

Análise de sobrevivência de larvas de mosquito da dengue submetidas à diferentes concentrações de óleo de NIM**Analysis of survival of dengue mosquito larvae submitted to different concentrations of NIM oil**

Recebimento dos originais: 01/02/2019

Aceitação para publicação: 15/03/2019

Flávia Mendes Ribeiro

Engenheira Química pela Universidade de Uberaba
Instituição: Universidade de Uberaba - UNIUBE
Endereço: Av. Nenê Sabino 1801, Uberaba, MG, Brasil
E-mail: flaviamendesribeiro94@gmail.com

Mauro Luiz Begnini

Doutor em Ciências, Química Orgânica pela Universidade de São Paulo (FFCLRP)
Instituição: Universidade de Uberaba - UNIUBE
Endereço: Av. Nenê Sabino 1801, Uberaba, MG, Brasil
E-mail: mauro.begnini@uniube.br

Fabrcio Pelizer De Almeida

Doutor em Geografia (Geociências), Análise, Planejamento e Gestão Ambiental.
Instituição: Universidade de Uberaba - UNIUBE
Endereço: Av. Nenê Sabino 1801, Uberaba, MG, Brasil
E-mail: fabricio.almeida@uniube.br

RESUMO

Um dos desafios da vigilância sanitária brasileira é o de propor estratégias eficientes de controle larval de mosquitos vetores de doenças, em especial, o *Aedes aegypti*, transmissor de várias delas. O objetivo desse trabalho é o de avaliar a sobrevivência de larvas de mosquito de *A. aegypti* submetidas à diferentes de concentrações de Óleo de Nim. Para a realização dos testes foram preparadas unidades de óleo emulsificado em Tween 80 e recolhidas amostras de larvas do inseto, separadas em 4 lotes com 4 repetições, e submetidas à 4 níveis de tratamento diários (T1: Testemunha; T2: 3 gotas; T3: 5 gotas; T4: 10 gotas). A censura do teste foi definida com intervalo de 24h, limitada à 168h e os indivíduos que falharam (mortos) foram contabilizados de acordo com a fase fisiológica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de sobrevivência, estimando-se um modelo distribuição não-paramétrica com censura arbitrária, utilizando-se o software Minitab v.18. Os resultados demonstraram que em baixas dosagens do composto, não se obtém níveis seguros de controle, e que a maior eficiência foi observada em T3 e T4, entre 48h e 96h, estendendo-se até 120h. Recomenda-se como prática de controle do *A.aegypti*, as dosagens de 3 à 5 gotas por 4 dias consecutivos.

Palavras-chave: Controle biológico; Estatística não-paramétrica; Química ambiental.

ABSTRACT

One of the challenges of Brazilian sanitary surveillance is to propose efficient strategies for larval control of mosquito vectors of diseases, especially *Aedes aegypti*, which transmits several of them.

The objective of this work is to evaluate the survival of *A. aegypti* mosquito larvae submitted to different concentrations of Nim Oil. To perform the tests, Tween 80 emulsified oil units were collected and samples of insect larvae collected in 4 batches with 4 replicates and submitted to 4 daily treatment levels (T1: Witness, T2: 3 drops, T3: 5 drops, T4: 10 drops). The censoring of the test was defined with a 24-h interval, limited to 168 h and individuals who failed (dead) were counted according to the physiological phase. The data obtained were submitted to survival analysis, estimating a non-parametric distribution model with arbitrary censorship, using Minitab v.18 software. The results showed that in low dosages of the compound, no safe levels of control were obtained, and that the highest efficiency was observed in T3 and T4, between 48h and 96h, and extended up to 120h. It is recommended as a control practice of *A.aegypti*, dosages of 3 to 5 drops for 4 consecutive days.

Keywords: Biological control; Non-parametric statistics; Environmental chemistry.

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* é um dos principais problemas vetores de doenças de grande relevância em saúde pública no país, como a dengue, do zika vírus, da chikungunya e febre amarela. No decorrer de suas adaptações, desenvolveu um comportamento estritamente antropogênico, sendo considerado a espécie de mosquito mais dependente do ambiente urbano (NATAL, 2002). Dentre as causas que permitiram o avanço do mosquito nas diversas regiões brasileiras destacam-se o processo de urbanização acelerado, o péssimo cenário do saneamento básico e gestão de resíduos sólidos nos domicílios, o avanço de atividades econômicas em áreas de preservação e a recorrência dos cinturões de pobreza nas grandes cidades (TAUIL, 2002).

Debates recentes sobre os riscos epidemiológicos da dengue sugerem maiores investimentos na prevenção e controle da doença, com o uso de compostos orgânicos de menor impacto ambiental. Nesse sentido, o óleo extraído da semente da árvore Nim (*Azadirachta indica*) tem se mostrado uma alternativa interessante, devido à sua propriedade inseticida, agindo como repelente natural, já que possui 9 limonoides, sendo a azadiractina a mais conhecida e potente (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005). Portanto, o objetivo desse trabalho é o de analisar a sobrevivência de larvas de mosquito de *A. aegypti* submetidas à diferentes de concentrações de Óleo de Nim.

2 METODOLOGIA

As sementes da planta *Azadirachta indica* (A. Juss), após serem colhidas, foram colocadas em água e mantidas em repouso por um período de 24h, posteriormente despulpadas, colocadas em estufa à 35°C para secagem total da amêndoa e, em seguida, trituradas em moinho de facas obtendo-se um fino pó. Para a extração do óleo, uma amostra de 50 g do pó foi colocada no extrator de soxhlet, junto com 500mL de solvente, permanecendo cada amostra sob refluxo durante 12h. O extrato filtrado foi concentrado em evaporador rotativo a uma temperatura de aproximadamente

50°C à pressão reduzida. O resíduo obtido na extração foi dissolvido em metanol, sendo o volume ajustado a uma dada concentração, colocado em frasco escuro e armazenado em geladeira a $\pm 5^\circ\text{C}$. Em seguida, 50 mL desse estrato foi separado em um béquer, adicionando-se 1 mL de Tween 80 para emulsificação do óleo, e por fim, armazenado em frasco âmbar (BOFF; ALMEIDA, 1996).

As larvas foram obtidas com o apoio do Departamento de Controle de Zoonoses, da Prefeitura Municipal de Uberaba (MG), percorrendo diversos lotes vagos e em situação de risco iminente no município.

O esquema fatorial empregado foi composto por 4 lotes de larvas que receberam 4 tratamentos diários fornecidos durante 4 dias consecutivos (uma testemunha e 3 níveis de dosagens), descritos como T1: 0 gotas; T2: 3 gotas; T3: 5 gotas e T4: 10 gotas, com 4 repetições, totalizando 64 unidades. Avaliou-se a sobrevivência de indivíduos e ocorrência de eventos arbitrários (mudança de fase e morte), caracterizando-se um estudo típico de análise de sobrevivência. Segundo Colosimo e Giolo (2006) o principal componente da análise descritiva em uma análise de dados de tempo de vida é a função de sobrevivência.

A censura do teste de sobrevivência foi definida com intervalo de 24 horas, limitada a 168 horas. Obteve-se a função de sobrevivência $s(t)$, a função de densidade de probabilidade $f(t)$ e a função taxa de falha $h(t)$ para cada tratamento. Obteve-se as curvas de sobrevivência utilizando-se o estimador da função de sobrevivência descrito como um estimador limite-produto, que considera tantos intervalos de tempo quanto forem o número de falhas distintas (KAPLAN; MEIER, 1958). Os limites dos intervalos de tempo são os tempos de falha da amostra e o estimador de Kaplan-Meier é dado por:

$$\hat{S}(t) = \prod_{j:t_j < t} \left(\frac{n_j - d_j}{n_j} \right) = \prod_{j:t_j < t} \left(1 - \frac{d_j}{n_j} \right) \text{Equação 1.}$$

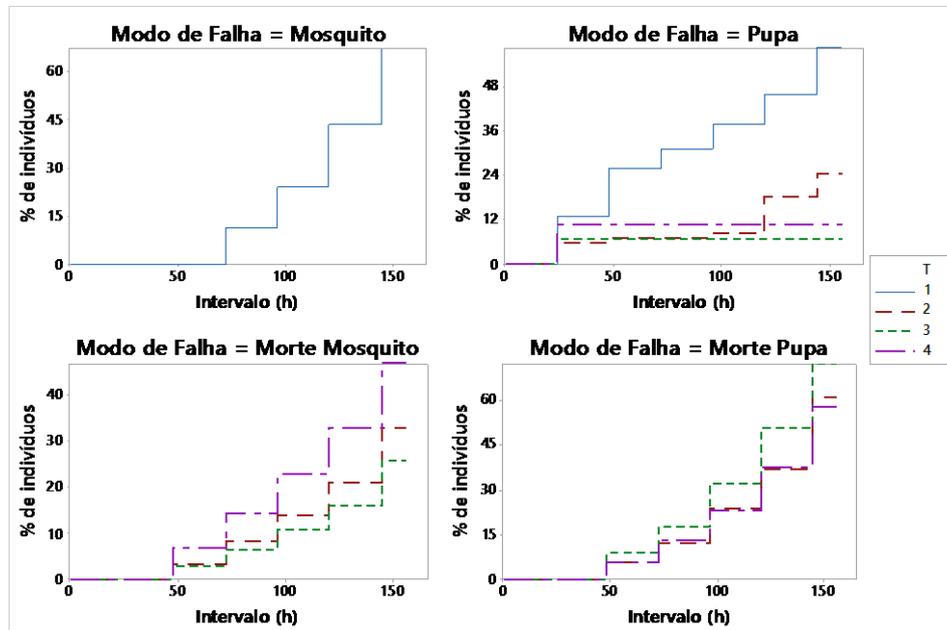
em que, $\hat{S}(t)$ é a função de sobrevivência estimada; $t_1 < t_2 < \dots < t_k$, são os k tempos distintos e ordenados de falha; d_j é o número de falhas em t_j , $j = 1, 2, \dots, k$; n_j é o número de indivíduos sob risco de t_j . O algoritmo iterativo de Turnbull estima a função de distribuição acumulada em caso de censura intervalar (TURNBULL, 1976).

As saídas de dados foram demonstradas em gráficos de probabilidade de falhas acumuladas e sobrevivência, nos intervalos de tempo censurados. Para o estudo estatístico, utilizou-se o pacote *Confiabilidade/Sobrevivência* e a função *Teste de Vida Acelerado* do software MINITAB 18.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseando-se no estudo da sobrevivência e ocorrência de tempos de falhas aplicados ao experimento, observou-se que o tratamento 1 (testemunha), apresentou maior probabilidade de

alcançar estágio de pupa e fase adulta do mosquito, em comparação com os demais tratamentos. O empupamento ocorre em todos os tratamentos, mas prioritariamente em T1 e T2, representando cerca de 72% de todos os indivíduos que falharam nessa fase (Figura 1).

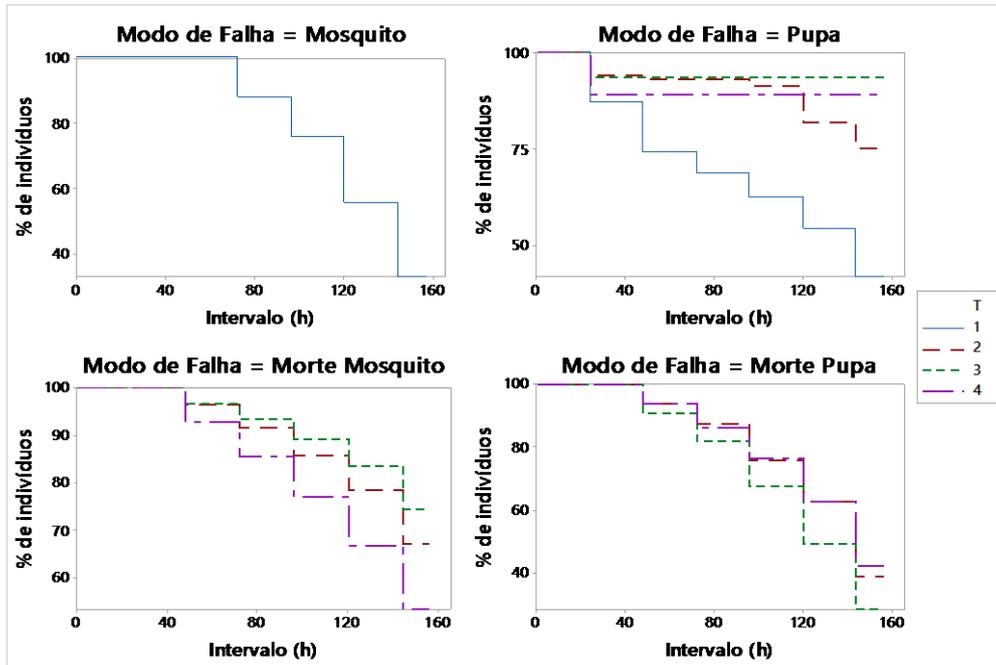


Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 1. Falhas acumuladas nos intervalos de tempo, pelo método de Turnbull, com censura arbitrária, nos modos de falhas (pupa; mosquito; morte da pupa; morte do mosquito), e os 4 níveis de tratamento (0; 3; 5; 10 gotas do composto).

O maior acúmulo de indivíduos adultos que falharam no evento “morte do mosquito” estão nos tratamentos 3 e 4, em todos os tempos censurados, pois nota-se com a Figura 11 que a porcentagem de indivíduos mortos é maior do que nos outros experimentos. Nota-se também que o maior acúmulo de indivíduos mortos no estágio de pupa, está entre 48h e 96h nos tratamentos 3 e 4, indicando que esse, é o pico de eficiência dessa dosagem no experimento. (Figura 1).

Quanto à análise de sobrevivência, os resultados demonstraram que as larvas atingem as fases de empupamento em todos os tratamentos, principalmente em T1 e T2, nas primeiras 48h do experimento, e apenas em T1 (testemunha), atingem a fase de mosquito adulto (Figura 2). Em baixa dosagem, como observado em T2, apesar de maior empupamento se comparado com T3 e T4 (cerca de 40% no último estágio da censura), nenhum dos indivíduos atingiu o estágio adulto. No entanto, não é recomendável a dosagem de 2 gotas diárias (T2) durante 4 dias consecutivos do óleo de como para prática de controle em função do risco de empupamento e provável escape em situações adversas.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 2. Sobrevivência acumulada nos intervalos de tempo, pelo método de Turnbull, com censura arbitrária, nos modos de falhas (pupa; mosquito; morte da pupa; morte do mosquito), e os 4 níveis de tratamento (0; 3; 5; 10 gotas do composto).

Portanto, houve maior acúmulo de indivíduos mortos no estágio de pupa e mosquito adulto, entre 48h e 96h no T3 e T4, delimitando o pico de eficiência dessa dosagem no experimento, e o modo mais viável de controle. Em T1, observou-se maior ocorrência de eventos acumulados, mas sabe-se que não se trata de morte dos indivíduos e sim, aumento nos modos de falha, ou seja, ocorrência de mudanças de fases para o empupamento e mosquito adulto.

3 CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que,

- em baixa dosagem 2 gotas diárias (T2) durante 4 dias consecutivos do óleo de Nimemulsificado não causa a morte de indivíduos antes do empupamento, correndo-se o risco de viabilidade de insetos adultos.
- a maior eficiência de controle, na fase de empupamento e mosquito adulto foi observada em T3 e T4, entre 48h e 96h, estendendo-se até 120h após o início dos testes.
- a dosagem recomendada como prática de controle nos locais de foco do *A. aegypti*, é de 3 à 5 gotas diárias do óleo de Nimemulsificado durante 4 dias consecutivos.

REFERÊNCIAS

BOFF, Mari Inês Carissimi; ALMEIDA, Armando Antunes de. Ação tóxica de pimenta-do-reino, *Piper nigrum*, em ovos de *Sitotoga cerealella* (Oliv.) (Lepidoptera: *Gelechiidae*). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, n. 1, p.423-429, 1996.

COLOSIMO, Enrico Antônio; GIOLO, Suely Ruiz. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Blücher, 2006. 392 p.

KAPLAN, E. L.; MEIER, Paul. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. **Journal of the American Statistical Association**, [s.l.], v. 53, n. 282, p.457-481, 1958.

MOSSINI, Simone Aparecida Galerani; KEMMELMEIER, Carlos. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 24, n. 1, p.139-148, 2005.

NATAL, Delsio. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 1, p.205-207, 2002.

TAUIL, Pedro Luiz. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.867-871, jun. 2002.

TURNBULL, Bruce W. The Empirical distribution function with arbitrarily grouped, censored and truncated data. **Journal of The Royal Statistical Society: Series B**, Oxford, v. 3, p.290-295, 1976.