CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE - FACES
CURSO: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Clerrane Santana de Souza

Avaliação do efeito larvicida de extratos etanólicos de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) para o controle de *Aedes Aegypti*

BRASÍLIA - DF
2023

Clerrane Santana de Souza

Avaliação do efeito larvicida de extratos etanólicos de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) para o controle de *Aedes Aegypti*

Trabalho de monografia apresentado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Centro Universitário de Brasília - CEUB
Orientadora: Dra. Francislete Melo Rodrigues

BRASÍLIA - DF
2023

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu grande amigo Guilherme Feitosa (*in memoriam*) que em 2018 foi o meu maior incentivador para desenvolver este trabalho, assim como me ofereceu suporte durante toda graduação. Dedico ainda a minha prima Ester Batista (*in memoriam*) que agora brilha em luz após lutar contra LGBTfobia e depressão. Onde quer que vocês estejam me dão força e me fazem mais potente para lutar pra que cada vez pessoas pretas, LGBTQIA+ se sintam livres e pertencentes a espaços especialmente o ambiente acadêmico, fazendo ciência e história, contrariando todas as estatísticas do sistema. Vocês nunca serão esquecidos.

Dedico ainda a Clerrane que sempre acreditou na educação, a de 2017 que vendia café às 3h da manhã para se manter na faculdade, assim como a de 2021 que enfrentou crises depressivas e ainda assim soube respeitar seu tempo de cura e reconexão e hoje mais do que nunca acredita em toda sua resistência e vitalidade. Que esse trabalho me lembre todos os dias da minha capacidade e me lembre que mesmo os dias ruins, em que nada faz sentido e parecem não acabar, uma hora chegam ao fim e as coisas voltam a fazer sentido. Nós conseguimos, nós vencemos, estamos vivas!!!

Agradecimentos

Agradeço ao Centro de Estudos Ambientais do Condomínio RK de Sobradinho sob os cuidados da Priscila que prontamente atendeu minha solicitação e viabilizou a liberação dos ovos de *Aedes* utilizados nesta pesquisa. Igualmente agradeço a professora Rafaella Albuquerque que nos auxiliou no processo de parceria com a Secretaria de Saúde do Ceará. Sem vocês esse trabalho não seria possível.

Agradeço à minha querida orientadora Dra. Francislete Melo pela confiança no meu trabalho, assim como por todo suporte e apoio durante todo o processo de elaboração deste trabalho, por ter me dado suporte e conforto em todos os momentos de aflição assim como por toda sua competência e compromisso com a ciência e educação. Ao querido professor da disciplina Raphael Igor pelas orientações e comprometimento durante todo o curso especialmente na disciplina de monografia. A todos meus queridos professores do curso que são parte fundamental no meu processo de formação. Carrego um pouco de cada um de vocês em mim e espero um dia representar aos meus futuros alunos ao menos um pouco do que vocês representam em minha vida. A educação mudou minha história, e vocês são parte importante disso e com certeza quero repassar esse legado adiante.

Agradeço a minha querida amiga e coordenadora Andrea Libano e professora Lélia Romero por nunca desistirem de mim e sempre acreditarem no meu potencial como aluna, profissional e ser humano. Toda conquista, sinto vocês comigo, pois sem o suporte de vocês eu não teria chegado até aqui. Palavras nunca serão suficientes para agradecer a vocês.

À minha esposa Amanda Cassiano e ao meu pai Domingos Batista, meu maior incentivador, que desde 2018 quando esse trabalho ainda era um projeto de estágio me auxiliaram indo a campo, coletando e catalogando espécimes para a pesquisa. Em especial a Amanda que me auxiliou em todo o processo, desde coleta até intercorrências durante o experimento, sempre com paciência, cuidado, amor e parceria. Agradeço ainda ao querido colega Donner por ter me auxiliado nas monitorias e sido luz na minha mente em dias cinzas. Por último, mas não menos importante, a minha irmã, Crisllane Santana, que sempre lutou ao meu lado minhas lutas mais difíceis, a minha mãe Cristiane Santana pela vida e amor depositados em mim e ao meu irmão Álefe por ser nosso menino querido.

Avaliação do efeito larvicida de extratos etanólicos de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*) e Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) para o controle de *Aedes Aegypti.*

SOUZA, C.C; RODRIGUES, F.M

Resumo

As doenças transmitidas pelo vetor Aedes são um problema de saúde pública no Brasil e hoje o controle vetorial é o principal método de contenção dessas doenças. Considerando a problemática de resistência a inseticidas químicos e problemas de contaminação do meio ambiente, a busca por métodos complementares de controle deste inseto vem ganhando força nos últimos anos. O objetivo deste trabalho foi avaliar por meio de ensaios biológicos o efeito larvicida de extratos de cajuzinho do cerrado (*A. humile*) e alecrim (*R. officinalis*) em larvas de *Aedes*. A obtenção dos extratos etanólicos foi pelo método de maceração com agitação por 7 dias em etanol 96°a temperatura ambiente. Foram feitos bioensaios em placas de Petri com larvas em estágio de desenvolvimento 3. Os extratos brutos foram testados em concentrações de 1% e 2% (v/v) diluídos em água destilada (volume final 10mL). Já o controle negativo continha apenas 10mL de água, enquanto o controle positivo foi feito usando-se 2% de água sanitária comercial para um volume final também de 10 mL. Em cada placa foram adicionadas 10 larvas e a contagem de larvas mortas foi realizada em 12h, 24h e 48h de exposição. Os resultados foram avaliados com teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Dunn. O extrato de cajuzinho apresentou o mesmo efeito larvicida que o controle positivo (água sanitária) na concentração de 2% em 12h e 24h ($p>0,05$), entretanto houve diferença estatística quando usado na concentração de 1%. Contudo, quando comparado ao controle negativo o tratamento de 1% de cajuzinho foi visivelmente diferente em 24h e 48h ($p<0,01$). O extrato de alecrim na concentração de 1% e 2% não apresentou diferença estatística com o grupo controle (água sanitária) com p ($>0,05$) em 12h, 24h e 48h. Na concentração de 2% nas primeiras 12h, observamos um resultado mais efetivo que o de água sanitária, com 85% de mortalidade enquanto que a água sanitária provocou apenas 78% de mortalidade. Esses resultados indicam que os extratos aqui testados, atuam de forma tóxica em larvas de Aedes em estágio 3 e apontam para a possibilidade de um novo método de controle deste vetor. Esta pesquisa gerou dados com possível aplicabilidade para o uso doméstico de extratos de plantas, principalmente o alecrim, para o controle de larvas de *Aedes* de forma simples, natural e de baixo custo, a qual pode ser complementar ao uso de inseticidas químicos. Estudos com isolados de compostos presentes nos espécimes utilizados e/ou junção para potencializar seu efeito larvicida, bem como testes de possíveis efeitos tóxicos dos extratos em outros grupos taxonômicos devem ser realizados futuramente.

Evaluation of the larvicidal effect of ethanolic extracts of cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) for the control of *Aedes Aegypti*.

Abstract

Diseases transmitted by the *Aedes* vector are a public health problem in Brazil and today vector control is the main method of containment of these diseases. The problem of resistance to chemical insecticides and environmental contamination problems, search for complementary methods of control of this insect has been gaining strength in recent years. The objective of this study was to evaluate the larvicidal effect of extracts of Cajuzinho do cerrado (*A. humile*) and rosemary (*R. officinalis*) in larvae of *Aedes*. The ethanolic extracts were obtained by maceration method with stirring for seven days in ethanol 96 at room temperature. Bioassays were performed on Petri dishes with larvae in stage of development 3. The crude extracts were tested at concentrations of 1% and 2% (v/v) diluted in distilled water (final volume 10ml). The negative control contained only 10ml of water, while the positive control was done using 2% of commercial sanitary water for a final volume also of 10 mL. In each plate 10 larvae were added and the counting of dead larvae was performed in 12h, 24h and 48h of exposure. The results were evaluated with non-parametric Kruskal-Wallis test and post hoc Dunn test. The extract of Cajuzinho presented the same larvicide effect as the positive control (sanitary water) in the concentration of 2% in 12h, 24h and 48h of exposure. however statistical showed difference when used at a concentration of 1%. When compared to the negative control the treatment of 1% of Cajuzinho was visibly different in 24h and 48h ($p<0,01$). The extract of rosemary at the concentration of 1% and 2% did not present statistical difference with the control group (sanitary water) with p ($>0,05$) in 12h, 24h and 48h. In the concentration of 2% in the first 12 hours we observed a more effective result than the sanitary water, with 85% mortality while sanitary water caused 78% mortality. These results indicate that the extracts tested here act toxic in stage 3 Aedes larvae and point to the possibility of a new method of control of this vector. This research generated data with possible applicability for the domestic use of plant extracts, mainly rosemary, for the control of Aedes larvae in a simple, natural and low-cost way, which can be complementary to the use of chemical insecticides. Studies with isolates of compounds present specimens used and/or junction to enhance its larvicide effect, as well as tests of possible toxic effects of extracts in other taxonomic groups should be performed in the future.

Sumário

1 Introdução 7
2 Materiais e métodos 9
2.1 Obtenção dos ovos de *Aedes aegypti* 9
2.2 Obtenção do extrato etanólico bruto: 10
2.3 Eclosão dos ovos e identificação das larvas 11
2.4 Bioensaio 12
2.5 Universo e amostra: 14
2.6 Análise de dados 14
3 Resultados 14
3.1 Extrato de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*) 14
3.2 Extrato de alecrim (Rosmarinus officinalis) 18
6 Considerações finais 26

1 Introdução

O Brasil enfrenta há anos problemas de saúde pública relacionados às epidemias de doenças transmitidas pelo vetor *Aedes aegypti*. Trata-se de uma espécie invasora e cosmopolita que encontra em países tropicais condições climáticas que favorecem sua proliferação e o desenvolvimento. Possui hábitos antropofílicos e está estritamente relacionado com o meio urbano (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). De acordo com o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde de 2022 (BRASIL, 2022), houve um aumento de 175% nos casos de dengue, aumento de 80% nos casos de Chikungunya e 47% com relação à Zika comparado ao ano de 2021.

Estudos sugerem que esses aumentos dos casos de doenças transmitidas pelo Aedes podem estar relacionados com a pandemia de COVID-19 que podem estar associados com a redução de ações de prevenção e vigilância que incluem as visitações domiciliares por causa do isolamento social, além de programas de mobilização e conscientização nos veículos de comunicação. Outros fatores determinantes foram as sobrecargas dos sistemas e profissionais de saúde (MASCARENHAS; *et al*., 2020; SOUSA; *et al*., 2022; DOMINGUES, 2022).

Esse problema pode evidenciar fatores sociais como falta de saneamento básico, crescimento urbano acelerado e sem planejamento, serviços de limpeza urbana e/ou coleta seletiva inadequados, além de baixa escolaridade e entendimento das relações ecológicas com o meio. Esses determinantes sociais mostram que problemas de saúde pública estão relacionados com outros fatores além da etiologia e patogenicidade de doenças (SILVA; GUTERRES, 2019). Segundo dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2022), foram registrados 975 óbitos por dengue, 85 por Chikungunya e 1 por Zika. Esses são dados alarmantes, visto que mostram uma grande incidência de casos graves de doenças que resultaram em morte que tem impacto tanto social quanto econômico.

No Brasil, as formas de controle das doenças transmitidas por *Aedes*, são principalmente por meio do controle vetorial, visto que as vacinas são recursos relativamente recentes e com algumas restrições. Em especial, a vacina contra a dengue utilizada atualmente (Dengvaxia) na qual é restrita a quem já foi infectado, sendo eficaz em casos de reinfecção. Além disso, temos disponível a vacina contra a febre amarela (SES, 2022). Recentemente foi aprovada pela ANVISA uma nova vacina (Qdenga) contra os quatro sorotipos da dengue indicada ao público de 4 a 60 anos com ou sem infecção anterior pelo vírus (BRASIL, 2023; BRASIL, 2023).

Os serviços de saúde atuam em campanhas de vacinação em pacientes já infectados, além de tratamentos que aliviam os sintomas até que o ciclo do vírus seja concluído. Os principais métodos utilizados para o combate ao vetor da dengue, ainda são a utilização de inseticidas químicos e repelentes, medidas paliativas como programas de mobilização e campanhas de sensibilização sobre

a extinção de focos de oviposição do mosquito e atuação de guardas sanitários e agentes de saúde com visitação periódica às residências (BRASIL, 2009).

Com relação ao controle de pragas, o uso de inseticidas químicos ainda é o principal método de controle vetorial, pois apresenta vantagens no sentido de ação rápida e eficiente, no entanto o uso contínuo traz grandes problemas, entre eles o surgimento de populações resistentes (MACORIS; *et al.*, 2003; OMS, 2005). Além disso, apresentam alta toxicidade para outros organismos e impactos ao meio ambiente como contaminação do solo e de lençóis freáticos, levando à morte da microfauna de determinado local, o que pode comprometer todo o funcionamento ecológico de um ecossistema (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018).

Uma classe de inseticidas muito utilizados nos últimos anos no Brasil são os organoclorados, os quais se acumulam no tecido adiposo de aves, mamíferos, e peixes, consequentemente apresentando alta periculosidade, logo, foram proibidos em 1985. Os carbamatos são menos nocivos, visto que seus efeitos são inativados com uma semana de uso, o que acarreta no problema de maior utilização pelo curto tempo de ação (FILHO; AGUIAR; BARBOSA, 2017). Os inseticidas dessa classe são usados para o combate do Aedes e, de forma geral, atuam no sistema nervoso dos insetos, pois degradam enzimas que controlam a quantidade de moléculas que transmitem sinais entre as células nervosas, agindo como inibidores da acetilcolinesterase, por exemplo (OLIVEIRA; *et al.*, 2011).

Considerando esta problemática, se faz necessário o estudo de medidas complementares e viáveis de compostos com modos de ação diferentes e com eficácia e segurança comprovados. Com o avanço dos estudos, os métodos que utilizam moléculas naturais vêm ganhando força, um exemplo é o controle biológico de pragas. Tal mecanismo possibilita a substituição ou minimização do uso de inseticidas químicos e é uma alternativa sustentável, visto que preserva a saúde pública e o equilíbrio ambiental (PAVELA, 2015; OLIVEIRA; *et al*., 2013).

Uma fonte de moléculas naturais com potencial para bioprospecção de inseticidas são as plantas. Estas são organismos complexos que coevoluem com outros organismos, e isso lhes conferem capacidade de se defenderem de microrganismos e insetos. Elas apresentam em sua composição, constituintes químicos essenciais para seu desenvolvimento, e constituintes que não são essenciais, mas que proporcionam benefícios importantes para a manutenção da planta, os conhecidos metabólitos secundários (SIMÕES; *et al.*, 2017; PAVELA, 2015). Entre tais benefícios temos constituintes com função antioxidante (combate ao stress oxidativo), defensores contra possíveis competidores ou predadores e atrativos para possíveis polinizadores ou dispersores de sementes. A extração desses metabólitos secundários pode se dar por meio de extratos brutos alcoólicos ou óleos essenciais. Esses produtos apresentam alta concentração de compostos fenólicos (PERES; *et al*., 2021).

Entre estes compostos estão os taninos que são moléculas capazes de se ligar aos nutrientes e inibe sua disponibilidade além de reduzir o metabolismo de parasitas através da inibição da fosforilação oxidativa, uma rota metabólica empregada para a geração de adenosina trifosfato (ATP), principal molécula utilizada como combustível animal. A inibição dessa rota pode causar paralisia e morte larval (OLIVEIRA; MELO; LOUVANDINI, 2013 apud. ATHANASIADOU; *et al.*, 2001).

Sabemos que o cerrado apresenta uma grande biodiversidade na flora e isso tem sido um fator favorável para o estímulo a estudos voltados às plantas e seus respectivos constituintes, seja para a indústria farmacêutica para a produção de fitoterápicos ou para a agropecuária para a produção de herbicidas e inseticidas naturais (RODRIGUES; *et al.,* 2016). Observa-se uma grande eficiência desses compostos no sentido de controle de pragas que além de serem biodegradáveis, não apresentam uma alta toxicidade para o ambiente (PAVELA, 2015;).

O Cajuzinho do Cerrado (*Anacardium humile*) é uma espécie nativa do cerrado amplamente utilizado para fins gastronômicos e atualmente vem sendo pesquisado por suas características fitoterápicas (BRASIL, 2016). Estudos com a extração de compostos de diferentes partes dessa espécie demonstraram grande potencial para uso como controle de pragas e na fitoterapia por sua infinidade de compostos fenólicos. É possível realizar a extração de compostos como ácido anacárdico da sua castanha (GUISSONI; *et al*., 2013), suas folhas e casca do caule são ricas em saponinas, taninos, flavonóides e esteróides (ZUHARAH, *et al*., 2021; CARVALHO, 2018).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis)* é uma planta medicinal amplamente utilizada na medicina tradicional. Apresenta propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e estudos demonstram efeitos significativos no controle de pragas. Em sua composição são encontrados terpenos, terpenóides, além de cânfora (DIASS, *et al.*, 2021; OLIVEIRA; VEIGA, 2019).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade larvicida de extratos etanólicos de Cajuzinho do Cerrado (*Anacardium humile*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) obtidos por maceração para o controle populacional de larvas de *Aedes aegypti* em ensaios biológicos nas concentrações de 1% e 2% avaliando os resultados em tempos de exposição de 12h, 24h e 48h.

2 Materiais e métodos

2.1 Obtenção dos ovos de Aedes *aegypti*

A obtenção dos ovos foi feita em parceria com a Secretaria de Saúde do Estado do Ceará que cederam ovos da cepa Rockefeller (Figura 1). Além disso, outros ovos foram obtidos através do Centro de Estudos Ambientais do Condomínio RK (CEA-RK) em Sobradinho. O CEA por meio do Programa de Saúde Ambiental e Animal e em parceria com a Associação de Biólogos do DF (Assbio-

DF) implementou o projeto XÔ MOSQUITO, onde faz uso de ovitrampas para monitorar a presença de Aedes pela contagem de ovos por região. A coleta e monitoramento são feitos por Semana Epidemiológica (SE), assim como nos órgãos de vigilância em saúde, para gerar os boletins e avaliar os locais com maior incidência de ovos e assim direcionar as ações de serviços de saúde em locais com maior densidade de ovos (ASSBIO, 2023; ACIOLY, 2006).

Figura 1 - Cartela de ovos de *A. aegypti* cedida pela Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.



As ovitrampas são compostas por papel filtro, água com atrativo de levedo e *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) para evitar o crescimento dos ovos e se tornar um criadouro em potencial. Essa armadilha apresenta alta especificidade para o Aedes, uma vez que o *Cullex* faz a oviposição dentro da água e o BTI impede essa prole de se desenvolver, diferente do Aedes em que a oviposição é feita próxima à superfície da água (DEPOLI, et al., 2016). Para esta pesquisa, foram utilizados os filtros da SE 39 de 2022 à SE 12 de 2023. Pelo fato de os ovos serem resistentes à falta de água durante o período de até um ano, os filtros ficam armazenados em caixas no CEA em ambiente controlado sem umidade. Os filtros continuaram sem manipulação até se iniciarem os experimentos com o extrato.

2.2 Obtenção do extrato etanólico bruto:

O extrato etanólico foi obtido através do método de maceração. As drogas vegetais (folhas secas) foram obtidas comercialmente: Cajuzinho do cerrado (Produtos Melvina®) e o alecrim foi adquirido na loja Biomundo®. A partir desse material foi feito um fino pó com a ajuda de um liquidificador. Uma proporção de 1(p):5(v) do pó em etanol 96° foi deixada em maceração com agitação constante por sete dias a temperatura ambiente. Após esse período, o álcool foi evaporado a 50° C sob agitação de um agitador magnético. O volume final de um volume inicial de extrato bruto de 1000mL foi de 25mL.

2.3 Eclosão dos ovos e identificação das larvas

Para a eclosão dos ovos, os mesmos foram retirados dos filtros com o auxílio de um pincel. Para evitar a perda de ovos e facilitar a sua visualização, essa raspagem foi feita sob uma folha de papel A3 e posteriormente transferidos para um erlenmeyer com água destilada com o auxílio de um funil. Em condições normais, as larvas se nutrem de matéria orgânica presentes na água ou que decantam para o fundo do recipiente que está. Para esse ambiente controlado, foi utilizado ração de gato seguindo o protocolo descrito por protocolos de criação de Aedes em laboratório (ANJOLETTE; MACORIS, 2016; SILVA; SILVA. 1999; MARTINS; *et al.*, 2020) Além disso, durante a raspagem, partículas de musgo, pedaços de madeira e restos de outros insetos foram acrescentados ao erlenmeyer que também serviram de matéria orgânica para esses organismos.

As larvas não passaram por nenhum tratamento químico até atingirem o estágio 3, esse desenvolvimento da eclosão dos ovos até o estágio 3 ocorre de 3 a 7 dias (SILVA; *et al*., 2017). Ao atingir a terceira fase larval, as larvas foram contadas (10 larvas por bioensaio), e devidamente transferidas por meio de pipeta de Pasteur para placas de petri com 10 mL de água destilada (Figura 2) e as soluções em diferentes concentrações do extrato (1% e 2%) e para as soluções controle, somente 10 mL de água destilada para controle negativo e para controle positivo com 2% de água sanitária e volume final de 10mL.

Figura 2. Contagem e transferência das larvas para placas de Petri.



A identificação das larvas e seus estágios larvais foi feita com um estereomicroscópio, com as larvas em uma placa de Petri com água destilada onde foi possível observar as características descritas por Consoli e Oliveira (1994) na chave de identificação do gênero Aedes e da Nota técnica do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

2.4 Bioensaio

Este bioensaio foi realizado em Placas de Petri padronizadas com 10 mL de água destilada mais tratamentos conforme descritos no fluxograma (Figura 3). No grupo de tratamentos foram divididos um grupo controle positivo de 10 mL de água destilada com 200 uL de água sanitária, controle negativo (apenas 10 mL de água destilada) e o grupo experimental (com extratos em concentrações de 100 uL e 200 uL). O uso da placa de Petri foi para simular o ambiente no qual foi pensada essa hipótese de pesquisa, sendo um local micro visando o seu uso em pires de vasos de plantas. Os bioensaios de cajuzinho foram armazenados em temperatura ambiente na parte externa do laboratório de Ciências naturais, enquanto o grupo tratado com alecrim, armazenado em ambiente fechado. Figura 4 e 5.

Figura 3 - Fluxograma do bioensaio.

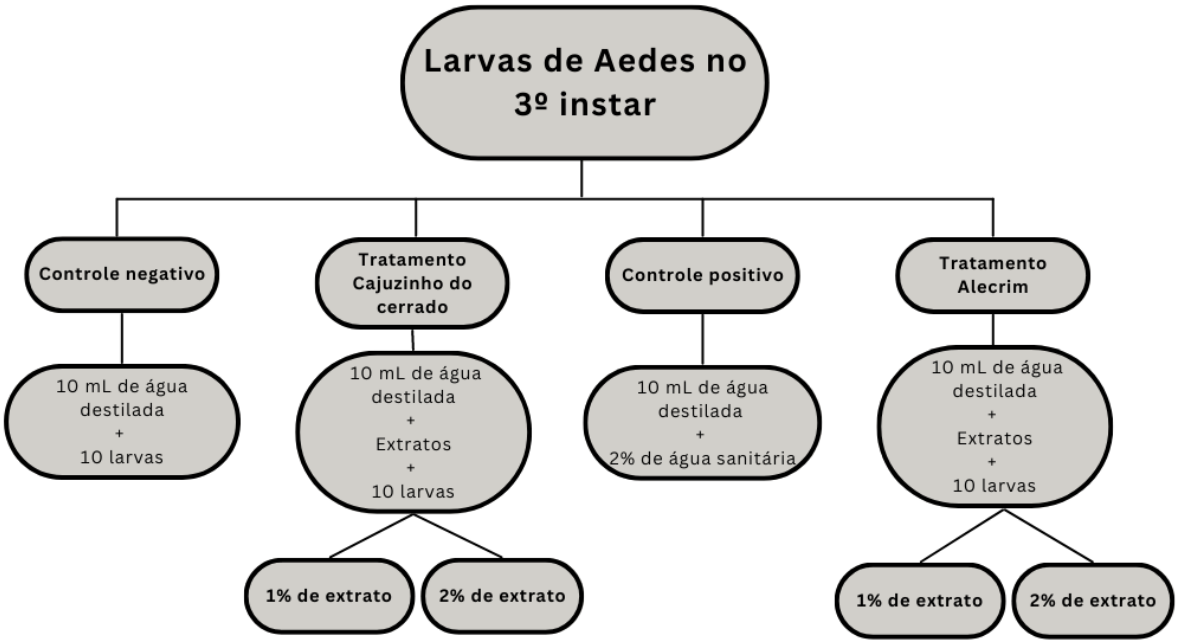


Figura 4 - Bioensaio de Alecrim

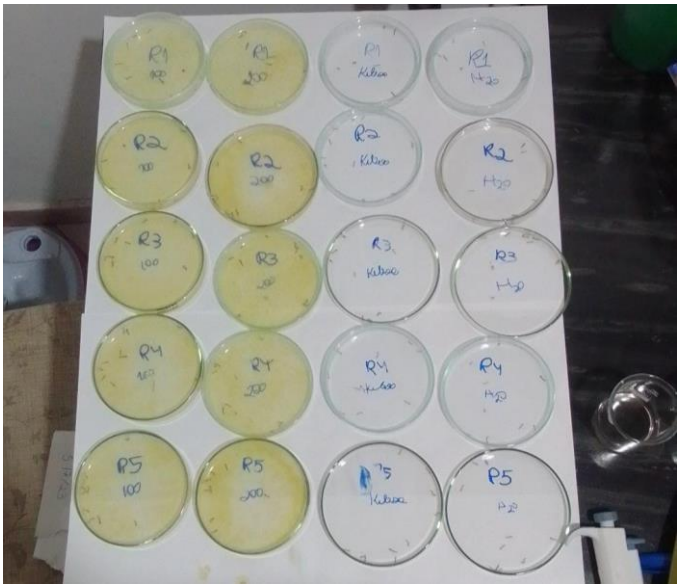
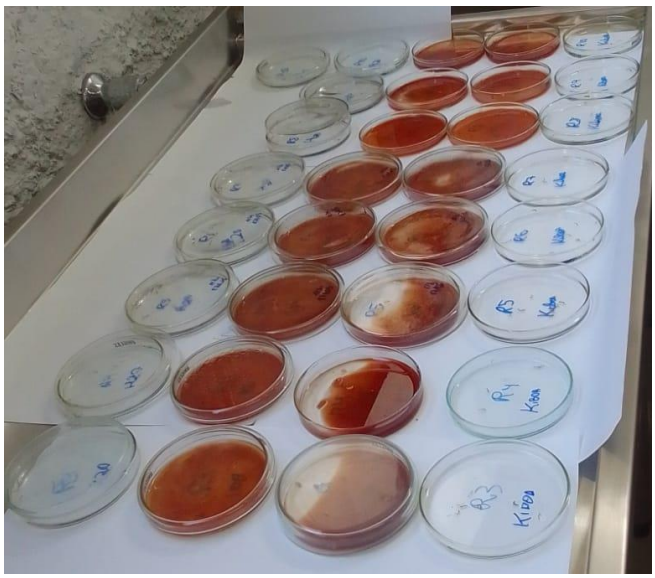


Figura 5 - Bioensaio de Cajuzinho do cerrado



As larvas foram expostas em diferentes concentrações do extrato de *A. humile* e *R. officinalis* e a leitura de mortalidade foi feita após 12, 24 e 48 horas de tratamento de acordo com metodologia adaptada de Torres *et al* (2014). As larvas que não apresentaram resposta a estímulos como luz e estímulos de choque mecânico com a pipeta foram consideradas mortas. As larvas que não foram utilizadas e/ou não apresentaram resposta ao extrato foram tratadas com água sanitária e descartadas.

2.5 Universo e amostra:

Foram realizadas 10 repetições para cada extrato com 10 larvas em cada placa de Petri com 10 mL de água destilada e 4 grupos por repetição, sendo 1 grupo controle negativo (água destilada), 1 grupo controle positivo (água sanitária) e 2 grupos de tratamento com diferentes concentrações (1% e 2%), totalizando para o cajuzinho 400 larvas e para o alecrim 400 larvas.

2.6 Análise de dados

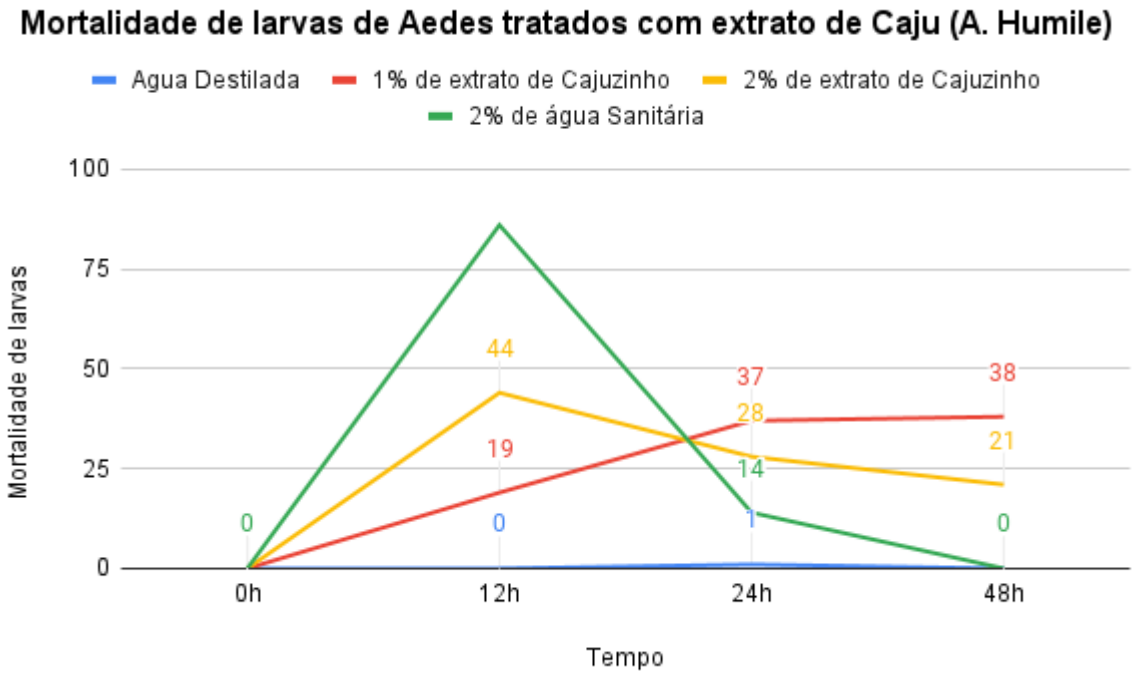
Os dados foram tabulados no Excel e posteriormente a análise de dados foi realizada através do software RStudio. Os resultados foram avaliados por meio de estatísticas descritivas de média, mediana e desvio padrão. Na análise estatística, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal Wallis com teste *post hoc* de Dunn para avaliar o nível de significância e diferença entre os grupos considerando $P < 0,05$. Para a comparação dos dois tratamentos de cajuzinho e alecrim, os grupos controle positivo foram agrupados e feita a média, assim como no grupo controle negativo.

3 Resultados

3.1 Extrato de cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*)

Os resultados do efeito larvicida do extrato de cajuzinho (*Anacardium humile*) estão expressos na Figura 6. Após as 12 horas de experimento, foi observado que houve uma mortalidade de 19% da população na concentração de 1% e na concentração de 2% mortalidade de 44%. Além disso, a figura mostra que o maior índice de mortalidade ocorreu nas primeiras 12h com uma mortalidade significativa nessas primeiras horas comparados aos outros tempos de exposição. Apesar de haver mortalidade em 24 e 48h, é possível inferir sobre a potencialidade dos extratos nas primeiras horas de exposição.

Figura 6 - Atividade larvicida do extrato de *A. humile* sobre larvas de *A. aegypt*i.



A máxima de mortes por placas com 1% e 2% em 48 horas foi de 6 e 5 respectivamente, e a mínima de 1 e 0. Esse dado demonstra que alguns indivíduos podem apresentar resistência aos efeitos dos extratos. Os grupos controle positivo e negativo não tiveram resultados significativos, sendo o grupo de água com uma única mortalidade dentre os 10 grupos e com algumas larvas que se transformaram em pupas. Por outro lado, o grupo tratado com água sanitária teve mortalidade de 100% das larvas dentro das primeiras 24h. Os resultados estatísticos de mortalidade de cajuzinho do cerrado são sintetizados na Tabela 1.

Tabela 1- Estatística descritiva da atividade larvicida do extrato de *Anacardium humile* sobre larvas de *Aedes aegypt*i.

Tratamento	Tempo	Média de mortalidade	Mediana	Máximo de morte por placa	Mínimo de mortes por placa	Desvio Padrão
1% de extrato	12h	1,9	2	5	0	1,29
1% de extrato	24H	3,7	4	6	3	0,95
1% de extrato	48H	3,8	4	6	1	1,48
2% de extrato	12h	4,4	4	9	2	2,32
2% de extrato	24H	2,8	3	5	1	1,23
2% de extrato	48H	2,1	3	5	0	1,79
Água Destilada	12h	0	0	0	0	0,00
Água Destilada	24H	0,1	0	1	0	0,32
Água Destilada	48H	0	0	0	0	0,00

Água Sanitária	12h	8,6	9	10	6	1,43
Água Sanitária	24H	1,4	2	4	0	1,43
Água Sanitária	48H	0	0	0	0	0,00

A Tabela 2 sintetiza a análise estatística e a diferença entre os grupos de tratamento. É possível verificar que todos os tratamentos diferiram entre si em todos os 3 tempos de exposição com valor de P <0,01.

Tabela 2 - Taxa de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* durante 12h, 24h e 48h com extrato de *A. humile* em diferentes concentrações e valor estatístico de Kruskal Wallis.

Tempo (h)	1% de extrato	2% de extrato	Água Destilada	Água Sanitária	P
12h	19%	44%	0%	86%	< 0,01
24h	37%	28%	1%	14%	< 0,01
48h	38%	21%	0%	0%	< 0,01
TOTAL	19%	44%	0%	86%	

De acordo com os valores expressos pelo teste de kruskal que avaliou a diferença entre tratamentos por tempo de exposição, é possível notar que há uma grande diferença entre os tratamentos. Os resultados do teste *post hoc* de Dunn ao tratamento de cajuzinho são demonstrados na tabela 3. Em todos os tempos de exposição os tratamentos com o extrato de *A. humile* com 1% e 2% tiveram o mesmo efeito, não diferindo estatisticamente (P>0,05). Por outro lado, quando comparados com o tratamento do controle positivo de água sanitária, a concentração de 1% nas 48h teve um P <0,01 demonstrando que o efeito dessa concentração não tem um efeito larvicida tão potente quanto o tratamento convencional.

Apesar de não ter o mesmo resultado que a água sanitária, o efeito larvicida de 1% de cajuzinho é efetivo após as 48h com mortalidade de 94% da população. Já a concentração de 2% de extrato comparado a água sanitária, não teve diferença nas primeiras 24h de tratamento (P> 0,05), tendo efeito similar ao do controle positivo nas 24h de exposição demonstrando estatisticamente que os tratamentos tiveram o mesmo efeito. Em 48h se observa um p<0,01, pois em 24h o controle positivo atingiu a mortalidade de 100% das larvas, não tendo mais amostras para se comparar com 2% de cajuzinho.

Apesar da concentração de 1% não apresentar diferença significativa com o tratamento convencional de controle de larvas (água sanitária), quando os tratamentos são comparados com o

grupo negativo de água destilada demonstra diferença significativa (P<0,01), de modo que a concentração de 1% a partir de 24h é melhor do que nenhum tratamento.

Tabela 3 - Diferença entre os tratamentos no bioensaio de *A. humile.*

Tratamentos	12H	24H	48H
1% de Cajuzinho x 2% de Cajuzinho	0.08914696	0.2502359	0.1531864
1% de Cajuzinho x Água Destilada	0.1393343	< 0,01	< 0,01
2% de Cajuzinho x Água Destilada	< 0,01	< 0,01	0.02446024
1% de Cajuzinho x Água Sanitária	< 0,01	0.01125247	< 0,01
2% de Cajuzinho x Água Sanitária	0.1163994	0.1983299	< 0,01
Água Destilada x Água Sanitária	< 0,01	< 0,01	1

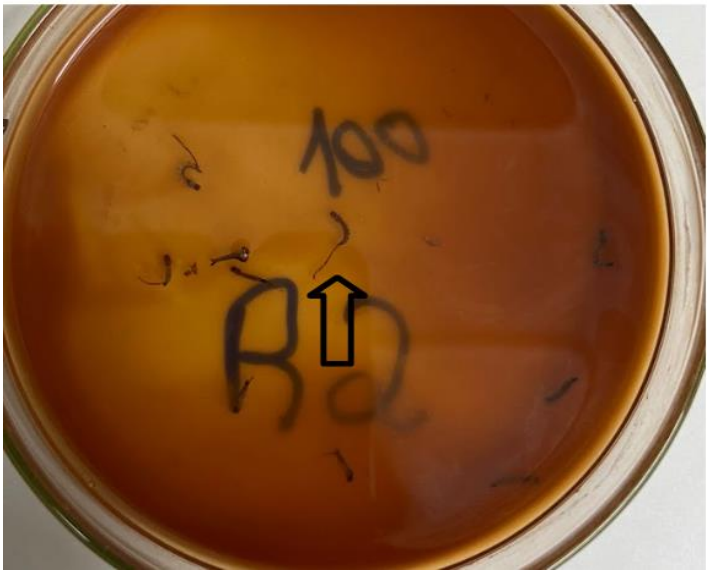
* *P-value*: significância de 0,05

Morfologicamente, no tratamento com cajuzinho foi possível observar uma evisceração das larvas mortas, conforme mostra a figura 7a em vista com uso do estereomicroscópio. A olho nu essa evisceração também é vista conforme figura 8.

Figura 7a. Larva morta com evisceração do trato gastrointestinal. 7b Larva viva com estruturas internas íntegras.



Figura 8- Vista macroscópica de larvas com protusão do trato gastrointestinal.

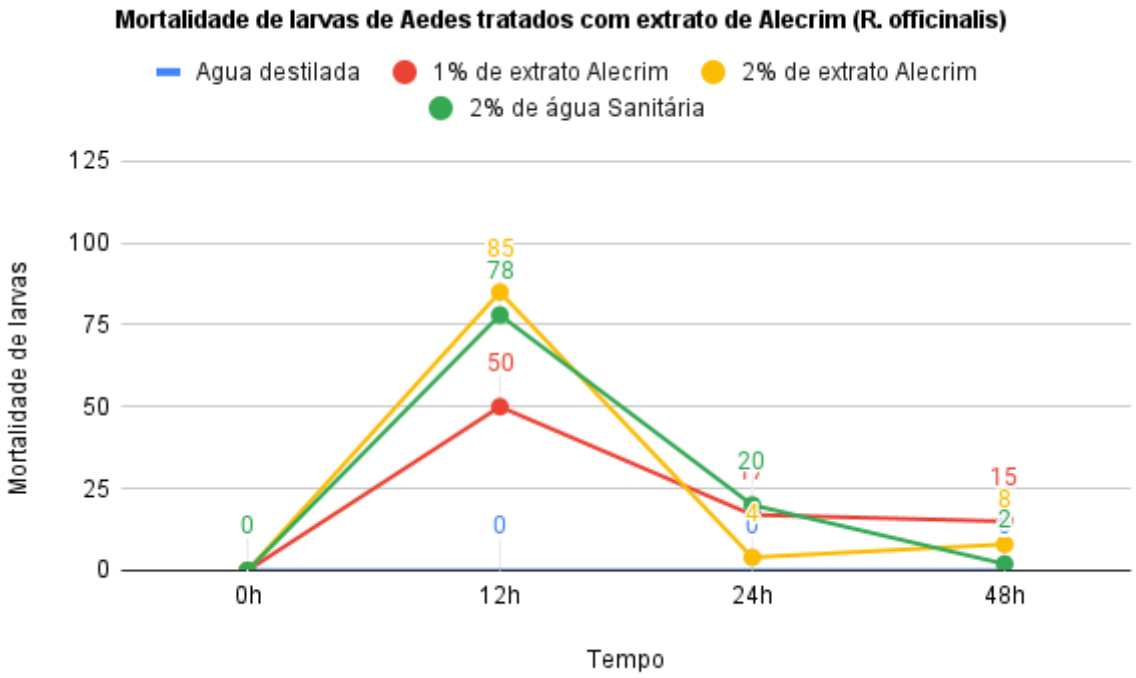


Dessa forma, pode-se afirmar que o tratamento com o extrato de cajuzinho do cerrado se mostrou efetivo na atividade larvicida na concentração de 2% quando comparado com o tratamento convencional, no entanto na concentração de 1% ainda que não tenha o mesmo efeito que a água sanitária nas primeiras 12h, apresenta um efeito larvicida quando comparado ao controle negativo.

3.2 Extrato de alecrim (Rosmarinus officinalis)

O extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) teve uma resposta positiva de mortalidade em diferentes tempos indicando toxicidade para larvas de Aedes Aegypti (Figura 9). Após as 12 horas de experimento, foi observado que houve uma mortalidade de 50% da população na concentração de 1%e na concentração de 2% a mortalidade de 85% da população. A máxima de mortes por placas com 1% e 2% em 12 horas foi de 8 e 10 respectivamente, e a mínima de 1 e 6. Os resultados de alecrim são demonstrados nas Tabelas 4, 5 e 6.

Figura 9 - Atividade larvicida do extrato de *Rosmarinus officinalis* sobre larvas de *A. aegypt*i.



O Alecrim apresentou uma resposta larvicida maior na concentração de 2% tendo, inclusive, uma resposta melhor nas primeiras 12h comparado ao controle positivo de água sanitária com uma mortalidade 85% da população, enquanto que água sanitária teve 78% de mortes. Por outro lado, nas próximas horas não foi observada uma diferença significativa, demonstrando que o efeito é potencializado nas primeiras horas de tratamento. O controle negativo com água destilada não apresentou mortalidade de larvas, com algumas larvas que se transformaram em pupas. A concentração de 1% por outro lado teve uma resposta menos efetiva, quando comparada aos outros 2 tratamentos, e apesar da resposta inferior aos outros tratamentos representa um resultado efetivo quando comparado ao controle negativo com 50% da população morta, enquanto o controle negativo não teve mortalidade.

Tabela 4- Estatística descritiva da atividade larvicida do extrato de *Rosmarinus officinalis* sobre larvas de *Aedes aegypt*i.

Tratamento	Tempo	Média de mortalidade	Mediana	Máximo de morte por placa	Mínimo de mortes por placa	Desvio Padrão
1% de extrato	12h	5	6	8	1	2,05
1% de extrato	24H	1,7	2	4	0	1,25
1% de extrato	48H	1,5	2	3	0	0,85
2% de extrato	12h	8,5	9	10	6	1,51

2% de extrato	24H	0,4	0	3	0	0,97
2% de extrato	48H	0,8	1	2	0	0,92
Água Destilada	12h	0	0	0	0	0,00
Água Destilada	24H	0	0	0	0	0,00
Água Destilada	48H	0	0	0	0	0,00
Água Sanitária	12h	7,8	8	10	6	1,48
Água Sanitária	24H	2	2	4	0	1,33
Água Sanitária	48H	0,2	0	2	0	0,63

Assim como no tratamento com caju, é possível verificar que todos os tratamentos diferiram entre si em todos os 3 tempos de exposição com valor de P <0,01. A Tabela 5 mostra a diferença nos tratamentos em diferentes tempos de exposição.

Tabela 5 - Taxa de mortalidade de larvas de Aedes aegypti durante 12h, 24h e 48h com extrato de *R. officinalis* em diferentes concentrações.

Tempo (h)	1% de extrato	2% de extrato	Água Destilada	Água Sanitária	P
12h	50%	85%	0%	78%	< 0,01
24h	17%	4%	0%	20%	< 0,01
48h	15%	8%	0%	2%	<0,01
TOTAL	82%	97%	0%	100%	

De acordo com os valores expressos pelo teste de kruskal que avaliou a diferença entre tratamentos por tempo de exposição, é possível notar que há uma grande diferença entre os tratamentos (p<0,01). Os resultados do teste *post hoc* de Dunn no tratamento de alecrim são demonstrados na tabela 6. Nas primeiras 24h de exposição os tratamentos com o extrato de *R. officinalis* com concentração de 1% e 2% não tiveram o mesmo efeito diferindo estatisticamente (P<0,05), pois a concentração de 2% apresentou maior mortalidade e foi mais efetiva nas primeiras horas de exposição. Após as 24h os dois tratamentos tiveram o mesmo efeito (P>0,05) com mortalidade de 82% da população na concentração de 1% e de 97% da população em 2%.

Por outro lado, quando comparados com o tratamento do controle positivo de água sanitária, a concentração de 1% nas primeiras 24h teve um P>0,05 demonstrando que essa concentração tem um efeito larvicida significativo nesse período de exposição. Em 48h, por outro lado, (p<0,05) haviam poucos indivíduos na amostra para a comparação, visto que sua maioria

morreu em 24h. Esses dados demonstram que, em maior tempo, morrem menos indivíduos, pois sua maioria morreu nas primeiras horas de tratamento dando diferenças nas comparações dos testes. No entanto, a mortalidade na concentração de 2% não apresentou diferença significativa entre os tempos (p>0,05), pois teve efeito muito similar, sendo até mais potente nas primeiras 12h que a água sanitária.

Tabela 6 - Diferença entre os tratamentos no bioensaio de *R. officinalis*.

Tratamentos	12H	24H	48H
1% Alecrim X 2% Alecrim	0.03338916	0.04647304	0.223279534
1% Alecrim x Água Destilada	0.05983621	< 0,01	< 0,01
2% Alecrim x Água Destilada	< 0,01	0.859807983	0.116177002
1% Alecrim x Água Sanitária	0.08737915	0.712600262	< 0,01
2% Alecrim x Água Sanitária	0.5348412	0.021144658	0.184264118
Água Destilada x Água Sanitária	< 0,01	< 0,01	0.618041022

* *P-value*: significância de 0,05

É possível verificar que o efeito larvicida é efetivo e já mostra bons resultados após as 12h quando comparado a água sanitária quando atinge a mortalidade de mais de 50% da população na concentração de 1% e de 85% em 2% de concentração. Esse efeito é contínuo na concentração de 1% até 24h, após esse período não tem o mesmo efeito, pois a amostra do controle positivo já teve mortalidade total enquanto que o tratamento ainda apresenta indivíduos vivos (p<0,01). Enquanto que a mortalidade é similar com água sanitária e 2% de extrato de alecrim tendo valores muito próximos (p>0,05).

Ambos extratos demonstraram eficácia no controle de larvas, diferindo da taxa de mortalidade em relação ao tempo de exposição entre os tratamentos com extrato. No entanto, o grupo tratado com 2% de alecrim demonstrou maior eficácia em menos tempo com uma mortalidade de 85% da população em 12h. A diferença dos extratos é demonstrada na Figura 10 mostrando a mortalidade e a Figura 11 demonstra a taxa de sobrevivência que são inversamente proporcionais.

Figura 10- Comparativo da atividade larvicida do extrato de *A. humile* e *R. officinalis* em larvas de *A. aegypti*.

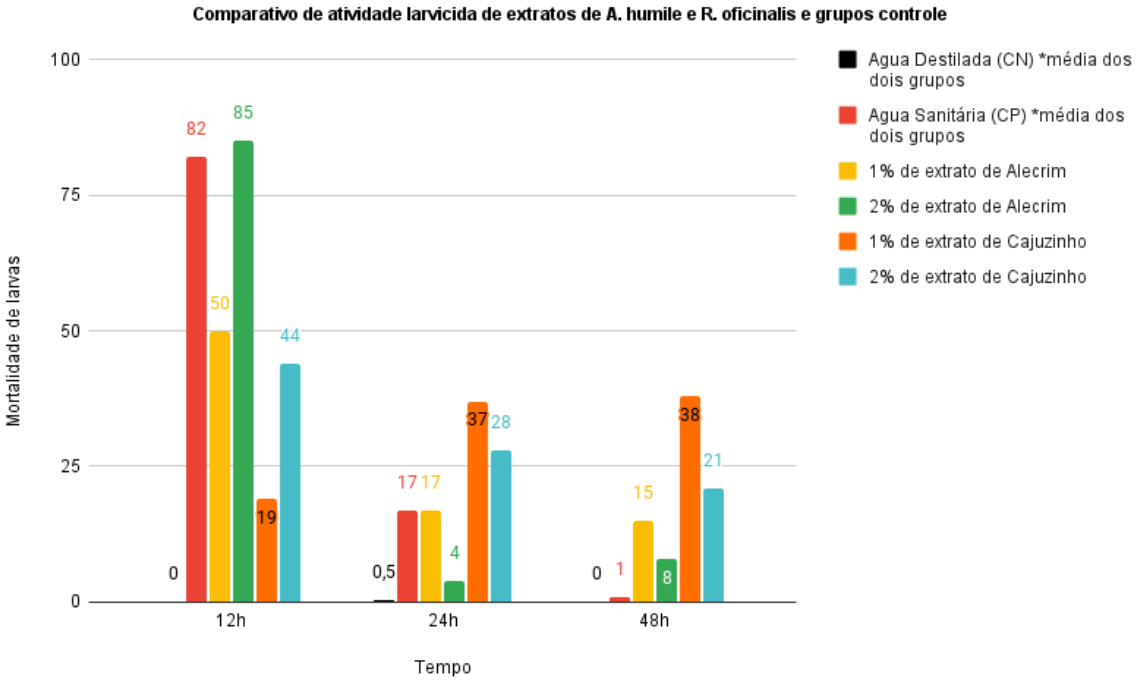
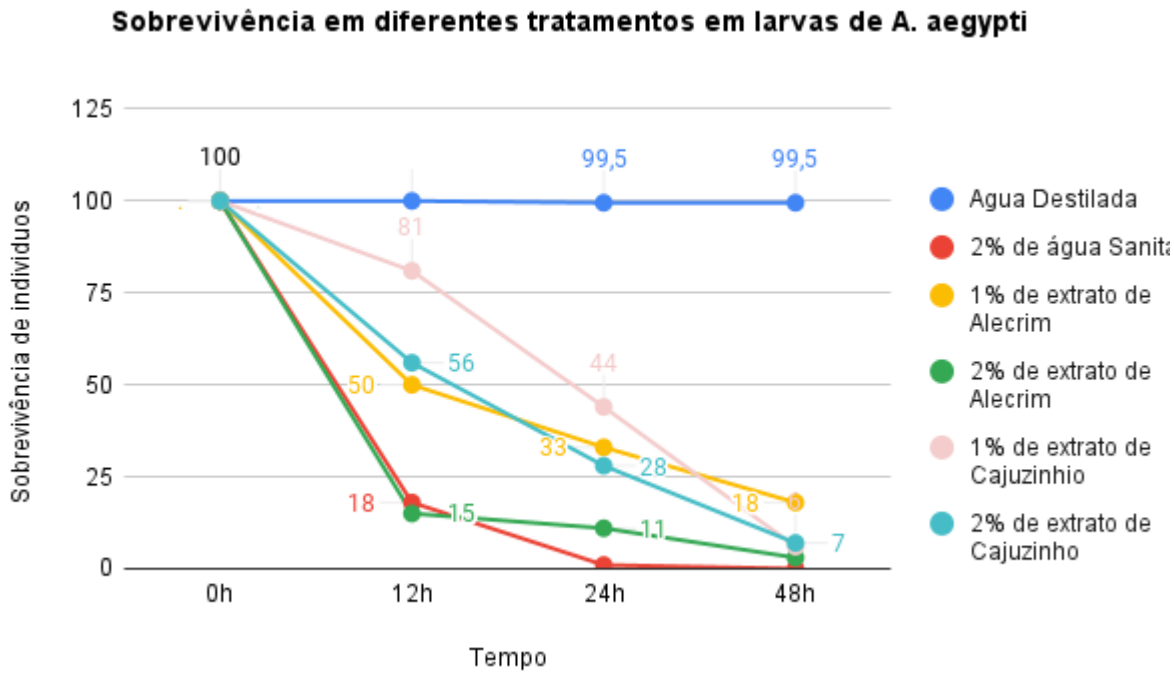


Figura 11- Comparativo da sobrevivência em diferentes tratamentos do extrato de *A. humile* e *R. officinalis* em larvas de *A. aegypti.*

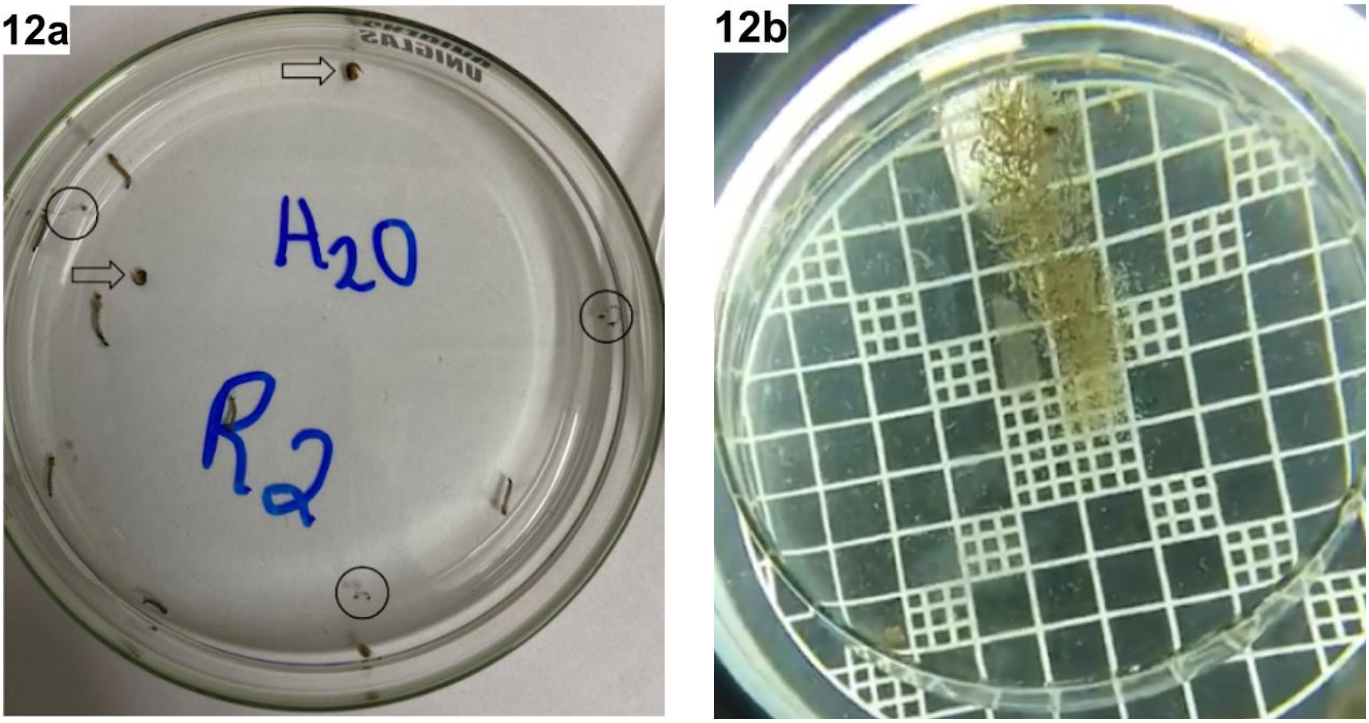


Os resultados dos extratos de caju e alecrim apontam toxicidade em larvas de *Aedes*, pois mesmo as larvas que ainda foram consideradas vivas e ainda demonstraram atividade após o tratamento, tiveram diminuição significativa de movimentos, demonstrando paralisia respondendo

apenas quando estimuladas com a pipeta de pasteur e esboçando movimentos de forma lenta mesmo quando expostas a luminosidade. Quando comparados ao grupo de água destilada, elas apresentaram movimentos muito limitados e de forma muito lenta.

As larvas tratadas com extratos de alecrim e cajuzinho não realizaram ecdise com trocas de exúvia com o corpo ficando escurecido após o tratamento de ambos os extratos e não saíram da fase larval que se encontraram, enquanto que algumas larvas do grupo controle de água destilada passaram para fase de pupa (Figura 12a). Além disso, após os tratamentos com os extratos, as mesmas deixaram de esboçar o comportamento de aglomeração e agrupamento que o grupo controle desenvolvia (Figura 12b).

Figura 12a - Demonstração das transformações naturais que ocorreram no grupo controle negativo de água destilada. Seta mostra as pupas e o círculo mostra as exúvias após o processo de ecdise. 12b. Comportamento de aglomeração e agrupamento.



4 Discussão

Os resultados de *Anacardium humile* e *Rosmarinus Officinalis* se mostraram positivos no controle larval de *Aedes aegypti*, isso aponta para a importância e necessidade da pesquisa de novos métodos de controle biológico, uma vez que o método atual com inseticidas e controle com produtos derivados de cloro podem apresentar riscos, toxicidade e impactos ambientais. Considerando a facilidade de obtenção de extratos etanólicos e a baixa toxicidade, esses resultados são promissores no que se refere à produção de novos biopesticidas.

Essa efetividade se dá não somente pela taxa de mortalidade, mas também pelo comportamento das larvas sobreviventes que demonstram intoxicação. Nas primeiras horas de exposição as larvas começam a apresentar paralisia ou redução de movimento que pode ser relacionado ao efeito inibidor da acetilcolinesterase dos extratos (MAGALHÃES, 2015; BARBOSA, 2020; OLIVEIRA, et al. 2011). Outro comportamento é o bloqueio da liberação de exúvia, que está relacionado com a inibição de crescimento que metabólitos secundários podem afetar (JESUS, et al. 2011).

Os resultados de mortalidade e comportamentos de intoxicação se dão pela quantidade de compostos fenólicos nos extratos testados. Na análise fitoquímica de alecrim foi possível observar presença de alcalóides, fenóis e taninos, depsídeos e depsidonas, açúcares redutores e cumarinas. (PERES, et al, 2021). Em outra análise se constatou a presença de ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, ácido caféico e éster do ácido hidroxicinâmico (SILVA, 2008). Zuharah, et al. (2021) realizaram uma análise fitoquímica de ssp. da família Anacardiaceae dentre eles, o *A. occidentale*, e descreveram na composição de compostos fenólicos a presença de saponinas, açúcares redutores, taninos, flavonóides e esteróides. Dentre os flavonóides, foi encontrada uma alta concentração de quercetina e apigenina.

Dentre os mecanismos de ação dos flavonóides, é sabido que são ótimos antioxidantes, e além disso se ligam as proteases, enzimas que catalisam a hidrólise e podem inibir a ATPase (MANI et al, 2020), em parasitas atuam no metabolismo de glicose com efeitos nas cristas mitocondriais além de inibir a arginase que atua na proliferação celular (YANG, 2018). Esses dados podem ser correlacionados com os resultados obtidos, uma vez que as larvas apresentavam nas primeiras horas dos tratamentos um comportamento de inatividade e paralisia até o momento que eram tocadas pela pipeta que pode indicar problemas na produção de energia e consequentemente o comprometimento de funções vitais básicas.

Além dos flavonoides, também são encontrados altas concentrações de taninos em extratos. Um estudo avaliou o efeito larvicida de Tingui (*Magonia pubescens),* espécie nativa do cerrado assim como o cajuzinho, em *Aedes* e apesar da espécie ser bastante diferente, apresentou bons resultados

em larvas, uma vez que os taninos foram isolados para a análise (SILVA, et al. 2004). Isso aponta para a toxicidade de taninos em larvas que pode ser explicada por sua capacidade de impactar na produção de ATP na mitocôndria inibindo a acetilcolinesterase.

Além disso, outra forma de intoxicação por meio de extratos botânicos, é pelo hábito alimentar das larvas que é baseado na matéria orgânica presente na água, de modo que ao ingerir partículas do extrato diluídas, o extrato pode destruir o tecido das paredes do mesêntero, criar vacúolos no citoplasma e destruir a cromatina do núcleo que ocasiona necrose tecidual e posteriormente morte (VALOTTO, et al., 2011). O resultado que observamos de protrusão gastrointestinal, foi similar ao de Valotto, et al (2011) que observou esse mesmo fenômeno em larvas de *Aedes* com taninos isolados de *Magonia pubescens*. Isso pode ser explicado pelas lesões teciduais que os taninos causam nos tecidos causando o desprendimento de células da membrana basal. Além disso, estudos indicam que moléculas dos compostos fenólicos podem atuar em enzimas APTases de mitocôndrias, o que pode ocasionar na morte (ZUHARAH, 2021; MANI, et al 2020, apud SIVORI et al. 1999).

A alta mortalidade acontece nas primeiras 12h, de modo que podemos inferir que o tempo é pouco influente na mortalidade, pois a maior mortalidade aconteceu nas 12 primeiras horas. Assim como neste trabalho, Magalhães (2015) também observou essa relação entre tempo e mortalidade com tratamentos de óleos essenciais de *Azadirachta indica*, *Melaleuca alternifolia*, *Carapa guianensis* e extrato fermentado de *Carica papaya*. Diferentemente deste estudo a avaliação temporal foi feita a cada 1 hora. O tempo de exposição que apresentou mortalidade de mais de 50% da amostra, foi de 10h. Os resultados são semelhantes ao deste trabalho, em que a maior taxa de mortalidade aconteceu nas primeiras 12h e posteriormente, nos horários de 24 e 48h a potencialidade foi reduzida. Essa redução da potencialidade com o tempo pode ser explicada pela fotoxidação que extratos etanólicos sofrem o que pode reduzir seus efeitos.

Apesar da revisão de Jahanian (2022) concluir que o uso de óleos essenciais é mais efetivo que os extratos como inseticidas, é possível verificar uma atividade larvicida importante do extrato quando comparamos nossos resultados com o de Porto (2008) que fez uma avaliação para verificar o efeito larvicida em *Aedes* de extratos hexânicos, etanólicos, aquoso e óleos essenciais de *Anacardium humile*. Nesse estudo os extratos não apresentaram efeito, sendo apenas o óleo essencial efetivo, descrevendo a CL90 de 39,8 ppm. Essa comparação de óleos e extratos pode realmente apresentar diferenças nos resultados, pois a quantidade de compostos fenólicos depende de região de plantação, época de colheita da amostra, clima, umidade, e tipos de stress que a planta está sendo submetida.

O uso do óleo essencial de alecrim como repelente vem sendo utilizado a um tempo como um método complementar ao controle de doenças transmitidas por mosquitos. O uso tópico desse

produto se dá pela presença de compostos orgânicos voláteis como β-cariofileno e eucaliptol, além disso a cânfora e timol que atuam na repelência de mosquitos e outros possíveis parasitas devido ao odor forte. A quantidade e disponibilidade de compostos presentes em cada amostra varia de acordo com a região de cultivo (OLIVEIRA; VEIGA, 2019; NASCIMENTO, 2017, BENTO, et al, 2023).

Um dos métodos caseiros convencionais de controle larval é o uso de água sanitária diluída nos focos de oviposição, geralmente na formulação à base de hipoclorito de sódio ou cálcio. Esse composto em uso indiscriminado pode apresentar intoxicações por inalação, causando escoriações da mucosa, dor e complicações respiratórias (FERREIRA, 2017). Além disso, na perspectiva ambiental, pode apresentar efeitos adversos no ambiente com contaminação de corpos d'água quando combinados com outros compostos apresentando risco a diferentes espécimes (JURQUET. 2021). Dessa forma, a redução de produtos químicos no controle de pragas pode ser promissor quando se trata de produtos com menos impacto ecológico. Dentre os resultados encontrados, pode-se sugerir a substituição de água sanitária por extratos de alecrim e cajuzinho que tiveram resultados tão bons quanto o convencional, como no caso do alecrim.

Apesar dos resultados demonstrarem ser potencialmente menos nocivos que compostos com cloro, é importante avaliar a toxicidade dos extratos em outros indivíduos. Guissoni, et al. (2013) utilizou o líquido da castanha de caju para avaliar a atividade larvicida e toxicidade em ratos e observou uma mortalidade larval que pode ser associada à presença de ácido anacárdico no líquido da castanha. Esse composto fenólico, por outro lado, não foi encontrado em estudos e bibliografias de extratos de outras partes de caju. Outro achado desse estudo foi a ausência de toxicidade aos ratos, o que indica a possibilidade de não apresentar riscos aos humanos. No entanto, é importante avaliar outros grupos taxonômicos que podem ser diretamente afetados pela toxicidade dos extratos, como insetos que se alimentam de larvas e podem ser intoxicados.

6 Considerações finais

Considerando a problemática de saúde pública levantada neste estudo, o uso de extratos botânicos se mostrou um método promissor e complementar de combate às larvas do vetor *Aedes* sendo uma alternativa para uso doméstico. Esses resultados sugerem que extratos etanólicos de caju e alecrim são larvicidas em *Aedes aegypti* com efeitos em diferentes concentrações e tempos de exposição, sendo as 12h de tratamento a mais efetiva com maior mortalidade, quando comparada aos outros tempos de exposição. Além disso, apresentam resultados muito similares ao tratamento convencional de água sanitária, especialmente o alecrim que em pouco tempo apresentou resposta superior ao método convencional. Dessa forma, este trabalho pode servir não apenas para fomentar estudos futuros com isolados de compostos fenólicos e junção de compostos para potencializar os efeitos, além disso, pode-se avaliar os efeitos tóxicos em outros grupos taxonômicos para verificar o

real efeito sustentável. Esse estudo demonstra um potencial excelente de controle biológico e pode gerar um produto que possa ser utilizado em residências pelas populações que fazem controle de pequenos focos de oposição no ambiente doméstico.

Referências

ACIOLY, R. V.. **O uso de armadilhas de Oviposição (ovitrampas) como ferramenta para monitoramento populacional do Aedes spp em bairros do Recife**. 2006. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006.

ANJOLETTE, A; MACORIS, M. Técnicas para manutenção de Aedes aegypti em laboratório. Informe técnico. BEPA 2016; 13(156): 19-29.

ASSBIO. Projeto Xô Mosquito: Semana Epidemiológica 12 de 2023. Boletim Semanal. Condomínio Vivendas Bela Vista. Programa de Saúde Ambiental e Animal. Sobradinho: 2023

BARBOSA, G.M.D. **Resposta na mortalidade e comportamento das larvas de Chrysoperla externa (Neuroptera: Chrysopidae) expostas a inseticidas para o controle de Leucoptera coffeella (Lepidoptera: Lyonetiidae).** Dissertação. Universidade Federal de Viçosa. 2020.

BENTO M.E; ZAGHINI L.P; FERNANDES L.R.B; FURTADO G.P; PEREIRA M.W.C; GALINDRO B.M. Avaliação do potencial de aplicação de substâncias de origem vegetal como repelentes naturais. **Revista Fitos** [Internet]. 30º de maio de 2023 [citado 9º de junho de 2023];1(1).

BRASIL. **Anvisa aprova nova vacina contra a dengue.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Publicado em 02/03/2023 20h10. Atualizado em 16/03/2023 11h30. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue >. Acesso em: 09/06/2023

BRASIL. Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. - 3. ed., rev. - Brasília : Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. RESOLUÇÃO-RE Nº 661, DE 2 DE MARÇO DE 2023. **Diário Oficial da União**. Publicado em: 02/03/2023 | Edição: 42-B | Seção: 1 - Extra B | Página: 1. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-re-n-661-de-2-de-marco-de-2023-467449608>. Acesso em: 09/06/2023

BRASIL. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o Futuro: Região Centro-Oeste / Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade; Roberto

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico 44**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Volume 53 | Dez. 2022. Disponível em: <http://www.institutocoutomaia.com.br/wp-content/uploads/2022/12/Boletim-Epidemiol%C3%B3gico-Vol.53-N%C2%BA44.pdf >. Acesso em 01/04/2023

BRASIL. Ministério de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

CARVALHO, G. H. F. **Caracterização química e avaliação do efeito inseticida de frações obtidas de *Anacardium occidentale* sobre vetores de doenças e insetos-pragas agrícolas**. Tese. Universidade de Brasília. 2018

CARVALHO, G.H.F; ANDRADE, M.A; ARAÚJO, C.N et al. Atividades larvicidas e pupicidas de produtos lipídicos fenólicos ecologicamente corretos de *Anacardium occidentale* contra vetores de arbovírus. **Environ Sci Pollut Res** 26 , 5514-5523 (2019).

CONSOLI, R; OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil** - Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994. pág 110.

DEPOLI, P.A.C; ZEQUI, J.A.C, NASCIMENTO, K.L.C; LOPES, J. 2016. Eficácia de Ovitrampas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de Aedes. **EntomoBrasilis.** Periódico Online. v 9, n 1 (abril de 2016), 51–55. DOI: https://doi.org/10.12741/ebrasilis.v9i1.509

DIASS, K; BRAHMI, F; MOKHTARI, O; ABDELLAOUI, S; HAMMOUTI, B. Propriedades biológicas e farmacêuticas de óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* Terra *Lavandula officinalis*. **Materials Today: Proceedings**, Volume 45, Part 8, 2021, Pages 7768-7773.

DOMINGUES, I. **Brasil tem alta de casos de dengue, zika e chikungunya**. Campus Virtual Fiocruz. 2022. Disponível em: <https://campusvirtual.fiocruz.br/portal/?q=content/64987#:~:text=Andrea%20Sobral%3A%20O%20aumento%20no,com%20maior%20vulnerabilidade%20das%20habita%C3%A7%C3%B5es>. Acesso em: 31/03/2023

FERREIRA, J.P.C**. Intoxicações agudas: guia prático para o tratamento**. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: Editora Soneto, 2017. Fontes Vieira (Ed.). Julcéia Camillo (Ed.). Lidio Coradin (Ed.). – Brasília, DF: MMA, 2016.

GUISSONI, A. C. P;et al. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira De Plantas Medicinais**, 2013 15(3), 363–367.

JAHANIAN, H; KAHKESHANI, N; SANEI-DEHKORDI, A; ISMAN, M; SAEEDI, M; KHANAVI, M (2022) Rosmarinus officinalis as a natural insecticide: a review. **International Journal of Pest Management**,

JESUS, F. G.; PAIVA, L. A.; GONÇALVES, V. C.; MARQUES, M. A; JUNIOR, A. L. B. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivos Do Instituto Biológico**, (2011) 78(2), 279–285.

JURQUET. V.B. Percepção dos impactos ambientais dos domissanitários: Resultados do projeto de extensão com grupos de mulheres das comunidades de Garopaba e Imbituba. **Revista ELO** - Diálogos em Extensão. Viçosa, MG - Volume 10, 2021.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Em Debate**, 42 (117), 518–534.

MACORIS, M; et al. Resistência de Aedes aegypti do estado de São Paulo, Brasil, a inseticidas organofosforados. **Mem Inst Oswaldo Cruz 98** (5). 2003.

MAGALHÃES, M. S. **Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcoólico da espécie Anacardium occidentale Linneu**. Dissertação. 2015. Universidade Federal do Amapá.

MARÍN-CRUZ, V.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, S.; FLORIDO, E.; TERRÓN-SIERRA, R.; CIBRIÁN-TOVAR, D. Aspectos morfofisiológicos do trato digestivo em larvas de IV estádio de Bradysia impatien (Diptera: Sciaridae). **Revista Colombiana de Entomología** 45(2):e7962. Janeiro de 2020

MASCARENHAS, M; et al. Ocorrência simultânea de COVID-19 e dengue: o que os dados revelam?. **Cadernos de Saúde Pública** [online]. v. 36, n. 6.

NASCIMENTO, G.J. **Estudo da atividade inseticida e repelente do timol sobre as fases de vida do *Aedes aegypty***. João Pessoa. Monografia [Bacharelado em Biotecnologia] - Universidade Federal da Paraíba; João Pessoa. 2017.

OLIVEIRA, J. C. A; VEIGA; R. S . Impacto do uso do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) para a saúde humana. volume 2, n. 1 (2019): **Brazilian Journal of Natural Sciences.**

OLIVEIRA, L.D.R; MELO, F. R; LOUVANDINI, H. **Plantas medicinais como alternativa para o controle de Haemonchus contortus em ovinos: testes in vitro e in vivo**. Dissertação. Universidade de Brasília. 2013

OLIVEIRA, M.S.C; MORAIS, S.M; MAGALHÃES, D.V; BATISTA, W.P; VIEIRA, Í.G.P; CRAVEIRO, A.A.; MANEZES, J.E.S.A; CARVALHO, A.F.U; LIMA, G.P.G. Atividades antioxidante, larvicida e antiacetilcolinesterase dos constituintes líquidos da casca da castanha de caju. **Acta Trop** 117:165–170. (2011)

Organização Mundial da Saúde (2005) Instruções para determinar a suscetibilidade ou resistência de larvas de mosquitos a inseticidas. **Organização Mundial da Saúde**, Genebra: 2005

PAVELA, R (2015) Óleos essenciais para o desenvolvimento de larvicidas ecológicos para mosquitos: uma revisão. **Ind Crop Prod** 76:174–187.

Peres, T.R; Medeiros, T.D.S; Soares, N.R.M; Arraes, D.R.S; Costa, M.K.V; Ferreira, A.M.S.D; Queiroz, G.A; Farias, A.L.F; Cantuária, P.C; Almeida, S.S.M.S. Avaliação fitoquímica, toxicológica e antioxidante da espécie *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim). **Plantas Medicinais do Estado do Amapá: dos relatos da população à pesquisa científica**. Editora Científica. p. 68-77. 2021

Porto, K. R. A; ROEL, A. R; SILVA, M. M.; COELHO, R. M; SCHELEDER, E. J. D; JELLER, A. H. Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 41, 2008 (6), p. 586–589.

RODRIGUES, F; PIMENTA, V; BRAGA, K; ARAÚJO, E. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, **Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.13 n.23; p. 2016.

SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL (SES). **Febre amarela**. 2022. Disponível em: <https://www.saude.df.gov.br/febre-amarela >. Acesso em: 03/04/2023

SILVA, A. M. O. **Efeito dos compostos fenólicos presentes no alecrim (Rosmarinus officinalis L.) sobre as enzimas antioxidantes e os parâmetros bioquímicos do sangue de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina**. 2008. Dissertação (Mestrado em Nutrição Experimental) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SILVA, A; GUTERRES, C. **Implicações das desigualdades sociais e condições de vida com a epidemia do vírus Zika**. IX Jornada Internacional de Políticas Públicas. Universidade Federal do Maranhão 2019.

SILVA, H. G.G; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 32(4):349-355, jul-ago, 1999

SILVA, I.G; SANTOS, R.M.G; FILHO, E. R; ELIAS,C.N.; SILVA, H. H. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre Aedes aegypti (Diptera, Culicidae) **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 37 (5) • Out 2004.

SOUSA, P; et al. Impactos do perfil epidemiológico da dengue durante a pandemia da COVID–19. **E-Acadêmica**, volume 3, número 2, 2022.

TORRES, S. M. et al. Mortalidade acumulativa de larvas de Aedes aegypti tratadas com compostos tratadas com compostos**. Revista de Saúde Pública**. Rev Saúde Pública 2014;48(3):445-450

VALOTTO, C.FB; CAVASIN, G.C; SILVA, H.H.G; SILVA, I.G. Alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) causadas pelo tanino catéquico isolado da planta do cerrado *Magonia pubescens* (Sapindaceae). **REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL**. Vol. 39 (4): 309-321. out.-dez. 2010

ZUHARAH, W. F. et al. Atividades larvicidas da família Anacardiaceae em Aedes Mosquitos (Diptera: Culicidae) e identificação de compostos fenólicos. **Journal of King Saud University** - Science Volume 33, Issue 5, julho de 2021