERAIS.....	14
2.2	ESPECIFICOS.....	14
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
3.1	PRINCIPAIS ARBOVIROSES TRANSMITIDAS.....	15
3.1.1	DENGUE.....	15
3.1.2	ZIKA.....	17
3.1.3	CHIKUNGUNYA.....	17
3.2	VETORES DE TRANSMISSÃO.....	18
3.2.1	CICLO BIOLÓGICO.....	20
3.3	CONTROLES DE VETORES.....	21
3.3.1	CONTROLE BIOLÓGICO.....	22
3.3.2	CONTROLE QUÍMICO.....	22
3.3.2.1	ORGANOCLORADOS.....	22
3.3.2.2	ORGANOFOSFORADOS.....	23
3.3.2.3	CARBAMATOS.....	24
3.3.2.4	PIRETRÓIDE.....	25
3.3.3	CONTROLE FÍSICO.....	25
3.4	RESISTÊNCIA A INSETICIDAS.....	26
3.5	ARMADILHAS DE OVIPOSIÇÃO.....	27
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>28</b>
4.1	MATERIAS E MÉTODOS.....	28
4.1.1	GAIOLAS.....	28
4.1.2	SUPORTE DE OVIPOSIÇÃO.....	29
4.1.3	PREPARAÇÃO DA INFUSÃO DE <i>ALOE VERA</i> (BABOSA) .....	30
4.2	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	31
4.2.1	EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (ELL) .....	31

4.2.2 EXTRAÇÃO POR SOÇÃO COM BARRAS DE AGITAÇÃO REVESTIDA COM POLIETILENO (ESBA) .....	31
4.2.3 IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS.....	32
4.3 BIOENSAIOS.....	32
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
5.1 BIOENSAIOS COM <i>ALOE VERA</i> .....	34
5.2 BIOENSAIOS COM HEPTANAL.....	36
5.3 BIOENSAIOS COM OCTANAL.....	37
5.4 BIOENSAIOS COM NONANAL.....	38.
5.5 BIOENSAIOS COM DECANAL.....	39
5.6 BIOENSAIOS COM ( <i>E</i> )-2-DECENAL.....	40
5.7 BIOENSAIOS COM UNDECANAL.....	41
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por vetores mantêm-se, no século XXI, como desafio em todo o mundo, quando é considerada a elevada carga individual e social associada, bem como a complexidade das ações necessárias para o seu controle (PENNA, 2003).

As arboviroses são doenças causadas pelos chamados arbovírus, que incluem os vírus da dengue, zika, chikungunya e febre amarela urbana. Estas doenças ocupam destaque nos países tropicais e subtropicais e, no Brasil, desde 1942 não havia relato da ocorrência e transmissão da febre amarela em cidades. (AVELINO-SILVA; RAMOS, 2017)

O número de casos de dengue no mundo tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas. A Organização Mundial da Saúde estima que quatro bilhões de pessoas estejam vivendo em áreas com risco de infecção pela doença. Anualmente, 3,2 milhões de casos são registrados no mundo, sendo que 500 mil são considerados graves, e 21 mil resultam em morte, a dengue afeta mais de 120 países e é considerada uma doença negligenciada. (MSF, 2016)

O vírus da dengue pode ser transmitido por duas espécies de vetores, no entanto, o mosquito *Ae. aegypti* é o único transmissor desse vírus com importância epidemiológica (BARRETO; TEIXEIRA, 2008; SILVA; MARIANO; SCOPEL, 2008).

A oviposição é uma das etapas mais importantes do ciclo biológico dos mosquitos, a captura de ovos contribui para o controle populacional da espécie (SEENIVASAGAN et al., 2010). A utilização de atraentes (caiomônios) ou de feromônios estimulantes do comportamento de oviposição, em armadilhas de oviposição, utilizadas para a captura de mosquitos são bastante úteis em programas de vigilância de vírus ou de parasitas. Estas armadilhas atraem em grande parte, fêmeas de mosquitos grávidas que já realizaram o repasto sanguíneo, e que já foram infectadas pelo agente patogênico da espécie hospedeira (MILLAR et al., 1994).

Tradicionalmente, o combate aos mosquitos hematófagos tem sido realizado através da utilização intensiva de inseticidas para a eliminação do mosquito adulto e de suas formas imaturas. No Brasil, para a eliminação do adulto do *Ae. aegypti*, atualmente é utilizado no fumacê o inseticida malathion, por ser um inseticida, pode causar danos à saúde se a exposição ao produto for longa ou corriqueira, além de ter ação temporária e pontual, por isso não é considerado o método ideal para acabar com o *Ae. aegypti* e outros mosquitos que carregam vírus perigosos. (UOL, 2018)

A utilização de armadilhas de oviposição além de requerer menor tempo de inspeção do que os métodos convencionais (p. ex., detecção de larvas) por parte dos agentes de saúde, também permite a diminuição do uso de inseticidas e até mesmo torná-los desnecessários (RESENDE *et. al.*, 2010).

*Aloe vera* (Liliaceae) é uma planta de origem africana pertencente à família das Liliáceas e ao gênero *Aloe*, popularmente conhecida no Brasil como Babosa (BACH; LOPES, 2007).

Substâncias naturais presentes em infusões de plantas ou feromônios excretados por insetos tem se apresentado como uma ferramenta sustentável e eficiente para o monitoramento e controle de mosquitos vetores de doenças, já que estas substâncias influenciam a atividade de oviposição em mosquitos (NAVARRO; SILVA *et al.*, 2009)

Desta forma o objetivo do presente trabalho foi à realização de bioensaios comportamentais de oviposição das fêmeas do mosquito *Ae. aegypti* frente aos constituintes orgânicos identificados em concentrações que variam de 0,1 ppm à 0,1 ppb.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAIS:

- Isolar, identificar e analisar semioquímicos contidos na infusão de *Aloe vera* com potencial atraente para fêmeas do mosquito *Ae. aegypti* em fase de postura visando a construção de armadilhas de oviposição.

### 2.2 ESPECÍFICOS:

- Formar e manter colônias de mosquitos *Ae. aegypti*;
- Isolar, extrair e identificar os constituintes orgânicos contidos na infusão de *Aloe vera*;
- Submeter os aldeídos isolados e identificados na infusão de *Aloe vera*: heptanal, octanal, nonanal, decenal, undecenal e (*E*)-2-decenal a bioensaio ioensaios comportamentais de oviposição nas concentrações que variam de 0,1 ppm a 0,1ppb;
- Realizar análises bioestatísticas dos resultados dos bioensaios com compostos comerciais utilizando teste t de student.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PRINCIPAIS ARBOVIROSES TRANSMITIDAS

##### 3.1.1 DENGUE

A dengue é uma doença que tem como agente etiológico um vírus do gênero Flavivírus que englobam os arbovírus (vírus transmitidos por artrópodes para animais vertebrados). Esses vírus podem ser identificados e mapeados geograficamente por 2 meio de associações com as características e comportamento de seus vetores (GOULD; SOLOMON, 2008). A dengue é causada através da picada do mosquito *Ae. aegypti*, sendo este o vetor dos quatro sorotipos distintos do vírus (Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4) (SINGHI *et al.*, 2007).

Os sintomas aparecem entre 3° e o 14° dia após a picada do mosquito transmissor, mosquitos do gênero *Aedes*. Entre os sintomas destacam-se ocorrência de insuficiência hepática, manifestações do sistema nervoso, miocardite, hemorragias graves e choque. Contudo, a primeira manifestação é a febre, geralmente alta (39°C a 40°C) de início abrupto, associada à cefaléia, adinamia, mialgias, artralgias, dor retroorbitária, com presença ou não de exantema e/ou prurido. Anorexia, náuseas, vômitos e diarreia podem ser observados por 2 a 6 dias (MS, 2007).

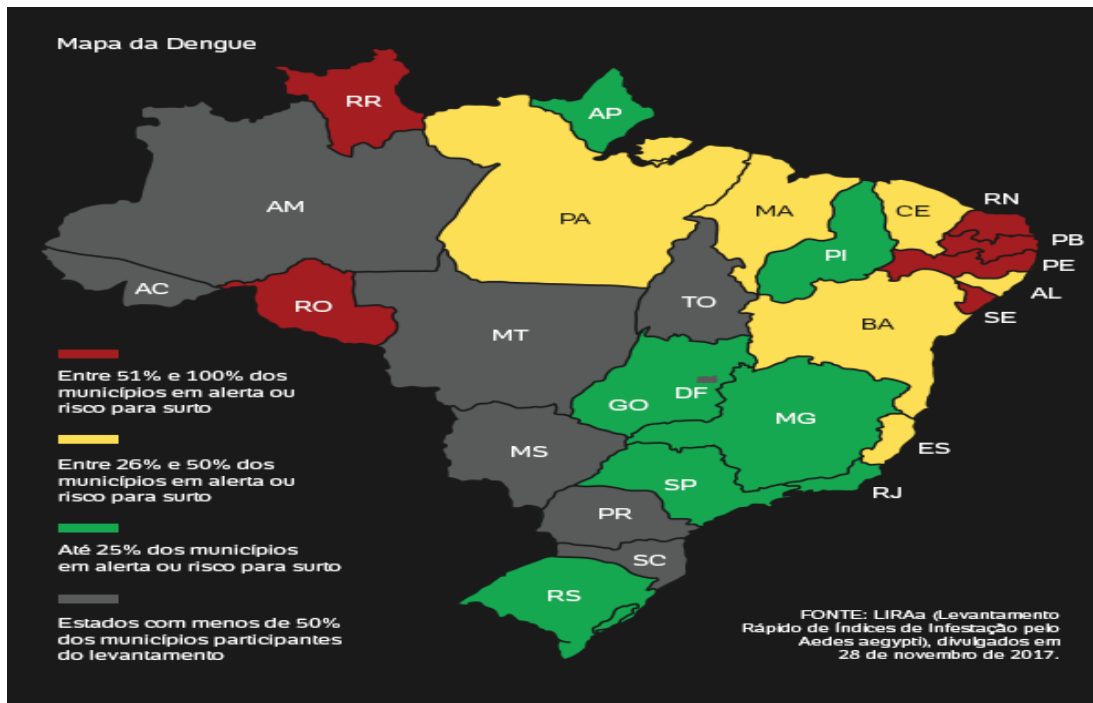
Recentemente, observa-se recorrentes epidemias de dengue em todo o globo, na qual países de clima tropical, com temperatura e umidade favoráveis, têm apresentado elevados níveis de infestação por *Ae. aegypti*. Ressalta-se que as principais causas dessas epidemias têm sido a grande capacidade de adaptação do vetor, que favorece a reemergência da doença, após intensas ações de controle (TAUIL, 2002). Nos últimos 50 anos, a incidência da doença aumentou em cerca de trinta vezes, isto está associado com a expansão geográfica de alguns países. (WHO, 2017).

A existência de uma vacina (ainda em fase experimental) apresentando resultados promissores no combate a arbovirose. Porém, ainda não encontra disponível para a população. O manejo da doença de maneira geral baseia-se na redução do transmissor a partir da eliminação dos criadouros larvais existentes (ARDUINO & ÁVILA, 2015).

No Brasil o índice de risco de infestação em municípios de alguns estados é superior à 51%, sendo a região nordeste a mais afetada, em outros estados o risco chega até 25%, conforme mostra a figura 01. Foi descoberto ainda, que o mosquito pode

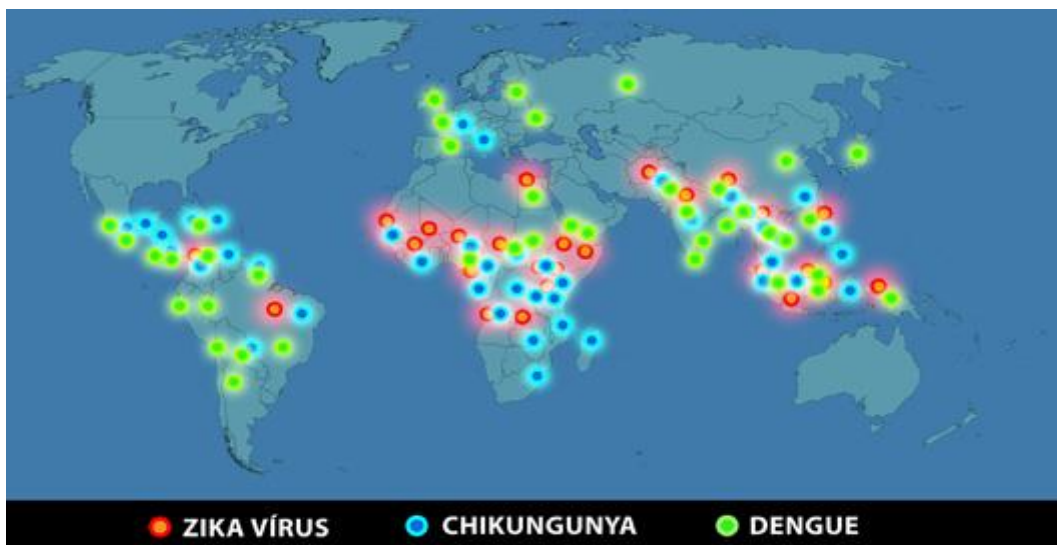
transmitir a chikungunya e a infecção por Zika, sendo registrados casos do vírus em todos os continentes, conforme mostra a figura 02. (WHO, 2017).

**Figura 01:** Mapa do índice de infestação pelo *Ae. aegypti* no Brasil em 2017



(Fonte: <https://noticias.uol.com.br/saude/ultimas-noticias/redacao/2017/11/28/infestacao-do-aedes-aegypti.htm>). Acessado em 10 de janeiro de 2018.

**Figura 02:** Mapa da infestação global dos vírus



(Fonte: <https://rededengue.fiocruz.br/noticias/31-zika-chikungunya-e-dengue-entenda-as-diferencas>). Acessado em 20 de março de 2018.

### 3.1.2 ZIKA

Identificado pela primeira vez no Brasil em abril de 2015, o vírus Zika recebeu a mesma denominação do local de origem de sua identificação em 1947, após detecção em macacos sentinelas para monitoramento da febre amarela, na floresta Zika, em Uganda (MS, 2015)

Cerca de 80% das pessoas infectadas pelo vírus zika não desenvolvem manifestações clínicas. Os principais sintomas são dor de cabeça, febre baixa, dores leves nas articulações, manchas vermelhas na pele, coceira e vermelhidão nos olhos. Outros sintomas menos frequentes são inchaço no corpo, dor de garganta, tosse e vômitos. No geral, a evolução da doença é benigna e os sintomas desaparecem espontaneamente após 3 a 7 dias. No entanto, a dor nas articulações pode persistir por aproximadamente um mês. Formas graves e atípicas são raras, mas quando ocorrem podem, excepcionalmente, evoluir para óbito (FIO CRUZ, 2015)

### 3.1.3 CHIKUNGUNYA

No Brasil, a circulação do vírus foi identificada pela primeira vez em 2014. Chikungunya significa "aqueles que se dobram" em swahili, um dos idiomas da Tanzânia. Refere-se à aparência curvada dos pacientes que foram atendidos na primeira epidemia documentada, na Tanzânia, localizada no leste da África, entre 1952 e 1953. (FIO CRUZ, 2015)

O vírus da febre chikungunya pertence à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus* e possui sintomas similares ao da dengue, porém esta doença tem caráter agudo e crônico com alta taxa de morbidade devido à artralgia prolongada. Sua recente presença nas Américas alerta os governantes para a execução de medidas preventivas já que ainda não há vacinas ou medicação específica para o tratamento. Além disso, as semelhanças clínicas entre febre chikungunya e dengue podem dificultar o diagnóstico em casos onde há infecção por ambas arboviroses (NSOENSIE et al., 2016; DONALÍSIO; FREITAS, 2015).

Os principais sintomas são febre alta de início rápido, dores intensas nas articulações dos pés e mãos, além de dedos, tornozelos e pulsos. Pode ocorrer ainda dor de cabeça, dores nos músculos e manchas vermelhas na pele. Não é possível ter chikungunya mais de uma vez. Depois de infectada, a pessoa fica imune pelo resto da vida. Os sintomas iniciam entre dois e doze dias após a picada do mosquito. O mosquito

adquire o vírus CHIKV ao picar uma pessoa infectada, durante o período em que o vírus está presente no organismo infectado. Cerca de 30% dos casos não apresentam sintomas (FIO CRUZ, 2015)

### 3.2 VETORES DE TRANSMISSÃO

O vírus da dengue pode ser transmitido por duas espécies de mosquitos, ambos do mesmo gênero, *Aedes*: *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. No entanto, o *Aedes aegypti* é o único transmissor desse vírus com importância epidemiológica (BARRETO & TEIXEIRA, 2008; SILVA; MARIANO; SCOPEL, 2008). *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* pertencem ao ramo Arthropoda (pés articulados), classe Hexápoda (três pares de pata), ordem Diptera (um par de asas anterior funcional e um par posterior transformado em halteres), família Culicidae, subfamília culicinae, gênero *Aedes* (EIRAS, 2005).

Além do vírus da dengue (DENV), a espécie *Ae. aegypti*, conforme mostra a figura 03, também transmite o vírus da febre amarela urbana (YFV), chikungunya (CHIKV) e zika (ZIKV). O vírus da febre amarela pertence à família Flaviviridae, gênero Flavivirus e tem caráter endêmico em regiões tropicais da África e da América Latina, representando um grave risco à saúde pública. Apesar da disponibilidade de vacina para a prevenção desta doença seu ressurgimento é significativo em algumas regiões da África e das Américas (MASCHERETTI et al., 2013)

Os ovos deste mosquito são colocados em grupos (10-30 ovos/criadouro) nas paredes do recipiente. Os ovos são muito resistentes, possuindo grande capacidade de dessecação, provocando dificuldade para o seu controle, pois permite que os ovos sejam transportados para grandes distâncias em ambiente seco. O mosquito *Ae. aegypti* pode viver durante meses em laboratório, no entanto, na natureza, vive em média de 30 a 45 dias (FUNASA, 2001).

Pode ser reconhecido pela cor geral marrom médio, apresentando uma faixa branco-prateada de cada lado do tórax (mesonoto) e outra faixa mais fina, longitudinal, central (EIRAS, 2005; FUNASA, 2001).

**Figura 03:** Fêmea do mosquito *Ae. aegypti*



(Fonte: Rothamsted Research).

O *Ae. albopictus*, conforme mostra a figura 04, é a espécie transmissora da dengue, febre amarela urbana e silvestre e encefalite nos países asiáticos. Apesar de no Brasil esta espécie ainda não ser considerada vetor do dengue ou da febre amarela urbana, as populações existentes no Brasil demonstraram ser suscetíveis e capazes de transmitir o vírus da dengue. Foi trazido do Japão, em 1985 ou 1986, através de navios de importação de minério de ferro no porto de Vitória, Espírito Santo (TEIXEIRA; BARRETO, 2008; BRAGA; VALLE, 2007).

O mosquito adulto possui cor negra, com uma faixa estreita, longitudinal, mediana, branco-prateada, que vai do occipício (cabeça) até o escutelo; abdome com faixas basais brancas; pleuras com manchas prateadas e pernas marcadas de branco e preto (EIRAS, 2005).

Apesar de ser antropofílico, pode se alimentar de outros animais, como equinos, bovinos, cães, macacos, aves, roedores. Tem atividade diurna e deposita ovos de maneira isolada sobre a água ou na parede dos criadouros. O *Ae. albopictus* pode ser visto em ambientes silvestre, rural, periurbano e urbano (EIRAS, 2005).

**Figura 04:** Fêmea do mosquito *Ae. albopictus*



(fonte: CDC, disponível em: <http://www.cdc.gov/>).

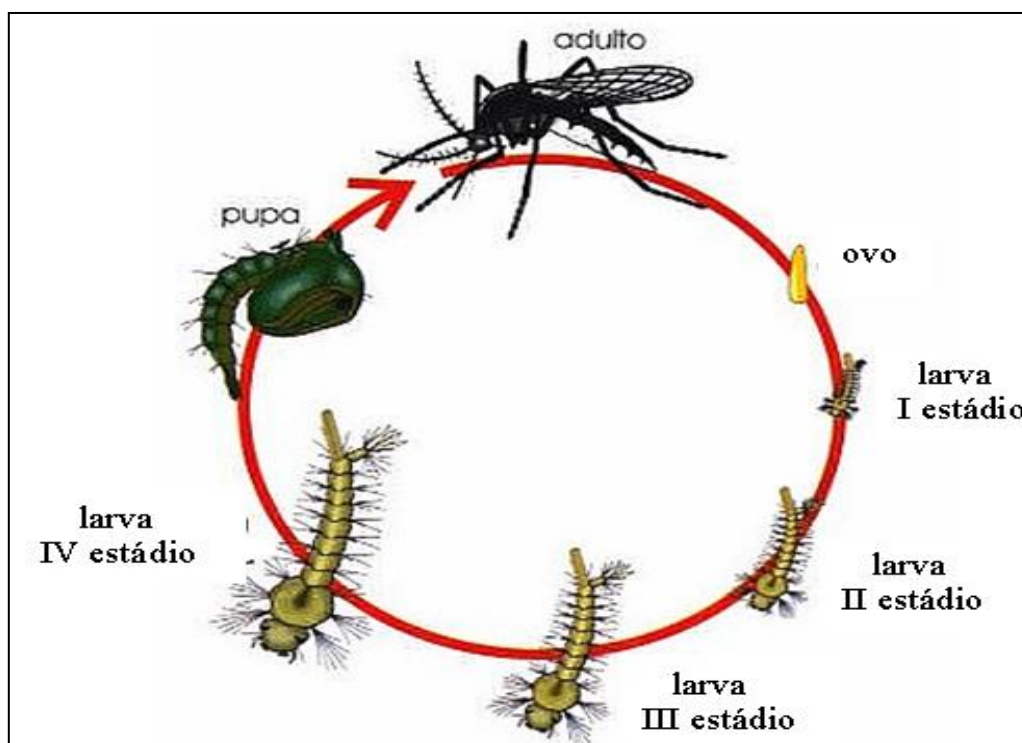
### 3.2.1 CICLO BIOLÓGICO

Quatro fases compreende o ciclo de vida do mosquito *Ae. aegypti*: ovo, larva, pupa e adulto, conforme mostra a figura 05. Os embriões que estão dentro dos ovos levam de 2 a 3 dias para se desenvolverem e eclodirem se as condições de umidade forem adequadas. Cinco dias é tempo do período larvário, esta fase é caracterizada pela alimentação e crescimento que depende da densidade das larvas no criatório, temperatura e disponibilidade de alimentos (ALDAMA; GARCÍA; ESQUIVEL, 2001; GAMA et al., 2005).

Quando a disponibilidade de alimento é escassa a fase larvária pode durar semanas, até se tornarem pupas. As pupas não se alimentam e é nesta fase onde ocorre a transição para o estágio adulto (GAMA et al., 2005).

Desde o ovo até a fase adulta o *Ae. aegypti* demora em média dez dias. Após o primeiro ou o segundo dia os mosquitos estão prontos para acasalar, reiniciando mais um ciclo. Após o acasalamento, as fêmeas passam a se alimentar de sangue, necessário para o desenvolvimento dos ovos, devido as proteínas contidas no sangue (ALDAMA; GARCÍA; ESQUIVEL, 2001; GAMA et al., 2005).

**Figura 05:** Ciclo de vida do *Ae. aegypti*



(fonte: Rivista sull'ambiente e sulla natura)

### 3.3 CONTROLE DE VETORES

Geralmente, a ocorrência de epidemias de dengue está diretamente relacionada com a presença e a densidade de seus vetores (OMS, 1997). Portanto o controle dos vetores da doença é extremamente necessário. O controle de vetores em Saúde pública visa prevenir ou reduzir o contato vírus-vetor-humano. Nesse sentido, a redução da infestação de mosquitos pode contribuir de forma significativa para o controle da doença (BRAGA, 2007).

O uso descuidado de componentes químicos como estratégia principal de controle do vetor fez com que o desenvolvimento de resistência dos mosquitos crescesse rapidamente em todo o território brasileiro, porém ressalta-se que o processo de aquisição de resistência pode ocorrer mesmo sem a presença de químicos no ambiente. As ações governamentais fazem grande uso de borrifação destes inseticidas em Ultra Baixo Volume (UBV), assim como aplicação destes compostos em criadores de mosquitos por meio dos agentes de endemia (BRAGA; VALLE, 2007).

Um dos motivadores ao uso destas estratégias é a aceitação da população, a facilidade do uso e a eficácia no combate ao *Ae. aegypti* apesar da resistência desenvolvida. Pelo fato de componentes químicos oferecerem riscos a saúde humana e de outros mamíferos o uso de estratégias alternativas tem sido explorado, por exemplo, o uso de abordagens biológicas e físicas (ELDER, 2009; BRAGA; VALLE, 2007).

De acordo com o Plano Nacional de Controle da dengue (PNCD) as estratégias de controle do vetor são: i) controle biológico, ii) controle químico e iii) controle físico (BRASIL, 2009).

### 3.3.1 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico se caracteriza por não ser tóxico para os seres vivos e o meio ambiente, sendo uma técnica natural e biodegradável, impossibilitando o desenvolvimento de resistência pelo vetor (BARRETO, 2006). Dentre as alternativas encontradas para o uso deste tipo de controle, podem ser utilizados peixes larvófagos como o *Gambusia affinis* ou mesmo larvas de outros mosquitos predadores.

Outro tipo microorganismo utilizado para o controle, atuando como bioinseticidas, são as bactérias do gênero *Bacillus*. Em especial, o *thuringiensis israelensis*. No qual, libera toxinas ao ser ingeridas pelas larvas do mosquito impedindo que ocorra o transporte de íons na região do intestino, levando conseqüentemente à sua morte (MARCONDES, 2001).

### 3.3.2 CONTROLE QUÍMICO

Uma das metodologias mais usadas como parte integrante do manejo integrado para o controle de vetores é o uso de inseticidas, seja de origem orgânica ou inorgânica. Os compostos orgânicos utilizados para este fim pertencem, principalmente, aos grupos dos organofosforados, carbamatos ou piretróides. Tais grupos de inseticidas atuam sobre o sistema nervoso central dos insetos e tem sido usado nos programas de controle de doenças transmitidas por vetores (BRAGA, 2007)

#### 3.3.2.1 ORGANOCLORADOS

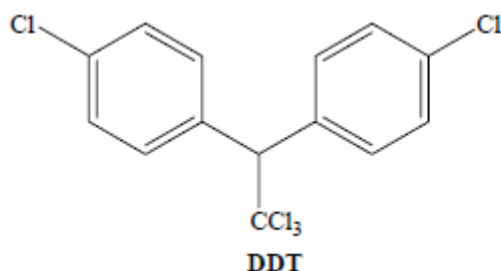
Inseticidas que permanecem ativos por longos períodos foi um avanço no controle de insetos. O dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), figura 06, foi desenvolvido



durante a Segunda Guerra Mundial e quando aplicado em paredes e tetos de casas, permanecia ativo contra os insetos durante vários meses. Os inseticidas organoclorados contêm carbono, hidrogênio e cloro. O DDT foi provavelmente, a substância química de maior destaque do século XX. O entomologista suíço Paul Muller foi premiado com o Prêmio Nobel de Medicina pela descoberta da utilidade do DDT no controle de vetores de malária, febre amarela e muitas outras doenças. O DDT é um produto relativamente barato, com elevado poder residual, moderadamente tóxico e de baixa absorção cutânea; por outro lado não é biodegradável, sendo acumulativo nas gorduras de animais de sangue quente; pode interferir no metabolismo do sódio e potássio e mostrou-se carcinogênico em camundongos (ALDRIDGE, 1979; MARI- CONI, 1980).

Devido à persistência no ambiente e ao acúmulo em tecidos do organismo de animais e humanos, os inseticidas organoclorados tiveram seu uso descontinuado e chegaram a ser proibidos em diversos países. (BRAGA; VALLE, 2007).

**Figura 06:** Estrutura Química do DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis (4-clorofenil) etano]

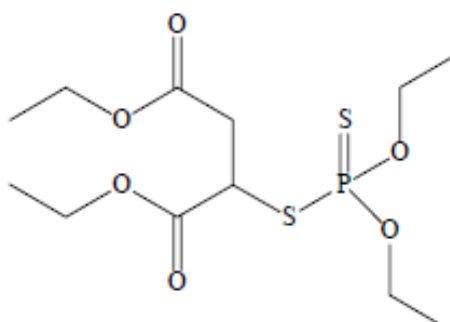


### 3.3.2.2 ORGANOFOSFORADOS

Esse termo se refere aos inseticidas que contêm fósforo, figura 07. Foram descobertos depois dos organoclorados. Três subgrupos fazem parte dos organofosforados: os alifáticos (malation, vapon, vidrin, etc.); os derivados de fenil (etil e metil paration, fenitrothion, etc.); e os heterocíclicos (clorpirifos, clorpirifos-metil, etc.). Os inseticidas organofosforados são biodegradáveis e não se acumulam nos tecidos, por isso são amplamente utilizados em Saúde Pública. O organofosforado Temefós já foi o principal larvicida utilizado no combate ao *Ae. aegypti* no Brasil, é empregado adsorvido em grãos de areia sob concentração de 1 ppm do produto, sendo sua formulação composta de 1% do princípio ativo. Apresenta a vantagem de poder ser

aplicado em água para consumo humano. No entanto, apesar de tais vantagens, os organofosforados apresentam instabilidade química, o que torna obrigatória a renovação periódica de sua aplicação. Tais inseticidas atuam inibindo a acetilcolinesterase, uma importante enzima do sistema nervoso central. Tal enzima é fosforilada pelo inseticida, ficando irreversivelmente inativada (BRAGA; VALLE, 2007).

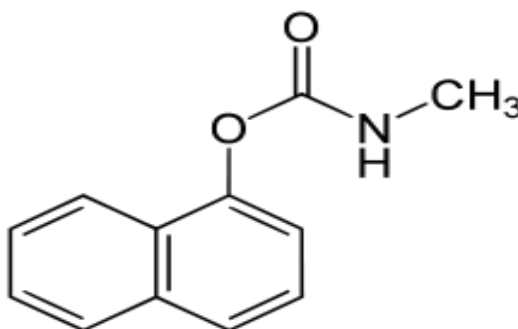
**Figura 07:** Estrutura química do malation



### 3.3.2.3 CARBAMATOS

Entre os inseticidas desta classe, o mais utilizado é o carbaril, figura 08. São inseticidas derivados do ácido carbâmico e teve sua comercialização iniciada por volta dos anos 1960. Possuem curto poder residual, são sistêmicos em plantas por serem relativamente solúveis em água. Assim como os organofosforados, também inibem a acetilcolinesterase, embora, a reação envolvida seja a carbamilação (BRAGA; ALLE, 2007).

**Figura 08:** Estrutura química do carbaril

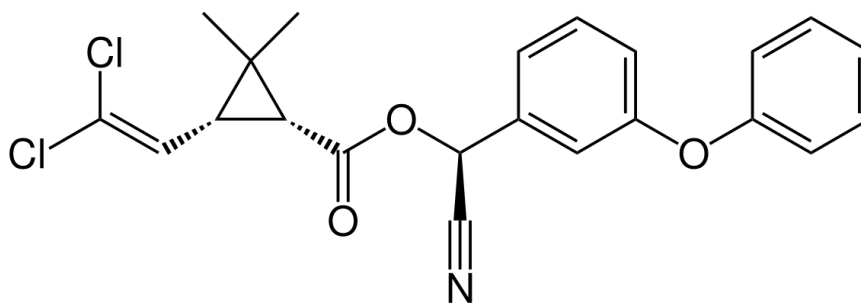


### 3.3.2.4 PIRETRÓIDE

Os inseticidas desta classe são biodegradáveis, não cumulativos e raramente provocam intoxicações agudas em aves e mamíferos. No entanto, são extremamente tóxicos para animais aquáticos. Além disso, são muito ativos, atuam em pequenas doses. Em 1949, aletrina foi lançado no mercado, cuja síntese envolvia 22 reações químicas. Já na década de 1960 outra geração de piretróides chegou ao mercado e incluía o tetrametrina (1965), resmetrina (1967), bioresmetrina (1967), bioaletrina (1969) e phonotrina (1973). A partir de 1972 surgiram mais dois inseticidas da classe piretróides, foram o fenvalerato e permetrina, tornando-se os primeiros piretróides usados na agricultura. Na atual geração de piretróides incluem-se bifentrina, lambdacialotrina, ciflutrina, deltametrina, esfenvalerato, fenproprina, flucitrinato, fluvalinato, praletina, além de cipermetrina, figura 09, principal composto usado dessa classe de inseticidas.

Os piretróides agem de modo similar ao do DDT. Aparentemente, agem mantendo os canais de sódio das membranas dos neurônios abertos (BRAGA; VALLE, 2007).

**Figura 09:** Estrutura química da cipermetrina



### 3.3.3 CONTROLE FÍSICO

O controle físico ou mecânico consiste em ações que não fazem uso de tecnologias como as citadas anteriormente e foca no manejo ambiental e social. O uso de pesticidas é dispensável e as principais medidas são focadas na eliminação e prevenção de possíveis criadouros do mosquito como caixas d'água, depósito de lixo e pneus, entre outros objetos ou locais que possam fazer o armazenamento de água

parada. A principal ferramenta utilizada para esta forma de controle é a mobilização comunitária. Para a execução eficaz de ações desse molde é necessário conhecimento amplo dos locais de intervenções e as características dos criadouros e das intervenções. O trabalho comunitário tem papel fundamental para o manejo integrado de *Ae. aegypti* (ERLANGER et al., 2008).

### 3.4 3.5 RESISTÊNCIA A INSETICIDAS

O inseticida é uma das formas de controle, que pode ser benéfica e ajudar a eliminar o mosquito quando utilizada de maneira adequada. Mas, quando utilizado indiscriminadamente, ele seleciona as populações de mosquitos resistentes, o que propicia novas gerações também resistentes, perdendo, assim, sua finalidade inicial. (FIO CRUZ, 2014).

O uso contínuo e desenfreado de inseticidas propiciou o desenvolvimento de populações resistentes aos produtos mais intensamente utilizados. Resistência de larvas do mosquito *Ae. aegypti* ao larvicida temefós foi registrada em 2006 em Fortaleza e em outros municípios do Ceará (LIMA et al., 2006), além de outras localidades do Brasil, como no Distrito Federal, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Campinas (BESERRA et al., 2007). Na Paraíba todas as populações de *Ae. aegypti* estudadas mostraram diferentes níveis de resistência ao temefós. (BESERRA et al., 2007).

A resistência registrada em diversas partes do país indica a necessidade urgente de planejar estratégias eficientes de controle alternativo de vetores. Tais estratégias devem se basear em um método integrado de controle, no qual o uso de inseticidas não seja o único método utilizado. No entanto, o uso de inseticidas, larvicidas, peixes larvófagos, predadores componham o leque do programa de controle. Além disso, mudanças e/ou troca temporária de produtos químicos pode contribuir para o manejo da resistência do *Ae. aegypti* (CAMPOS; ANDRADE, 2003).

### 3.5 ARMADILHAS DE OVIPOSIÇÃO

No Brasil, o monitoramento do *Ae. aegypti* é feito através de pesquisas das formas imaturas, principalmente larvas, realizadas entre quatro e seis vezes ao ano (BRAGA *et al.*, 2000). No entanto este método é pouco sensível e está sujeito à vários fatores como à eficiência do agente de endemia e à permissão do morador em autorizar à inspeção em toda a sua casa. Isso pode acarretar elaboração de índices de infestação imprecisos (FOCKS, 2003). Sendo o controle do vetor a maneira mais eficiente de reduzir a transmissão da dengue, torna-se extremamente importante o conhecimento da densidade populacional desta espécie antes e durante epidemias (OMS, 2011).

As armadilhas de oviposição tem se mostrado uma medida alternativa de monitoramento e/ou controle eficiente. Segundo Marques *et. al.* (1993) armadilhas de oviposição (ovitrampa) apresentaram desempenho superior se comparada à pesquisa larvária (larvitampa), recomendada pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), não somente quanto ao aspecto de positividade como ao número de exemplares capturados. O mesmo foi apontado por Resende *et. al.* (2010), ao comprovar que tanto o uso de ovitrampas quanto o uso de armadilhas para captura de fêmeas diminui o tempo gasto pelos agentes de saúde na vistoria de residências se comparado à pesquisa larvária (8,0 min, 6,8 min e 24,8 min respectivamente), o que implica na redução de custos. O uso de armadilhas de oviposição mostrou-se um método mais eficaz na detecção e monitoramento tanto do *Ae. Aegypti* quanto do *ae. Albopictus* (RAWLINS *et al.*,1998). O desenvolvimento novas armadilhas para a captura de indivíduos na fase adulta tem sido cada vez mais bem-sucedida, apresentando resultados favoráveis para a captura em testes realizados tanto no campo como em laboratório (DONATTI; GOMES, 2007).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS E MÉTODOS

As colônias de mosquitos da espécie *Ae. aegyti* foram mantidas no Laboratório de Síntese e isolamento de Feromônios situado no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas.

As colônias de mosquitos foram mantidas em fotoperíodo de 12L:12E horas, sendo a temperatura do laboratório na faixa de  $30\pm 2$  °C, com umidade relativa do ar de 55-66%.

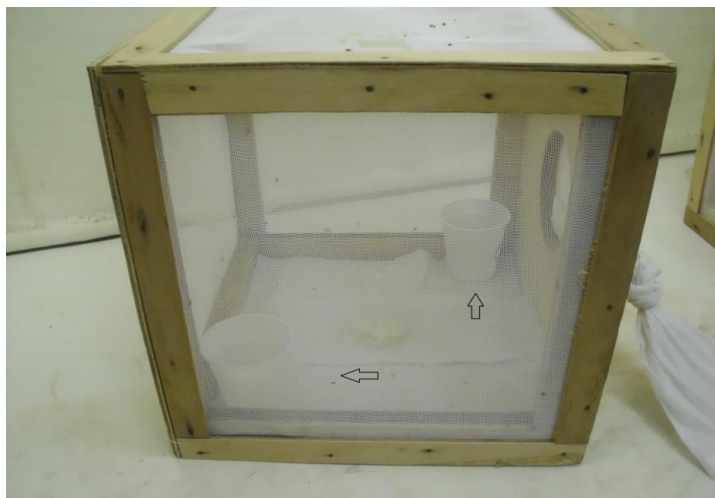
Para o início das colônias os ovos (obtidos pelo LaSIF no campus da UFAL no município de Maceió), foram submergidos em uma bacia branca retangular (40 X 26 X 8,5 cm) contendo 2 litros de água de poço ou água destilada por aproximadamente 24 horas, tempo suficiente para que praticamente todos os ovos eclodissem. As pupas foram separadas nas gaiolas somente a partir de 8-9 dias do início da colônia, sendo 25 pupas fêmeas e 10 machos colocadas em cada uma das 10 gaiolas utilizadas nos bioensaios de oviposição.

A alimentação da fase imatura (larvas) da colônia de mosquitos foi utilizada ração para gatos da marca LeRoy Mix. Para a alimentação dos mosquitos adultos foi utilizada solução de mel 5% embebidos em algodão. O repasto sanguíneo foi realizado 4 dias após a emergência, para isso utilizou-se pombos da espécie *Columbia livia*. Os bioensaios foram realizados sempre 3 dias após o repasto sanguíneo, período onde as fêmeas grávidas iniciam a oviposição.

#### 4.1.1 GAIOLAS

Os mosquitos adultos utilizados nos bioensaios foram mantidos em gaiolas de dimensões 30 X 30 X 30 cm, de madeira e teladas com nylon. As gaiolas foram confeccionadas artesanalmente no município de Arapiraca (AL).

**Figura 10:** Gaiola de madeira e nylon utilizada para abrigar os mosquitos adultos para os bioensaios



(fonte: LaSiF - UFAL)

#### 4.1.2 SUPORTE DE OVIPOSIÇÃO

Os suportes de oviposição utilizados nos bioensaios foram produzidos com papéis de filtro qualitativos da marca Qualy, os quais foram recortados em forma circular com 5,0 cm de diâmetro, e sustentados na superfície da água por isopor circular de diâmetro 3,5 cm. O isopor foi usado com diâmetro menor do que o suporte para que este permanecesse umedecido em contato com a água.

**Figura 11:** Copo com suporte de oviposição



(fonte: LaSiF - UFAL)

#### 4.1.3 PREPARAÇÃO DA INFUSÃO DE *ALOE VERA* (BABOSA)

Em um béquer com capacidade de quatro litros foram colocados 2.130 g de folhas inteiras de babosa. As folhas foram deixadas em sentido vertical e em seguida foram adicionados 2,5 L de água destilada. A água destilada pôde também ser substituída por água de poço não clorada. O béquer foi então tampado com tecido tule e foi observado que em apenas uma hora de contato a infusão já começou a ficar de cor vermelha clara. Após uma semana de fermentação aeróbica as folhas foram então retiradas e a solução cor de vinho foi então transferida para um vasilhame de plástico próprio para armazenamento de água mineral de capacidade cinco litros. O vasilhame foi tampado com tecido tule e então guardado por tempo indeterminado à temperatura ambiente.

**Figura 12:** Infusão de *Aloe vera*



(fonte: LaSiF - UFAL)



## 4.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

### 4.2.1 EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE)

Em um funil de separação de capacidade 250 mL suportado por um aro de funil conectado a um suporte universal foi adicionado 100 mL da infusão de babosa concentrada, seguido de adição de 30 mL de éter etílico. O funil de separação foi fechado com tampa esmerilhada, e este foi agitado rapidamente, abrindo-se a torneira do funil de tempos em tempos para normalizar a pressão interna. As fases orgânica e aquosa foram separadas, e a fase aquosa foi novamente colocada no balão de extração sendo repetido o procedimento de extração por mais duas vezes, sempre utilizando o mesmo volume de éter etílico (30 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com 30 mL de água destilada e então concentradas através de um fluxo de nitrogênio gasoso até um volume final de 4 mL. O concentrado foi então transferido para um pequeno vidro (4 mL), o qual foi fechado e deixado em freezer a uma temperatura de -18 °C durante 4 horas. Houve então uma nova separação entre as fases orgânica e aquosa. Com a fase aquosa inferior congelada, a fase etérea foi rapidamente transferida para uma ampola, a qual foi em seguida fechada com o uso de chama. Parte da amostra etérea foi então enviada por correio ao nosso grupo parceiro, Ecologia Química de Rothamsted Research (Inglaterra), para análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução, e outra parte foi utilizada nos bioensaios de oviposição da fêmea do mosquito *Ae. aegypti*.

### 4.2.2 EXTRAÇÃO POR SORÇÃO COM BARRAS DE AGITAÇÃO REVESTIDA COM POLIETILENO (SBSE)

Em um erlenmeyer de capacidade 50 mL foram adicionadas 50 mL de infusão de babosa concentrada. Em seguida o magneto da SBSE foi suavemente colocado dentro do erlenmeyer com o auxílio de uma pinça. O erlenmeyer foi tampado com papel alumínio, e com o auxílio de uma garra e de um suporte universal foi deixado debaixo da placa de agitação magnética à 1200 rpm por duas horas. O magneto foi retirado da solução com o auxílio de uma pinça e colocado em superfície de papel toalha, sendo então rapidamente lavado com um pequeno jato de água destilada. Após o término, o magneto foi retirado e lavado com 0,3mL de éter destilado (dessorção por solvente) e levado a análise realizada com o auxílio do GC-MS, juntamente com co-injeções com amostras autênticas comerciais pôde-se identificar os vários componentes orgânicos.

### 4.2.3 IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

Os extratos considerados biologicamente ativos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução. (GC-MS). As análises foram realizadas pelo Dr. Michael A. Birkett do grupo de Ecologia Química de Rothamsted Research (Inglaterra). Rothamsted Research possui um equipamento de GC-MS de alta resolução da marca Hewlett-Packard 6890A. As condições utilizadas foram: coluna capilar (50m x 0,32mm i.d. HP-1). Impacto eletrônico à 70 eV, 250°C; 30°C (5 min.), 5°C/min. Até 250°C. Gás de arraste – hélio.

### 4.3 BIOENSAIOS

Estudos realizados anteriormente pelo laboratório de Síntese e Isolamento de Feromônios (LaSIF - UFAL), obtiveram resultados significantes de atratividade com infusões. Foram realizados diferentes bioensaios de oviposição com a fêmea em fase de postura do mosquito *Ae. aegypti*, uma vez que esta fêmea procura ambientes aquáticos para a deposição de seus ovos. Os primeiros bioensaios foram realizados utilizando matriz aquosa de Infusão de *Aloe vera*.

Com o intuito de dar prosseguimento ao estudo da atratividade da infusão *Aloe vera*, a mesma foi submetida ao isolamento e identificação, através do método de extração líquido-líquido (LLE). O Laboratório de Isolamento e Síntese de Feromonios (LaSIF) em cooperação com Rothamsted Research na Inglaterra pode isolar e identificar os seguintes aldeídos: Nonanal, Decanal, Undecanal, Heptanal, Octanal e (*E*)-2-Decenal.

Bioensaios foram realizados de forma simultânea, onde cada gaiola telada com nylon possuía 20 fêmeas em fase de postura do mosquito *Ae. aegypti* com 3 dias de repasto sanguíneo conterão também dois copos descartáveis de 100 mL cada. Foram colocados dentro da gaiola um copo contendo a água controle (hexano) e o outro copo contendo a água teste. Diferentes testes foram realizados: infusão de *Aloe vera* e os extratos obtidos a partir desta infusão. Ambos os copos continham papel de filtro imerso na água que atua como suporte de oviposição das fêmeas. Os copos ficam em posição relativa diagonal durante 16 horas. Os ovos postos nos copos foram recolhidos e quantificados com o auxílio de uma lupa ou mesmo à olho nu. Cada procedimento foi repetido em média até 10 vezes, para que os resultados obtidos fossem tratados estatisticamente pelo teste t-student. Quando o bioensaio foi realizado com o extrato

etéreo (obtido através das extrações SPE, LLE e SBSE), este foi adicionado diretamente no papel de filtro imerso em água.

#### 4.4 ANÁLISE BIOESTATÍSTICA

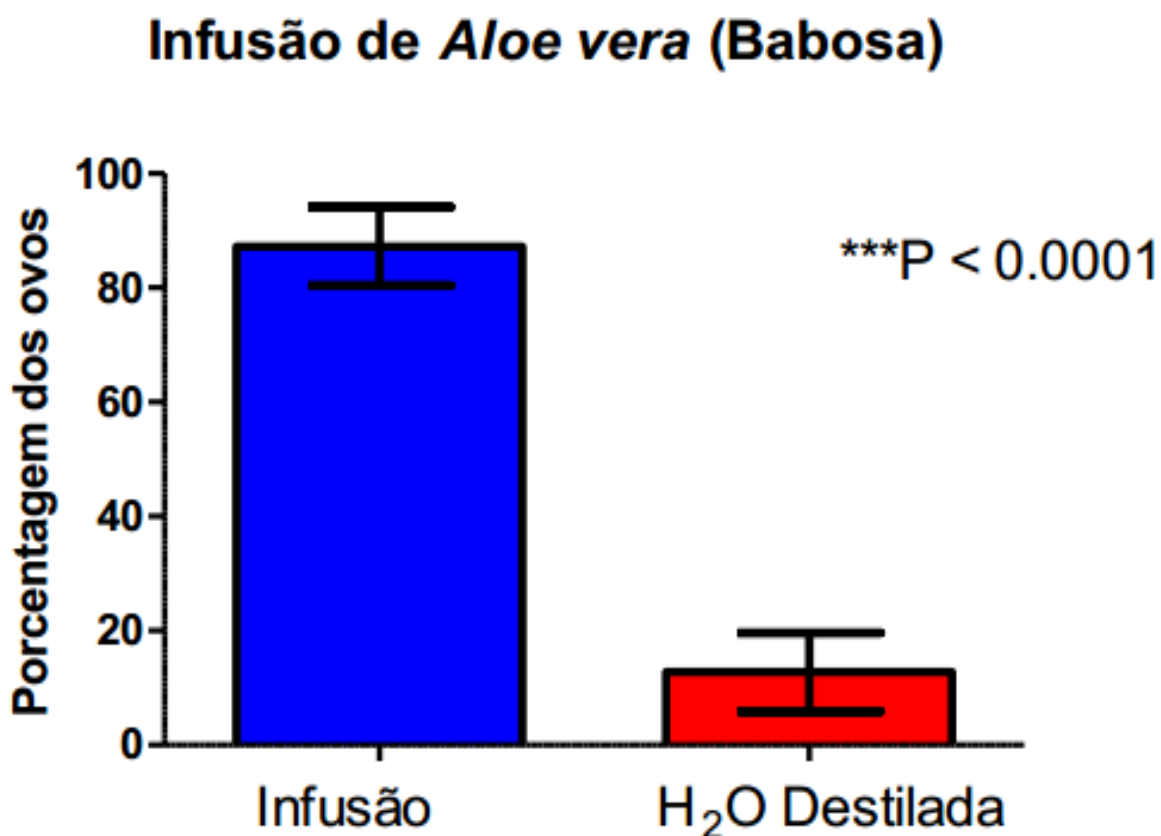
Após a contabilização dos ovos depositados nas soluções controle e nos tratamentos de cada gaiola, tais dados foram convertidos em porcentagens e analisados através do Teste t de Student. Esta análise foi realizada através do programa GraphPad Prism 5. Foi estabelecido um intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram definidos como atraentes ou não, sendo medidos qualitativamente pelo valor de P e classificados como (\*) quando  $P < 0,05$ , (\*\*) quando  $P < 0,01$  e (\*\*\*) quando  $P < 0,001$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 BIOENSAIO COM ALOE VERA

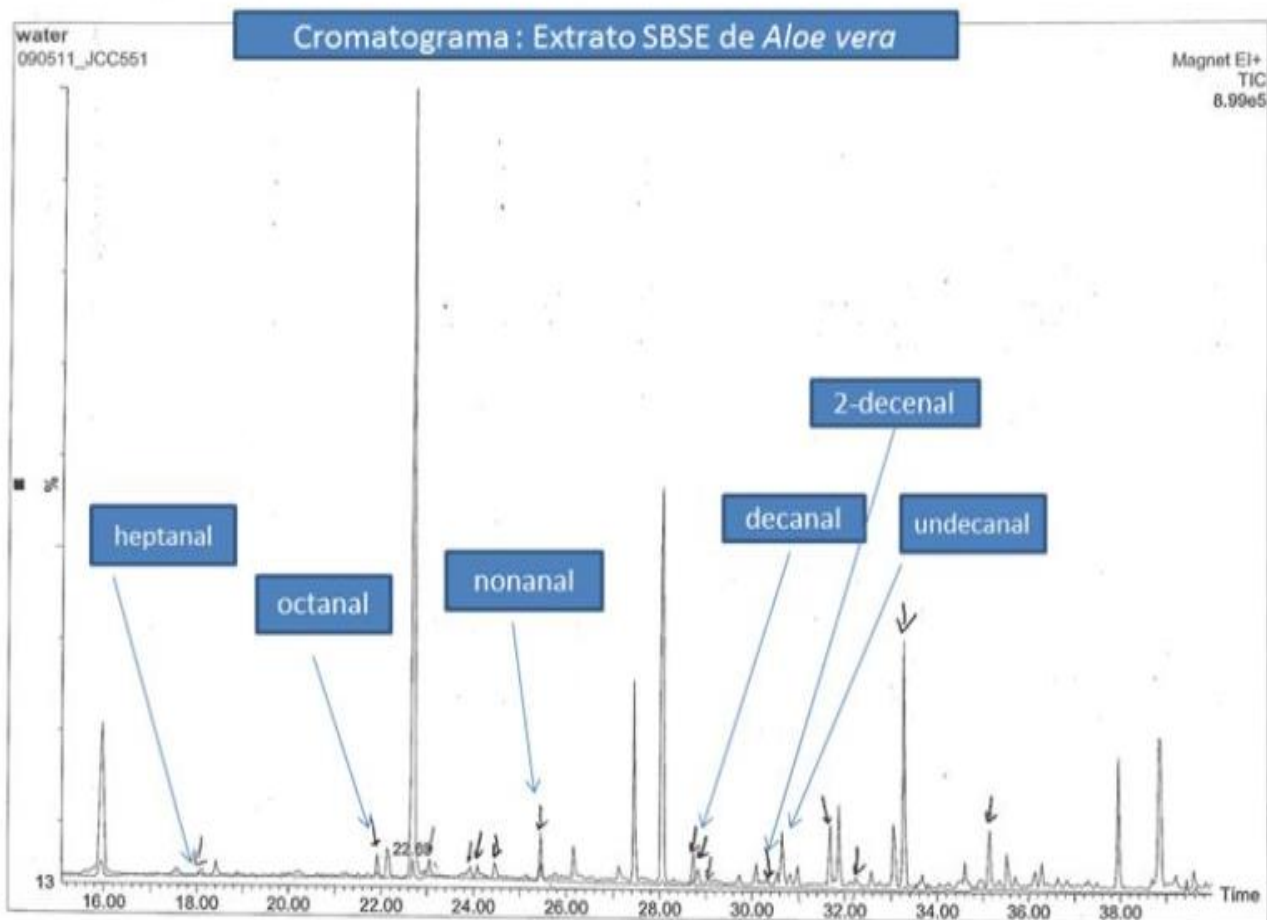
Um excelente resultado foi obtido quando a planta recentemente retirada da terra com a raiz é transportada até o laboratório e as folhas foram cortadas próximas ao caule e deixadas em fermentação aeróbica durante uma semana em água destilada na proporção de 226 gL<sup>-1</sup>. A infusão de cor-de-vinho obtida pôde então ser armazenada a temperatura ambiente durante meses sem que houvesse perda da atividade biológica. O resultado do bioensaio realizado demonstra que houve atratividade para as fêmeas do mosquito *Ae. aegypti* como o gráfico a seguir nos mostra:

Gráfico 01: Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* para a infusão de *Aloe vera* (Babosa) versus H<sub>2</sub>O destilada (controle).



Por termos o conhecimento da variação na composição das substâncias orgânicas contidas na infusão de *Aloe vera*, e pelo resultado positivo obtido demonstrando ser bastante atrativa, a mesma foi submetida à métodos de extração.

**Gráfico 02:** Constituintes orgânica identificados pela Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)

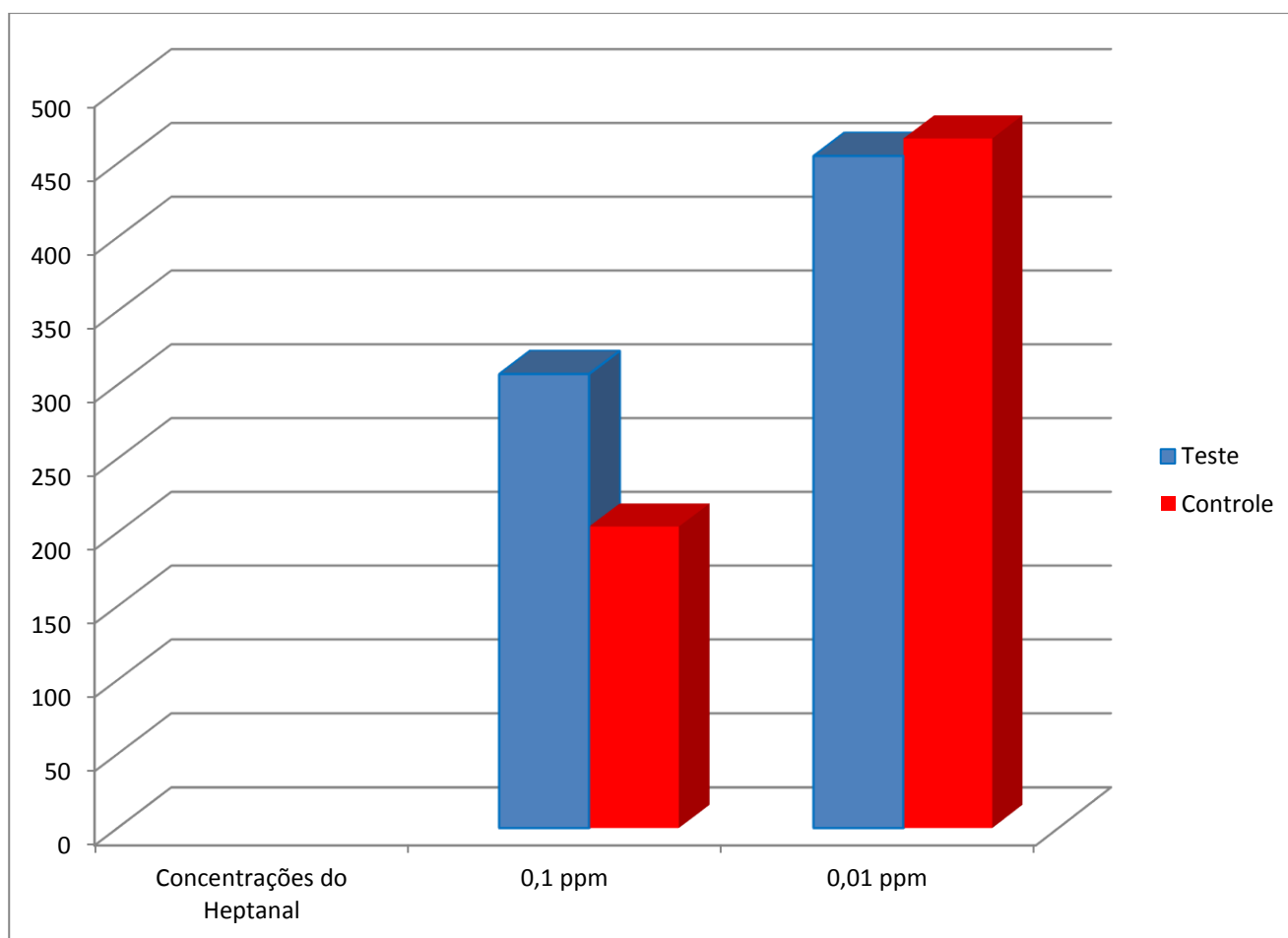


Logo após esta identificação, iniciamos bioensaios comportamentais de oviposição frente às fêmeas grávidas do mosquito *Ae. aegypti* individualmente para sabermos se os mesmos sozinhos são atrativos. Após o recolhimento desses dados, os mesmos foram convertidos e analisados estatisticamente.

## 5.2 BIOENSAIOS COM HEPTANAL

Nota-se que esse constituinte orgânico é estimulante para a oviposição das fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*, apenas na concentração de 0,1 ppm obtendo uma resposta significativa e a ocorrência da seletividade pelo heptanal. Na concentração de 0,01 ppm a substância teste não obteve um bom resultado, sendo escolhida a substância controle pelas fêmeas para a efetuação da oviposição dos ovos. Não foi realizado os bioensaios com as concentrações mais diluídas (0,001 e 0.0001 ppm).

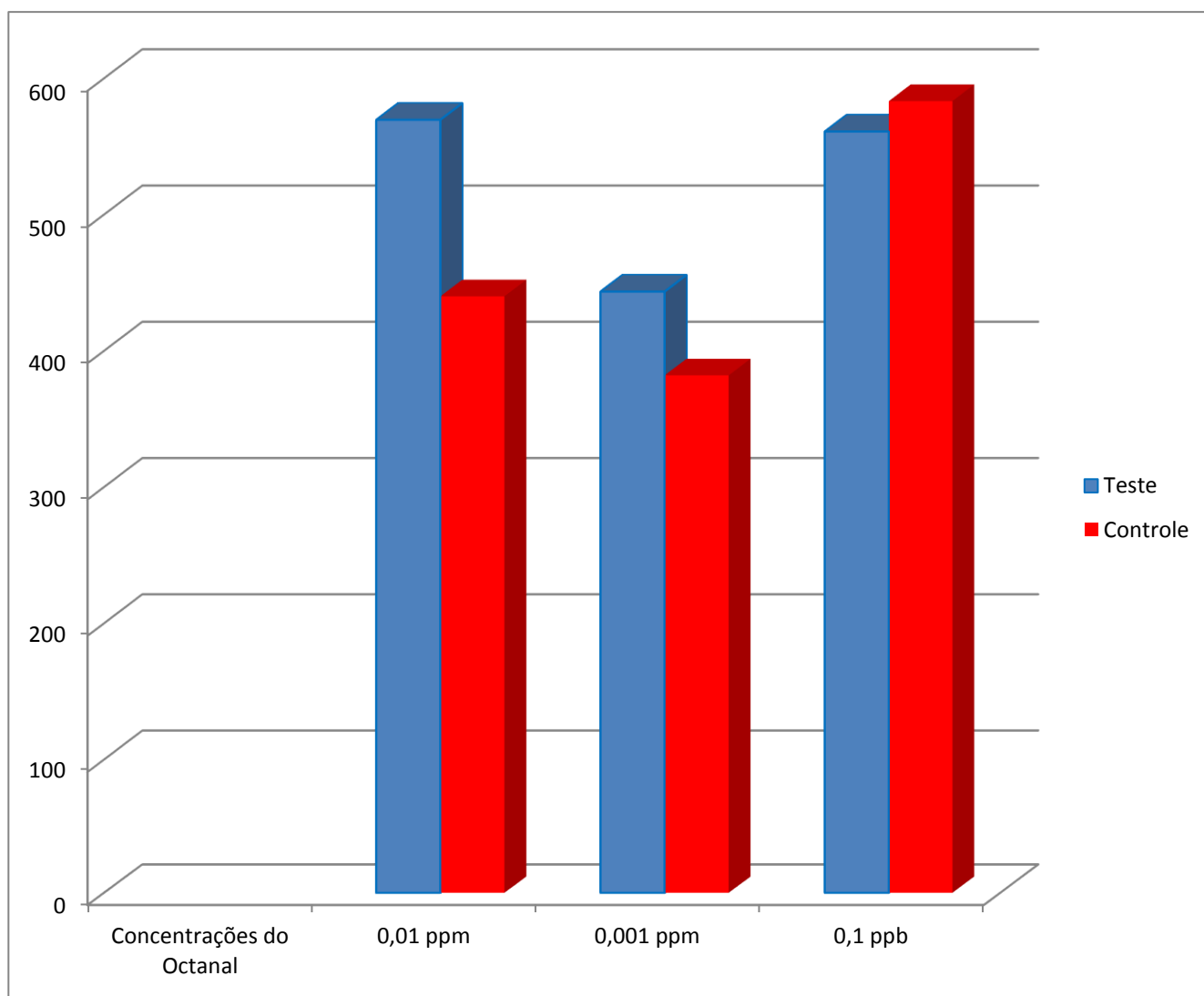
**Gráfico 03:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* frente ao Heptanal *versus* hexano (controle) nas concentrações 0,1 e 0,01 ppm.



### 5.3 BIOENSAIOS COM OCTANAL

Observa-se que a substância Teste (octanal) nas concentrações de 0,01 e 0,001 ppm a resposta de oviposição das fêmeas é significativa, ocorrendo a seletividade pelo octanal, já na concentração mais baixa analisada de 0,1ppb, a substância teste não obteve um bom resultado, sendo escolhida a substância controle (hexano) pelas fêmeas para a efetuação da oviposição dos ovos.

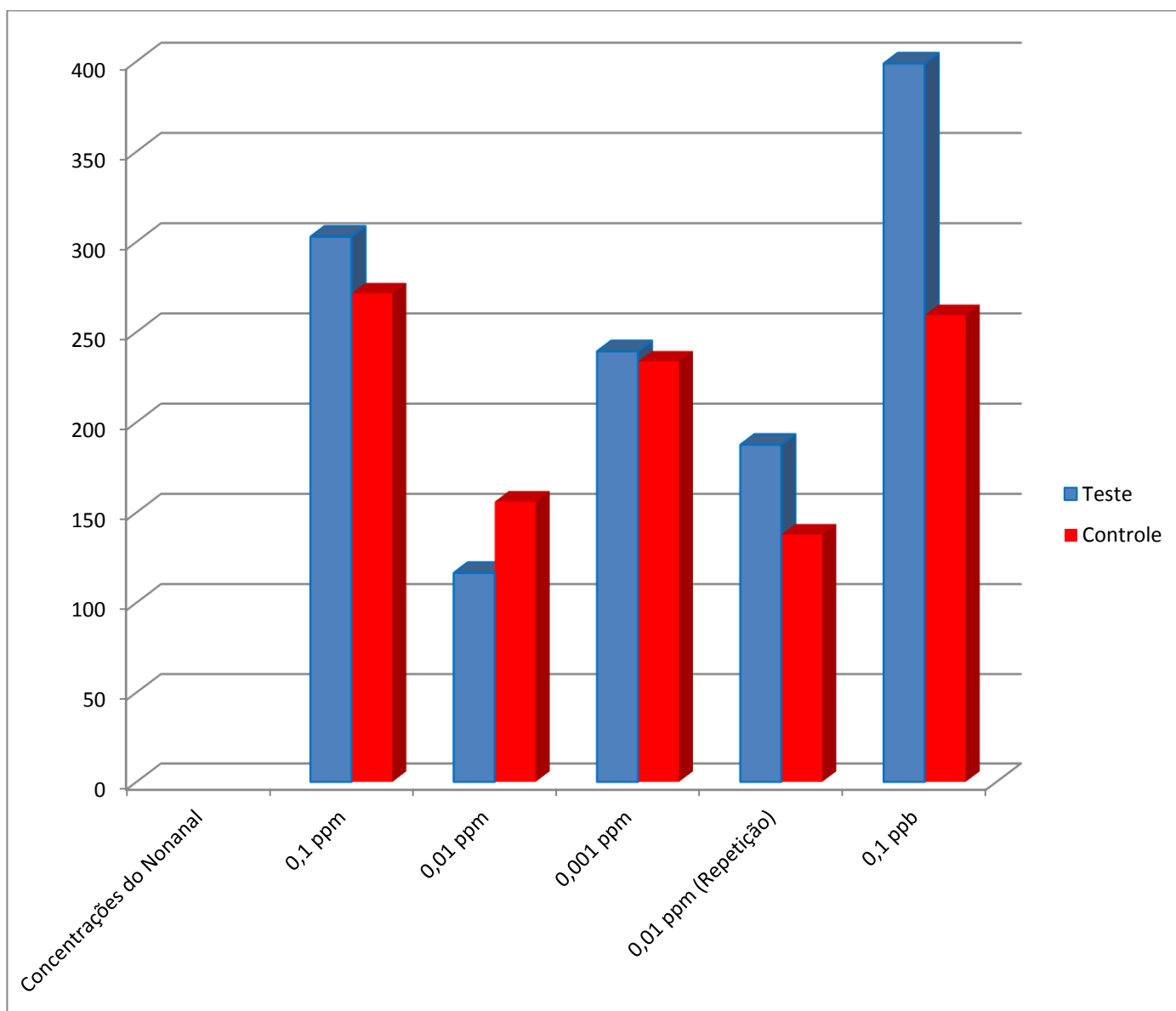
**Gráfico 04:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* frente ao octanal versus hexano (controle) em diferentes concentrações.



#### 5.4 BIOENSAIOS COM NONANAL

Semelhantemente aos resultados do undecanal, a substância Teste nonanal também apresentou um melhor resultado à medida que diluímos sua concentração, sendo seletivo/atrativo frente às fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*. Comparando todas as concentrações na qual o nonanal foi submetido, observa-se que o melhor resultado foi obtido na concentração de 0,1 ppb, ou seja, a mais diluída entre todas as concentrações testadas.

**Gráfico 05:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* para o nonanal versus hexano (controle) em diferentes concentrações.

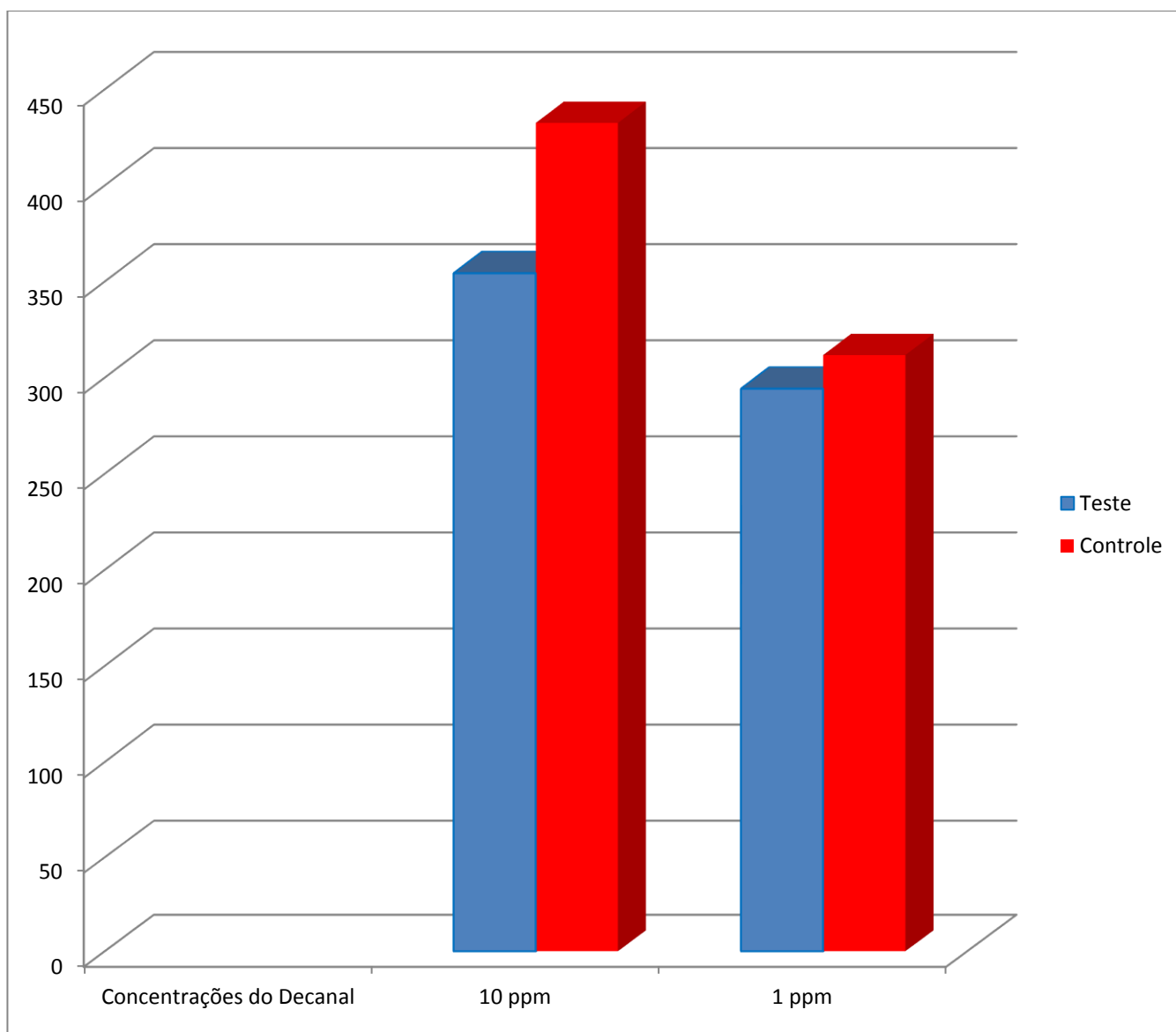




### 5.5 BIOENSAIOS COM DECANAL

Os resultados obtidos dos bioensaios comportamentais de oviposição entre o decanal (substância teste) e o hexano (substância controle) em ambas as concentrações demonstraram que o poder atrativo/estimulante frente as fêmeas grávidas do mosquito *Ae. aegypti* não ocorre tendo as mesmas preferências pela substância controle (hexano), o que observamos no gráfico abaixo:

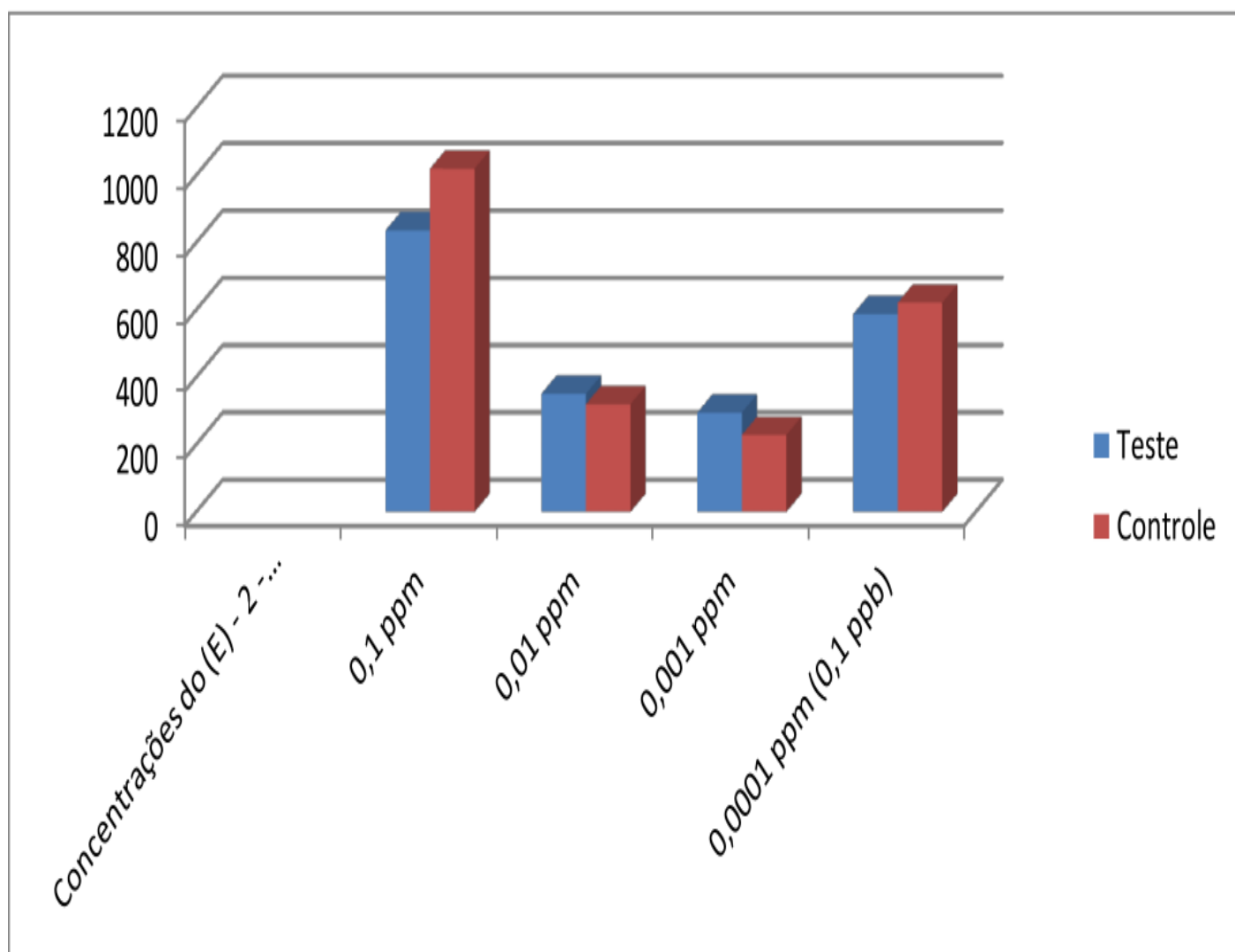
**Gráficos 06:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* para o decanal versus hexano (controle) em diferentes concentrações.



### 5.6 BIOENSAIOS COM (E)-2-DECENAL

A maior (0,1 ppm) e menor concentração (0,0001 ppm [0,1 ppb]) em que o bioensaio foi realizado com o (E)-2-Decenal obtivemos um resultado negativo, o que demonstra que apenas nas concentrações de 0,01 ppm e 0,001 ppm esse aldeído tem efeito atrativo frente às fêmeas do *Ae. aegypti*, diferenciando do undecanal e nonanal em que à medida que a solução foi diluída seu poder estimulate/atrativo torna-se mais potente. No gráfico abaixo, podemos observar a análise estatística do resultado dos bioensaios submetidos.

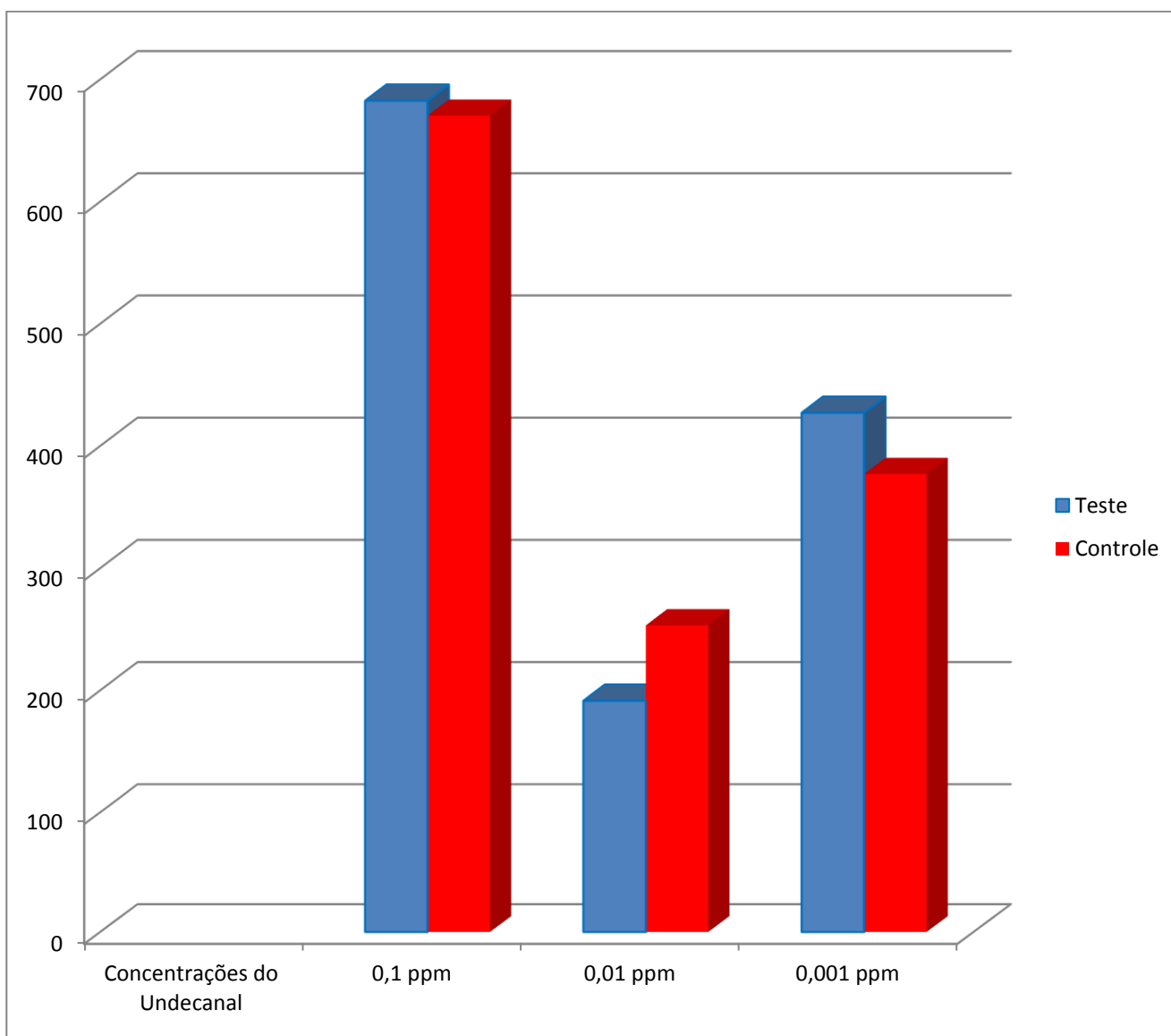
**Gráfico 07:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* para o (E)-2-decanal versus hexano (controle) em diferentes concentrações.



### 5.7 BIOENSAIOS COM UNDECANAL

Notou-se que à medida que diminuimos a concentração da substância Teste (Undecanal), a resposta oviposicional das fêmeas do mosquito *Ae. aegypti* se mostra de forma positiva, comprovando a seletividade/preferência das fêmeas pelo undecanal, porém como pode ser visto no gráfico abaixo a concentração de 0,01ppm deverá ser repetida, por só a mesma ter obtido resultado negativo.

**Gráfico 08:** Comportamento de oviposição das fêmeas do Mosquito *Ae. aegypti* para o Undecanal *versus* hexano (controle) em diferentes concentrações.



Segundo Navarro et al (2003), a eficiência das infusões orgânicas é diretamente influenciada pelo processo de crescimento bacteriano e posteriormente a formação de metabólicos.

Em estudos publicados recentemente, que visavam demonstrar a preferência das fêmeas *Ae. aegypti*, frente a diferentes infusões, têm sido realizados em conjunto a armadilhas de oviposição. A infusão a base de folha de caju (*A. occidentale*) foi um tratamento muito eficaz no combate populacional do mosquito, obtendo uma grande quantidade de ovos (SANTOS et al, 2010). Desta forma, notou-se em um trabalho onde foi utilizado o ácido hexadecanóico que está presente no óleo das folhas frescas de *A. occidentale*, um bom atrativo de estimulação oviposicional de fêmeas do *Ae. aegypti*. (PONNUSAMY, et al, 2008).

Paulino (2008) identificou um grande potencial de atratividade em infusão de *Aloe Vera*, sendo um bom estimulante de postura frente a fêmeas *Ae. aegypti*, neste estudo comprovou-se a preferência desde infusão quando submetidas a testes em comparação a outras infusões, como a de feno.

Foi observado um resultado semelhante neste presente estudo, utilizando os constituintes da infusão de *Aloe Vera*, deste modo obtemos que a substância teste octanal, nas maiores concentrações, 0,01 ppm e 0,001 ppm, mostrou-se ser seletivo frente as fêmeas grávidas do mosquito *Ae. aegypti*, o heptanal, só obteve seletividade na concentração de 0,01 ppm. Como pode-se observar no gráfico 03, na parte de resultados e discussão, o decanal não obteve nenhuma seletividade, de modo que a substância não pôde ser considerada atrativa em nenhuma das concentrações testadas, e que ocorre uma melhora na atividade estimulante do nonanal e do undecanal à medida que estas substâncias tiveram as suas concentrações diminuídas, e em relação ao (E)-2-decenal apenas nas concentrações: 0,01 e 0,001 ppm demonstrou-se ser atrativo.

Nascimento (2017), utilizou a combinação de infusões com as armadilhas de oviposição, obtendo bons resultados. o que torna a infusão de *Aloe vera* e seus constituintes, um bom método para a vigilância entomológica e corrobora com a pontualidade do combate do crescimento desenfreado da população vetor dos vírus.

## 6 CONCLUSÕES

Com o intuito de avaliar e comprovar novos atraentes/estimulantes de oviposição do mosquito *Ae. aegypti*, foram realizados bioensaios comportamentais com os constituintes orgânicos da infusão de *Aloe vera* identificados pela técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS).

Pode-se identificar a preferência das fêmeas pelas substâncias testes, em grande parte ao decorrer da diluição das concentrações, exceto o octanal, onde seu maior êxito foi em suas maiores concentrações.

Por meio destes resultados podemos afirmar que a matriz aquosa de Infusão de *Aloe vera* e seus constituintes, é estimulante e atrativo frente a fêmeas do mosquito *Aedes aegypti*, deste modo em conjunto com armadilhas, é possível que possamos controlar a população do principal vetor do vírus da dengue, zika e chikungunya de forma assertiva e econômica.

## REFERÊNCIAS

- ALDAMA, P. C, GARCÍA, F.J. H, ESQUIVEL, R. C. O. Ciclo de vida de aedes aegypti y manifestaciones clínicas del dengue. Acta Pediatr Méx, Cidade do México, v. 22, n. 2, p.114-117, 2001.
- ALDRIDGE, W.N. Insecticides, past, present and future: practice and the understanding of mechanisms. Ann. occup. Hyg., 22:407-409, 1979.
- ARDUINO, M. B. & ÁVILA, G. O. Aspectos físico-químicos da água de criadouros de aedes aegypti em ambiente urbano e as implicações para o controle da dengue. Rev Patol Trop. V. 44, n.1, p.89-100, jan-mar, 2015.
- AVELINO-SILVA, V. I; RAMOS, J. F. Arboviroses e políticas públicas no Brasil. Revista Ciências em Saúde v7, n3, 2017.
- BACH, D.B, LOPES, M.A. Study of economic viability of the Aloe vera L. culture. Departamento de Medicina Veterinária/DMV Universidade Federal de Lavras/UFLA, 2007.
- BARRETO, C. F. Aedes aegypti - Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás, ISSN 1808-8597, p.62-73, nov. 2006.
- BARRETO, MAURÍCIO L.; TEIXEIRA, MARIA GLÓRIA. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. Estudos Avançados, São Paulo, v. 22, n. 64, p.53-72, 2008.
- BESERRA, E. B. et al. Resistência de Populações de A. aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. Neotropical Entomology, Londrina, p. 303-307, 2007.
- BRAGA, I.A, GOMES, A.C., NELSON, M, MELLO, R.C.G. BERGAMASCHI, D. P, SOUZA, J. M. P. Comparative study between larval surveys and ovitraps to monitor populations of Aedes aegypti. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 33(4):347-353, jul-ago, 2000.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. A. aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v. 16, n. 4, p.279-293, 2007.

BRASIL, Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília, Ministério da Saúde, 160p, 2009.

CAMPOS, J, ANDRADE, C.F. S. Larval susceptibility of Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus populations to chemical inseticides. Rev. Saúde Públ. 37: 1-7, 2003.

DONATTI, J. E. & GOMES, A. C. Adultrap: Descrição de armadilha para adulto de Aedes aegypti (Diptera, Culicidae). Revista Brasileira de Entomologia. V.51, n.2, p.255-256, jun. 2007.

DONALISIO, M.; GLASSER, C. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. Rev Bras Epidemiol, São Paulo, v.5, n.3, p.259-279, dez. 2015.

EIRAS, A.E. Culicidae. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. Parasitologia Humana. 11.ed., Rio de Janeiro, Atheneu, 494p, 2005.

ERLANGER, T. E.; KEISER, J.; UTZINGER, J. Effect of dengue vector control interventions on entomological parameters in developing countries: a systematic review and meta-analysis. Medical and Veterinary Entomology 22, 203–221, 2008.

FOCKS, D.A. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. Gainsville: World Health Organization; 2003.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Dengue, Instruções para Pessoal de Combate ao vetor. Manual de Normas Técnicas. 3.ed. Brasília, Fundação Nacional de Saúde, 84p, 2001.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Zika, Chikungunya e Dengue. Disponível em: <<https://rededengue.fiocruz.br/noticias/31-zika-chikungunya-e-dengue-entenda-as-diferencas>>. Acessado em 20 de mar.18.

GAMA, RENATA ANTONACI et. al. Efeito da densidade larval no tamanho de adultos de A. aegypti criados em condições de laboratório. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Belo Horizonte, v. 38, n. 1, p.64-66, jan./fev. 2005.

GOULD, E A, SOLOMON, T. Pathogenic flaviviruses. The lancet. Feb, 2008.

LIMA, E.P.; OLIVEIRA-FILHO, A.M.; LIMA, J.W.O.; RAMOS JÚNIOR, A.N.; CAVALCANTI, L.P.G.; PONTES, R.J.S. Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.39, n.3, 259-263, 2006.

MARCONDES, C. B. Entomologia Médica e Veterinária. Atheneu, 2001.

MARICONI, F.A.M. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas. Vol. 1, ed.4, Editora Nobel, SP, 305 pp, 1980.

MASCHERETTI, M. et al. Febre amarela silvestre: reemergência de transmissão no estado de São Paulo, Brasil, 2009. Rev Saúde Pública, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 881-889, out. 2013.

MÉDICOS SEM FRONTEIRA. Dengue. Disponível em: < [https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/dengue?gclid=Cj0KCQiAjo\\_QBRC4ARIsAD2FsXMmst9AyOKtkf7n\\_Xf6-z6ygSeMIvtc58d22UhOCgSP8RzmM7n4JU8aAsyFEALw\\_wcB](https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/dengue?gclid=Cj0KCQiAjo_QBRC4ARIsAD2FsXMmst9AyOKtkf7n_Xf6-z6ygSeMIvtc58d22UhOCgSP8RzmM7n4JU8aAsyFEALw_wcB)>. Acessado em 27 de nov. de 2017.

MILLAR, J.G.; CHANEY, J.D.; BEEHLER, J.W.; MULLA, M.S. Interactions of the *Culex quinquefasciatus* egg raft pheromone with natural chemical associated with oviposition sites. Journal of the American Mosquito Control Association, v.10, n.3, 374-379, 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Febre de chikungunya: manejo clínico. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre\\_chikungunya\\_manejo\\_clinico.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/febre_chikungunya_manejo_clinico.pdf)>. Acesso em: 05 dez. 2017.

NAVARRO, D. M. A. F., OLIVEIRA, P. E. S., POTTING, R. P. J., BRITO, A. C., FITAL, S. J. F., SANT'ANA, A. E. G. The potential attractant or repelente effects of diferente water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Dipt., Culicidae). Journal of Applied Entomology, 127: 46-50, 2003,

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE L, J.E. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool



for the control and monitoring of Culicidae. *Revista Brasileira de Entomologia*. v.53, n.1, p.1-6, 2009.

NSOESIE, E. et al. Global distribution and environmental suitability for chikungunya virus, 1952 to 2015. *Euro Surveill* 21(20), 2016.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. 2.ed. Geneva: World Health Organization, 84p, 1997.

PAULINO, S. S. Estudo de Novos Atraentes de Oviposição de Fêmeas do Mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (*Diptera: Culicidae*), Universidade Federal de Alagoas, 2018.

PENNA, M. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. *Cad. Saúde Pública*. vol.19, n.1, pp.305-309, 2003.

PONNUSAMY, L., XU, N., NOJIMA, S., WESSON, D. M., SCHAL, C., APPERSON, C. S. Identification of bacteria and bacteria-associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105: 9262-9267, 2008.

PORTAL DA SAÚDE. Dengue. Disponível em: <[http://dab.saude.gov.br/portaldab/combate\\_aedes\\_aegypti.php?conteudo=links\\_interesse](http://dab.saude.gov.br/portaldab/combate_aedes_aegypti.php?conteudo=links_interesse)>. Acesso em: 10 de jul. 2018.

RAWLINS, S.C. *et al.* A comparison of surveillance system for the dengue vector *Aedes aegypti* in Porto of Spain, Trinidad. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14: 131-136, 1998.

RESENDE, M.C; SILVA, I. M; EIRAS, A.E. Operational evaluation of a sticky trap in the monitoring of *Aedes aegypti*. *Epidemiol. Serv. Saúde*, vol.19, n.4, pp.329-338. ISSN 1679-4974, 2010.

SANTOS, E. M. M., CORREIA, J., MUNIZI, L., MELADO, M., ALBURQUERQUE, C. Oviposition Activity of L. (Dipt., Culicidae) in Response to different Organic Infusions, Public, health, Recife, 2010.

SEENIVASAGAN, T.; SHARMA, K. R.; GANESAN, K.; PRAKASH, S. Electrophysiological, flight orientation and oviposition response of three species of mosquito vectors to hexadecyl pentanoate: residual oviposition repellent activity, *Journal Medical Entomology*, v.47, n.3, 329-337, 2010.

SILVA, JESIEL SOUZA; MARIANO, ZILDA DE FÁTIMA; SCOPEL, IRACÍ. A dengue no brasil e as políticas de combate ao a. Aegypti: da tentativa de erradicação às políticas de controle. *Hygeia*, Uberlândia, v. 3, n. 6, p.163-175, 2008.

SINGHI, *et al.* Dengue e dengue hemorrágico: aspectos do manejo na unidade de terapia intensiva-Pediatria, Rio de janeiro, v.83, n.2, Porto Alegre. Maio, 2007.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle da dengue no Brasil, cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública. Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro. 18(3), 867-871, mai-jun, 2002.

TEIXEIRA, M.G.; COSTA, M.C.N.; BARRETO, M.L.; BARRETO, F.R. Epidemiologia do dengue em Salvador-Bahia, 1995-1999, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n.3, p.269-274, 2008.

UOL, Zika e Microcefalia <<https://noticias.uol.com.br/saude/listas/la-vem-o-fumace-contra-o-mosquito-da-dengue-mas-como-fica-a-sua-saude.htm>>. Acessado em 16 de nov.18.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Dengue and severe dengue. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>>. Acesso em: 13 jun. 2017.