

CAPÍTULO 46

DOI: <https://doi.org/10.58871/conimaps24.c46>

AÇÃO LARVICIDA DE *Bromelia laciniosa* (MART. EX SCHULT) SOBRE LARVAS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762)

LARVICIDAL ACTION OF *Bromelia laciniosa* (MART. EX SCHULT) ON LARVAE OF *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762)

CARLOS HENRIQUE ARAUJO DIAS

Doutorando em Ciências da Saúde pela Universidade de Pernambuco

MARLOS GOMES MARTINS

Doutor da Universidade Federal do Vale do São Francisco

CARLA MARIA DO CARMO RESENDE MARTINS

Doutoranda da Universidade Federal do Vale do São Francisco

BIANCA ARAUJO DIAS

Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal do Vale do São Francisco

IZABELLE SILVA DE ARAUJO

Doutoranda em Ciências da Saúde pela Universidade de Pernambuco

JULIANA FONSECA NOGUEIRA ALVES

Doutoranda em Ciências da Saúde pela Universidade de Pernambuco

TAISY CINTHIA FERRO CAVALCANTE

Doutora da Universidade de Pernambuco

RESUMO

Os Culicidae se destacam como sendo os insetos mais relacionados ao homem. Dentre estes, se destaca o *Aedes aegypti*, vetor responsável pela disseminação de diferentes arboviroses como a dengue, febre amarela, zika e chikungunya. Devido à falta de vacinas e tratamentos específicos para a maioria das doenças transmitidas pela espécie, todos os esforços de controle estão voltados para o controle do vetor. Como meio de controle mais utilizados se destacam os métodos químicos, porém, além de serem tóxicos ao homem, há vários relatos na literatura de populações do mosquito se tornando resistentes. Assim, a descoberta de novos ativos para controle do mosquito se torna necessária, principalmente de fontes naturais. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação larvicida de extrato e frações de *Bromelia laciniosa* sobre larvas de *A. aegypti*. Para isso, larvas de *A. aegypti* da linhagem Rockefeller foram submetidas a diferentes concentrações do extrato etanólico bruto e das frações acetato de etila, clorofórmica e éter de petróleo de *B. laciniosa*. O tratamento durou 72h e a contagem das larvas mortas foi realizada em 24 e 72h. Os dados de mortalidade obtidos foram utilizados para obtenção da taxa de mortalidade, a qual foi utilizada para o cálculo da Dose Letal. Ao final dos experimentos, foi encontrado efeito larvicida nas frações de clorofórmio e acetato de etila, com respectivas taxas de mortalidade de larvas de 77% e 83% em 72h de exposição. Os resultados

do cálculo da Dose Letal Mediana para estas frações sugerem a presença de ativos com potencial larvicida para as frações. Assim, a espécie *Bromelia laciniosa* pode ser caracterizada como detentora de ativos potencialmente larvicidas.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; controle vetorial; *Bromelia laciniosa*.

ABSTRACT

The Culicidae stands out as being the insects that are most related to man. Among them, the *Aedes aegypti*, vector responsible for the dissemination of several arboviruses such as dengue, yellow fever, zika and chikungunya. Due the lack of vaccines and specific treatment to most of these diseases that are transmitted by this species, all the efforts for treatment are directed on the vector control. The chemical methods are the most commonly used means of control, however, they are poisonous to humans, and also there are many reports on the literature of populations of the mosquitos becoming resistant to it. So, the discoveries of new actives for the mosquito control have become necessary, mainly of natural sources. That way, this work had as its goal to evaluate the larvicide action of extract and fractions of *Bromelia laciniosa* on *A. aegypti* larvae. For that, *A. aegypti* larvae of the Rockefeller lineage were submitted to different concentrations of raw ethanol extract, ethyl acetate, chloroform and petroleum ether fractions of *B. laciniosa*. The treatment lasted 72h and the count of dead larvae was made between 24 and 72 hours. The mortality data obtained were used to get the mortality rates, which were used to calculate the mortal dosage. By the end of the experiment, it was found a larvicide effect at the fractions of chloroform and ethyl acetate, with the respective mortalities rates of 77% and 83%, within 72 hours of exposition. The results of the calculation of the Average Lethal Dose for these fractions suggest the presence of assets with larvicidal potential for the fractions. Therefore, the *Bromelia laciniosa* species can be characterized as holder of potentially larvicidal assets.

Keywords: *Aedes aegypti*; vector control; *Bromelia laciniosa*.

1 INTRODUÇÃO

Os Culicidae são a classe de insetos mais relacionados ao homem, abrangem os mosquitos ou pernilongos, se desenvolvem por holometabolía e são principalmente aquáticos, pois é na água que se alimentam e se desenvolvem até a fase de adulto alado (Forattini, 2002). Dentre os culicídeos de importância epidemiológica, o *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) se destaca como o principal transmissor da dengue e da febre amarela urbana, com uma estimativa de que, só para dengue, hajam 390 milhões de infecções por ano, sendo uma das maiores prioridades de Saúde Pública mundial (Consoli; Oliveira, 1994; WHO, 2004; Bhatt et al., 2013).

Estudos recentes colocaram o *A. aegypti* como transmissor de outros vírus, como o Chikungunya vírus (CHIKV) e Zika vírus (ZIKV). Essas arboviroses apresentam sinais e sintomas clinicamente parecidos com os da dengue – febre de início agudo, dores articulares e musculares, cefaleia, náusea, fadiga e exantema – porém, o CHIKV apresenta dores mais

severas (Brasil, 2014).

Devido à sua importância como disseminador de doenças, foi implantado no Brasil, no ano de 1996, o Plano de Erradicação do *A. aegypti* (PEAa), porém, em 2001, sofreu modificações e passou a considerar apenas o controle do vetor, com a criação de diretrizes voltadas para a prevenção e o controle, através do Plano Nacional de Controle da Dengue (PNCD). Este, envolve dez componentes principais: vigilância epidemiológica, combate ao vetor, assistência aos pacientes, integração com atenção básica, ações de saneamento ambiental, ações integradas de educação em saúde, comunicação e mobilização social, capacitação de recursos humanos, legislação, sustentação político-social e acompanhamento e avaliação do PNCD (Brasil, 2002a; Braga; Valle, 2007a).

Porém, o fato de serem cosmopolitas e de sua fácil adaptabilidade a diversos criadouros (artificiais e naturais), faz com que o combate ao vetor seja cada vez menos efetivo. Atualmente, como forma de combate ao mosquito, destaca-se o emprego de agentes químicos, por meio do uso de inseticidas inorgânicos e compostos orgânicos sintéticos, os quais podem ser neurotóxicos, análogos de hormônio juvenil ou inibidores de síntese de quitina, utilizados para combater as larvas e as formas adultas. Porém, tais métodos trazem diversos problemas ambientais e toxicológicos (WHO, 1996; Santos et al., 2006; Braga; Valle, 2007b).

Além disso, vários estudos têm relatado mosquitos de *A. aegypti* resistentes aos inseticidas em diversos países, incluindo no Brasil, fazendo-se necessária a descoberta e utilização de novos inseticidas, ou substituí-los por métodos físicos e/ou por agentes biológicos de combate (Donalisio; Glasser, 2002; Carvalho et al., 2004). Assim, a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2009) enfatiza a necessidade do desenvolvimento de novos compostos inseticidas contra os vetores da dengue que sejam seguros, causem o mínimo de impacto ambiental e tenham novos mecanismos de ação.

Na literatura, vários estudos têm demonstrado a presença de compostos inseticidas nas plantas, capazes de afetar os processos biológicos de crescimento e desenvolvimento de organismos-alvos (Balandrin et al., 1985; Maciel et al., 2010). Em relação ao *A. aegypti*, diversos estudos têm chamado a atenção para os produtos naturais com atividade larvicida, os quais podem ser úteis no controle do vetor, demonstrando o potencial biotecnológico das espécies botânicas no combate à vetores e a importância de estudos sobre o tema (Silva et al., 2003; Guimarães et al., 2013).

Dessa forma, a utilização de extratos de plantas com efeitos larvicida e inseticida surge como uma alternativa de controle químico de forma menos nociva ao meio ambiente. A família Bromeliaceae, a qual pertence a espécie *Bromelia laciniosa* (Mart. ex Schult), tem bastante

representatividade no Brasil. Porém são espécies pouco estudadas na área química e farmacológica, tornando necessária a realização de estudos com a espécie para conhecer seus potenciais biotecnológicos (Manetti; Delaporte; Laverde-Júnior, 2009). Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade larvicida do extrato e frações de *Bromelia laciniosa* sobre o desenvolvimento das formas imaturas de *Aedes aegypti*.

2 METODOLOGIA

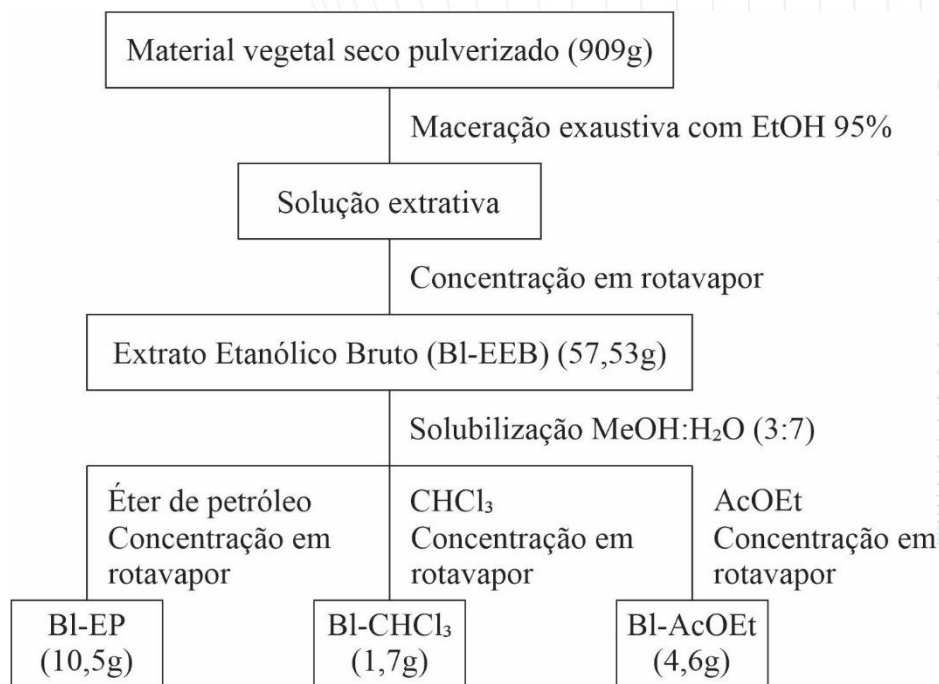
2.1 Obtenção dos ovos

Para a realização do experimento foram utilizados ovos de *A. aegypti* da linhagem *Rockefeller*, cedidos pelo laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf).

2.2 Obtenção dos extratos e frações de *Bromelia laciniosa*

As folhas de *Bromelia laciniosa* Mart. ex Schult. f. (Bromeliaceae) foram coletadas na localidade de Lagoa dos Cavalos, coordenadas [08° 59' 16.90" S e 40° 35' 20.60" W], no município de Petrolina-PE em maio de 2015. Os extratos e frações foram confeccionados no Núcleo de Estudo em Plantas Medicinais (NEPLAME) conforme o fluxograma (Figura 3).

Figura 3. Fluxograma demonstrando a obtenção do BI-EEB e seu fracionamento a partir das folhas de *B. laciniosa*.



2.3 Ensaio de atividade larvicida

Para o ensaio da atividade larvicida foram utilizados o extrato etanólico bruto (BI-EEB)

e as frações acetato de etila (BI-AcOEt), éter de petróleo (BI-EP) e clorofórmica (BI-CHCl₃) de *B. laciniosa*. Os bioensaios compreenderam os grupos testes, grupo controle (apenas água destilada) e controle testemunho (água destilada + DMSO 1%).

Para os bioensaios foram eclodidos aproximadamente 1.000 ovos – de maneira sincronizada – em água em um sistema hermeticamente fechado por 60 minutos. Após a eclosão, as larvas foram transferidas para uma bandeja plástica (30x15 cm) e alimentadas com ração para répteis Alcon® (0,04 g/dia) até chegarem ao estágio 3 (L3).

Para montagem do experimento, as larvas em L3 foram transferidas com o auxílio de uma pipeta Pasteur (10 larvas para cada tratamento) para copos plásticos de 50 mL, contendo 10 mL de uma solução dos extratos e frações de *B. laciniosa* em água destilada e DMSO 1%, nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62,5 µg/mL para as frações e de 1000 µg/mL para o extrato bruto. O experimento foi realizado em triplicata e mantido a uma temperatura de 25 ± 1°C.

As observações foram realizadas após 24 horas e 72 horas de exposição das larvas aos tratamentos, sendo realizada a contagem da mortalidade larval, considerando como mortas às larvas que não reagiram a estímulos mecânicos (estimulação por pinça).

2.4 Análise estatística

Os resultados das contagens foram utilizados para a determinação da Dose Letal 50 e 90 (DL50 e DL90).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios com o extrato etanólico bruto (BI-EEB) resultaram em uma baixa toxicidade larval (L3), concentrada apenas na avaliação de 72 horas de tratamento, com uma taxa de mortalidade de 43%. Resultados similares foram encontrados por Ramos et al. (2015), o qual classificou o extrato etanólico bruto de cascas de caule de *Licania macrophylla* Benth sobre larvas em L3 de *A. aegypti* como atóxico, devido à baixa atividade larvicida do extrato.

Estes resultados podem estar relacionados a características do próprio extrato etanólico bruto, o qual contém diversos metabolitos secundários e em concentrações relativamente baixas, o que pode dificultar a ação específica de algum possível componente químico com atividade larvicida.

As frações acetato de etila (BI-AcOEt) e clorofórmica (BI-CHCl₃) de *B. laciniosa* demonstraram a presença de atividade larvicida, sempre nas concentrações acima de 125

$\mu\text{g/mL}$, sendo a fração BI-AcOEt a que se mostrou com maior eficiência, com uma taxa de mortalidade de 70% e 83% em 24 e 72 horas, respectivamente. A fração BI- CHCl_3 , por sua vez, apresentou uma taxa de mortalidade de 43% e 77% em 24 e 72 horas. Em relação a fração éter de petróleo (BI-EP), está foi capaz de matar as larvas apenas na análise de 72 horas, com o valor máximo de mortalidade de 20%.

No estudo de Guimarães e colaboradores (2013), foi encontrado uma alta taxa de mortalidade para a fração AcOEt de extratos de *Neoregelia compacta* (Mez) L.B. Smith e *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker sobre as formas imaturas de *A. aegypti*, com taxas de mortalidade de até 100%. Isso demonstra o potencial da fração AcoEt de extratos no isolamento de ativos contra as formais larvais de *A. aegypti*, o que pode ser visto nesse trabalho, o qual apresentou alta taxa de mortalidade para a fração.

A família Bromeliaceae vem sendo estudada de diversas maneiras, principalmente na identificação dos componentes químicos e isolamento de atividades farmacológicas a partir de seus compostos orgânicos, tais como flavonoides, triterpenoides, esteroides, derivados do ácido cinâmico e outros (Manetti; Delaporte; Laverde-Júnior, 2009; Cruz, 2014; Oliveira-Júnior et al., 2014).

Triagens e caracterizações fitoquímicas realizadas por Cruz (2014), demonstram a presença de ativos das classes de alcalóides, cumarinas, flavonóides, triterpenos, esteróides, mono e diterpenos, derivados antracênicos, derivados cinâmicos, naftoquinonas e fenilpropanoglicosídeos nos extratos e frações de *B. laciniosa*, espécie utilizada nesse estudo.

Nas frações BI-AcOEt e BI- CHCl_3 , destacam-se a presença de compostos fenólicos, que são constituintes abundantes dentro da família Bromeliaceae, principalmente flavonas e flavonóis (Cruz, 2014). Acredita-se que tais componentes podem ser os responsáveis pelo efeito larvicida encontrado nas frações.

A importância do isolamento dos metabolitos secundários nos extratos vegetais é essencial para identificar quais desses compostos agem de forma direta como larvicida, por isso, são necessários mais estudos com a espécie, principalmente devido à carência de informações sobre a família Bromeliaceae para este fim.

Em relação à Dose Letal Mediana (DL50) (tabela 1), destacam-se as frações de BI-AcOEt (DL50 = 297,75 $\mu\text{g/mL}$ para 72h) e BI- CHCl_3 (DL50 = 566,42 $\mu\text{g/mL}$ para 72h). Apesar de serem classificadas como atóxicas (DL50 > 100 $\mu\text{g/mL}$), deve-se considerar que as substâncias se tratam de frações de extratos, os quais por vezes abrigam uma grande diversidade de componentes ativos (Ramos et al, 2015). Mesmo assim, os valores de DL, no geral, apresentaram-se abaixo de 1000 $\mu\text{g/mL}$ para as frações BI-AcOEt e BI- CHCl_3 , demonstrando

a presença de agentes larvicidas.

Tabela 1. Atividade larvicida das frações AcOEt, EP e CHCl₃ (em µg/mL) sobre larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti*.

Frações	DL ₅₀ (24h)	DL ₅₀ (72h)	DL ₉₀ (24h)	DL ₉₀ (72h)
BI-AcOEt	694,39	297,75	1234,03	465,46
BI-EP	-*	1175,88	-*	3127,43
BI-CHCl ₃	4553,11	566,42	11429,33	966,32

*Sem ação larvicida detectada

Tendo em vista os dados analisados, as frações BI-AcOEt e BI-CHCl₃ apresentaram potencial larvicida, destacando-se o BI-AcOEt, pela sua alta taxa de mortalidade e baixo DL50. Diante disso, pode-se reconhecer que a espécie *Bromelia laciniosa* possui potencial larvicida. Todavia, é necessário a realização de novos experimentos para avaliar a toxicidade do extrato e a sua influência sobre o desenvolvimento dos insetos. Ademais, também é importante a purificação das frações para isolamento dos ativos larvicidas, a fim de possibilitar seu uso efetivo como método de controle do *A. aegypti*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados das análises apontam para a presença de ativos na espécie *Bromelia laciniosa* com potencial larvicida para as formas imaturas de *Aedes aegypti*. Neste trabalho, as frações clorofórmica e acetato de etila se destacaram pelos valores de mortalidade e Dose Letal 50, os quais podem servir de base para novos estudos que visem alternativas para controle de vetores. Todavia, apesar dos testes *in vitro* demonstrarem uma evidente ação larvicida, ainda são necessários mais estudos, em especial para o isolamento dos compostos presentes nas frações, a fim de identificar os ativos com potencial larvicida para seu uso no controle de vetores.

REFERÊNCIAS

BALANDRIN, M. F. et al. Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. *Science*, v. 228, n. 4704, p. 1154-1160, 1985.

BHATT, S. et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, v. 496, n. 7446, p. 504-507, 2013.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. *Epidemiologia e serviços de saúde*, v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007a.

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, 2007b.

BRASIL. Monitoramento dos casos de dengue até a Semana Epidemiológica (SE) 41 e febre de chikungunya até a SE 42 de 2014. **Boletins Epidemiológicos**. Brasília: Ministério da Saúde. 2014.

BRASIL. Programa Nacional de Controle da Dengue. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 2002a.

CARVALHO, M. S. L. et al. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to the insecticide temephos in the Federal District, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 623-629, 2004.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994. 228 p.

CRUZ, M. P. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de *Bromelia laciniosa* Mart. ex Schult. f. (Bromeliaceae). 2017. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Pernambuco, Petrolina, 2017.

DONALISIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, p. 259-279, 2002.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia**. São Paulo: Edusp, 2002. 860 p.

GUIMARÃES, M. G. A. et al. Ação dos extratos de *Neoregelia compacta* (Mez) L.B. Smith e *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker sobre as formas imaturas de *Aedes (Stegomyia) aegypti*, Linnaeus, 1762. **Revista Fitos**, v. 8, n. 2, p. 73-160, 2013.

MACIEL, M. V. et al. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, p. 105-112, 2010.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE-JÚNIOR, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v. 32, n.7, p. 1885-1897, 2009.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G. et al. The first flavonoid isolated from *Bromelia laciniosa* (Bromeliaceae). **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 8, n.14, p. 558-563, 2014.

RAMOS, R. S. et al. Estudo físico-químico e avaliação do potencial larvicida do extrato etanólico das cascas do caule de *Licania macrophylla* Benth. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 74-78, 2015.

SILVA, J. G. et al. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), em criadouros artificiais. **Revista de Patologia Tropical**, v. 32, n. 1, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chemical methods for the control of vectors and**



III EDIÇÃO

CONIMAPS

pests of public health importance. Geneve: WHO; 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue Hemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control.** Geneva, Switzerland: WHO. 2009.

REALIZAÇÃO:



APOIO:

