



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO EM CAMPO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA FRENTE AO MOSQUITO *Aedes Aegypti* NO CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE (CRCN - NE)

Romário G. M. C. Silva¹; Emily V. Silva¹; Victor H. B. Lemos¹; Maria Clara A. V. Negreiros¹; Keila P. Oliveira¹; Vânia N. Nunes²; Thiago F. L. Loeser³; Elton L. Borges³; Sofia S. F. B. Rodrigues¹

¹ Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia de Pernambuco (campus Recife)

² Secretaria de Saúde do Recife - Centro de Vigilância Ambiental e controle de zoonoses (CVA)

³ Laboratório de Síntese Orgânica e Aplicações Biotecnológicas - LASOAB DOF / UFPE

Palavras-Chave: Vetores, Ovitampas, *Syzygium*.

Introdução

Mais da metade da população mundial vive, hoje, em áreas onde o mosquito da espécie *Aedes aegypti* está presente. *A. aegypti* é a principal espécie de mosquito que transmite os vírus da Zika, Dengue, Chikungunya e febre amarela urbana para os seres humanos. Tem uma série de peculiaridades comportamentais, que torna extremamente difícil o seu controle. A possibilidade de que uma picada do mosquito, durante a gravidez, possa estar ligada a defeitos congênitos graves em recém-nascidos, alarma a comunidade, deixando a todos atônitos. A detecção de um surto de casos de microcefalia, associada à circulação do Zika vírus, tem sido acompanhada por achados de malformação congênita adicional do cérebro, detectadas em fetos (por ultrassom), natimortos e recém-nascidos, além de evidência de danos à acuidade visual e auditiva. A associação de circulação de vírus com um aumento da detecção de síndrome de Guillain-Barré é uma preocupação adicional.

Especialistas descrevem este mosquito como "oportunista", uma vez que mostra uma notável capacidade de adaptação a ambientes em mudança, especialmente aquelas que ocorrem por mudanças na maneira como a humanidade habita o planeta. Os seus ovos são pegajosos e podem sobreviver por longos períodos de tempo em um estado seco, muitas vezes por mais de um ano. Uma vez submersos em água, eclodem imediatamente. Se as temperaturas são ideais, os mosquitos podem permanecer na fase larval durante meses, desde que o fornecimento de água seja suficiente.

O controle do vetor ainda é imprescindível para prevenir diversas doenças e o papel do controle de vetores em Saúde Pública é prevenir a infecção mediante o bloqueio ou redução da transmissão (Braga e Valle, 2007; Cavalli et al., 2019). Neste sentido, inseticidas sintéticos, tais como os organoclorados e o organofosforados, têm sido amplamente utilizados para este fim, apesar de terem um elevado custo, atuarem na seleção de populações resistentes, apresentarem uma elevada toxicidade aos seres humanos e a outros organismos não alvos (Silva., 2021). Igualmente, a utilização desses produtos causa diversos danos no ar, no solo, na água e no próprio ser humano, gerando um enorme e crescente impacto ambiental, social e econômico (Bohner et al., 2013), além de desenvolver resistência (Jintana et al., 2015).

Em vista da inevitabilidade da reconstrução da área ambiental original, podem-se criar estratégias de melhorias que resultem em menos impactos ambientais e contribuam dessa forma para o crescimento científico, geram avanços tecnológicos e tragam melhorias sociais. O uso de plantas medicinais como tratamento alternativo, tem ganhado destaque na área de saúde ambiental, envolvendo profissionais de diversas áreas de conhecimento e gerando consciência ambiental. Neste contexto, verifica-se a grande importância das plantas medicinais, por meio de seus óleos essenciais, como potenciais agentes antimicrobianos,

inseticidas e repelentes naturais (Phasomkusolsil; Soonwera, 2011; Duarte et al., 2015, Cansian et al., 2023).

Dentre as substâncias encontradas nas plantas medicinais estão os óleos essenciais, que constituem os elementos voláteis contidos em vários órgãos das plantas e assim são denominados devido à composição lipofílica que apresentam. Muitos óleos essenciais possuem atividade inseticida frente a *A. aegypti*, dentro deste cenário ganha-se destaque, nesse campo, a espécie *Eugenia caryophyllata*, mais conhecida como cravo-da-índia, pelo fato da mesma apresentar um elevado potencial exploratório, devido às suas propriedades biológicas e químicas.

Neste contexto, a presente pesquisa tem como objetivos, realizar o estudo da composição química do óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), além de verificar a capacidade deterrente de oviposição em campo, utilizando ovitrampas, fornecendo assim uma alternativa de método de controle de vetores, não danoso ao meio ambiente.

Material e Métodos

Coleta do material vegetal e extração do óleo essencial

A metodologia iniciou-se com a coleta do material vegetal. Em seguida foram realizadas três extrações do óleo essencial, em três dias diferentes, através do método de extração por hidrodestilação, utilizando um balão volumétrico de 5000 mL, uma manta aquecedora, um condensador de tubo reto e um sistema de resfriamento da marca Biothec Produtos e laboratórios. Foram utilizados \pm 300 g de botões florais de cravo-da-índia para 3500 mL de água em cada extração. Após a extração do hidrolato (água + OE) o material foi armazenado em recipiente âmbar para evitar degradação ocasionada por luminosidade e acondicionado em refrigeração para que houvesse a separação da água e do óleo por meio de decantação, por fim o óleo foi tratado com sulfato de sódio (Na_2SO_4) para remover a água residual.

Análise dos compostos presentes do cravo-da-índia

Para a análise da composição química do óleo essencial de cravo-da-índia, foi utilizado o método de CG-MS (cromatografia gasosa acoplado a um espectrômetro de massas) num cromatógrafo modelo Finnigan GCQ Mat tip quadrupolo-ion trap operando com 70 eV de energia de ionização com uma coluna capilar DB5 ($25\text{m} \times 0,32\text{mm} \times 0,52\mu\text{m}$), com condições de programação: 0 min a 60°C , variando $10^\circ\text{C}/\text{min}$ até 275°C , aguardando 30 min, temperatura de injetor de 250°C e o gás de arraste usado foi o hélio, para realizar a separação dos constituintes e a identificação dos mesmos.

Captura e contagem dos ovos do mosquito vetor

Para realizar a captura dos ovos do vetor, foi utilizado um método de controle mecânico, através de ovitrampas que foram dispersas em 15 pontos selecionados dentro do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE). A ovitrampa é composta por um recipiente de plástico preto com um volume de 2500 mL, uma paleta de compensado eucatex, em formato de chapa, com fase superior enrugada e inferior lisa, cliques de metal para sustentação da paleta e por fim, é adicionado um agente biológico BTI (*Bacillus thuringiensis israelensis*) na água da ovitrampa para evitar a criação de focos epidêmicos, os ovos foram recolhidos em ciclos de 15 dias. Por fim, foi feita a contagem dos ovos coletados, utilizando-se de lupas binoculares da marca Biofocus, lâminas de vidro, contadores manuais e luvas de látex.

Aplicação do óleo em campo

O óleo foi misturado com álcool etílico absoluto (P.A) 99,5%, resultando numa solução de concentração de 10 ppm, que é equivalente a 10 mg/mL, para que houvesse um valor de 0,25g de óleo presente na água e possibilitando também a dissolução do mesmo na água da ovitrapa. Na aplicação do óleo em campo, realizou-se o sorteio de 5 das 15 ovitrapas para a recepção da solução e foram depositados 17,5mL em cada uma das 5 ovitrapas.

Resultados e Discussão

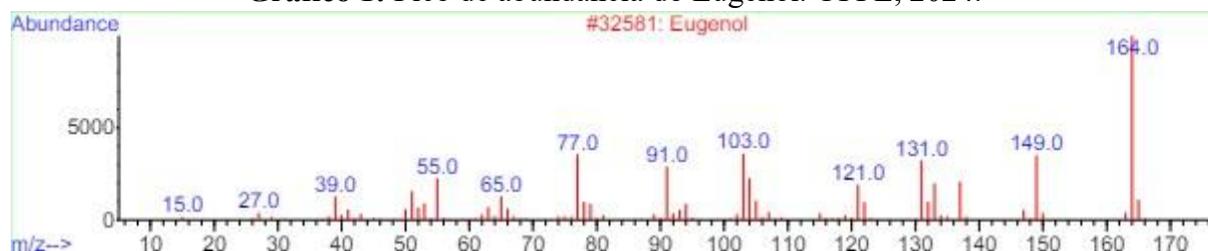
Rendimento das extrações

Tomando uma extração como parâmetro, obteve-se um volume total de 2,4 mL de OE puro, se utilizando de uma massa de 305g de botões florais de cravo-da-índia, resultando em um rendimento de 3,6% massa/volume, que são tidos como mediano segundo (Rodella,2015), que encontrou rendimentos de 3,64% em suas extrações.

Análise dos constituintes químicos por CG-MS

Depois de realizada a separação dos componentes por meio da cromatografia gasosa, que é baseada na distribuição diferenciada das substâncias da amostra entre uma fase estacionária e uma fase móvel, a amostra foi submetida a um espectrômetro de massas para verificar seus componentes majoritários e os seguintes resultados foram obtidos:

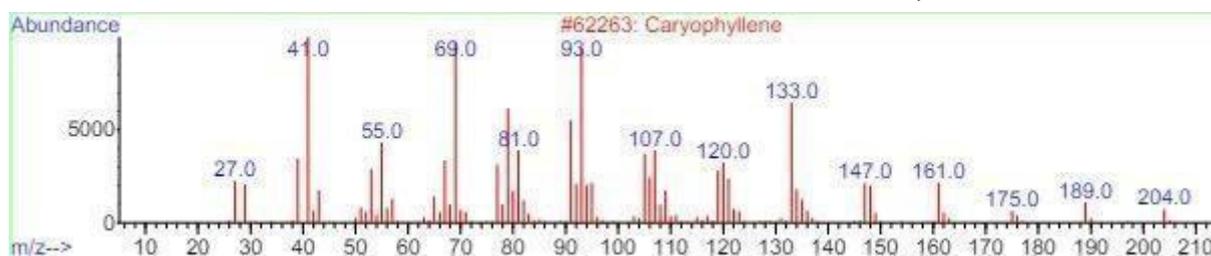
Gráfico 1: Pico de abundância do Eugenol. UFPE, 2024.



No gráfico 1 percebe-se que o Eugenol é o composto majoritário, nota-se que o pico principal também é o pico de base (Abundância 164.0). O pico de base é o pico mais intenso de um espectro de massa, a intensidade relativa do pico de base é 100%, enquanto o pico principal, que é o pico de íon molecular, é a molécula do analito ionizada sem fragmentação e é acompanhado por vários picos inferiores de m/z causados pela fragmentação do íon molecular.

O Cariofileno também foi apontado como um dos compostos majoritários, segundo os gráficos 3 e 4, o seu pico de abundância 83,48% e o pico de íon molecular em relação à massa é de 93.0, como é possível observar no gráfico 2.

Gráfico 2: Pico de abundância do Cariofileno. UFPE, 2024.





A presença dessas substâncias concordam com estudos realizados anteriormente por (Silvestri *et al.* 2010), sua análise por CG-MS mostrou o eugenol como composto majoritário (90,3%) e o cariofileno (4,83%), além do acetato de eugenol (1,87%). Esses estudos também atribuem ao Eugenol a característica deterrente.

Aplicação do óleo em campo

Foi selecionada uma faixa de ciclos quinzenais, sendo os 3 ciclos iniciais e os 3 ciclos iniciais a partir da aplicação do OE, para realizar o estudo comparativo entre a quantidade de ovos coletados no período antes e após a aplicação. Os dados estão expressos na tabela 1.

Tabela 1 - Comparativo de ciclos, quantidade de ovos e aplicação do óleo. IFPE, 2024.

Numeração da armadilha	ciclo 1 (28/11/2023)	Ciclo 2 (12/12/2023)	Ciclo 3 (27/12/2023)	Ciclo 13 (27/05/2024)	Ciclo 14 (11/06/2024)	Ciclo 15 (27/06/2024)
1	63	244	0	86	0	56
2	1	0	2	0	2	1
3	342	294	628	0	50	5
4	0	0	0	0	0	17
5	2	56	200	32	73	0
Total de ovos	408	594	830	118	125	79

Percebe-se que o óleo gerou uma redução significativa na quantidade de ovos, como é o caso do ovitampa nº3, que vinha apresentando ao longo dos ciclos valores acima de 200 ovos, que é considerado bem elevado, e após a aplicação apresentou uma queda significativa, resultando em 0 ovos já na primeira aplicação. O resultado se torna mais evidente quando se observa o total de ovos por cada ciclo, tomando o ciclo 3 como parâmetro, é notável que houve uma queda de 830 ovos para 118 já na primeira aplicação, isso representa 85,8% de queda no número total de ovos desta ovitampa.

Os dados indicam que há uma capacidade deterrente nos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum*, semelhante capacidade que foi observada em outros estudos de deterrência como em (Sales., 2018) que encontrou percentuais de 50% a 60% menos ovos nas armadilhas em que havia a presença de óleo essencial do *Croton rhamnifolioides* utilizado no estudo, como também em (Santos., 2021) que observou um valor percentual de 39,6% para o óleo do *Piper hoffmannsegiannum* em seu estudo de oviposição e mortalidade para pragas agrícolas.



Conclusões

Em vista dos resultados obtidos no teste cromatográfico, o Eugenol é a substância majoritária, representando um grande percentual da composição química do cravo-da-índia. Outros compostos, como o Cariofileno, também foram apontados como sendo majoritários porém não possuem uma concentração muito alta na composição em comparação ao Eugenol.

Na avaliação de deterrência, é possível concluir que o OE causou uma redução significativa na quantidade de ovos em cada ovitrampa, assim como também uma redução na quantidade total de cada ciclo. Visto todos esses fatores é evidente que o óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* possui propriedades deterrentes capazes de repelir o mosquito vetor, se provando uma alternativa aplicável e não poluente como método de controle populacional de vetores, que podem gerar impactos positivos nos combates à epidemia das doenças transmitidas pelo mesmo, assim como diminuir o impacto ambiental gerado pela utilização de compostos sintéticos e possuírem um baixo custo de produção.

Agradecimentos

Agradecimento ao Instituto Federal de Pernambuco (Campus Recife) pela concessão da bolsa PIBIC TÉCNICO.

Referências

ADAMS, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. BRAGA I. A; GOMES A. D; NELSON M, MELLO R. D; BERGAMASCHI D. P. Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição, para detecção de *Aedes aegypti*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.33, n.4, p.347-353, jul-ago, 2000.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, v.16, n.4, p. 295-302, out dez, 2007.

BONAT, W.H.; DALLAZUANNA. H. S.; RIBEIRO JR, P.J. Investigando fatores associados a contagens de ovos de *Aedes aegypti* coletados em ovitrapas em Recife/PE. Rev. Mat. Estat., São Paulo, v.20, n.1, p.1-10, 2000.

CANSIAN, R.L ; STAUDT, A ; BERNARDI, J.L ; PUTON, B.M.S ; OLIVEIRA, D ; DE OLIVEIRA, J.V ; GOMES, A.C.C ; ANDRADE, B.C.O.P ; LEAL, I.C.R ; SIMAS, N.K ; ZENI, J ; JUNGUES, A ; DALLAGO, R.M ; BACKES, G.T ; PAROUL, N. Toxicity and larvicidal activity on *Aedes aegypti* of citronella essential oil submitted to enzymatic esterification . Brazilian journal of biology, v. 83, 2023.

CAVALLI, F. S. ; SEBEN, J. T. BUSATO, M. A; LUTINSKI, J. A; ANDRIOLI, D. C. Controlling the Vector *Aedes Aegypti* and Handling Dengue Fever Bearing Patients / Controle do Vetor *Aedes Aegypti* e Manejo dos Pacientes com Dengue. Revista de pesquisa, cuidado é fundamental, v.11, n. 5, p.1333-1339, 2019.

COHN, M. Succeeding with Agile: Software Development Using Scrum. Addison-Wesley, 2009. CHADEE, D.D.; CORBET, P. S.; TALBOT, H. Proportions of eggs laid by *Aedes aegypti* on different substrates within an ovitrap in Trinidad, West Indies. Medical Veterinary Entomology, v. 9, p.66-70, 1995.

CYPRIANO, Mariana Borges Cerqueira. Encapsulamento de conídios de 23 *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin formulado com óleo de nim visando o controle larval de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ, 2015.

DÍAZ-MENÉNDEZ, M.; TRIGO, E. CALLE-PRIETO, F. Arsuaga, M. Zika virus infection during the Olympic Games in Rio: A fear or an actual risk? Rev Clin Esp., v. 217, n. 3, p.155-160, 2017.



EIRAS, A. E.; SANT'ANA, A. L.; ROQUE, R. A. Characteristics of Grass Infusions as Oviposition Attractants to *Aedes* (*Stegomyia*) (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 43:214-220, 2006. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA), 1993.

Integrated Risk Information System, d-Limonene. CASRN 5989-27-5 FAY, R. W.; ELIASON, D. A. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, v.26, p.531-534, 1966.

FARIAS, E. S.; CANDEIAS, A. L. B. Desenvolvimento de um Sistema de Informações Geográficas para Navegação de Informações Sobre a Dengue. Em III Simpósio Brasileiro de Ciências Geodésicas e Tecnologias da Geoinformação. Recife, 27-30 de Julho de 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. Censo Demográfico, 2010. Resultados do universo: características da população e domicílios. Disponível em . Acesso em jul.2017 LONGLEY, P.A.; GOODCHILD, M.F.; MAGUIRE, D.J.; RHIND, D.W. *Sistemas e Ciência da informação geográfica*. 3 ed. Bookman: Porto Alegre, 2013.

MELO-SANTOS, M.A.V., ARAÚJO, A.P., RIOS, E.M.M., REGIS, L. Long lasting persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* larvicidal activity in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) breeding places is associated to bacteria recycling. *Biological Control*, v. 49, p. 186–191, 2009.

NUNES, M.L.; CARLINI, C.R.; MARINOWIC, D.; NETO, F.K.; FIORI, H. H.; SCOTTA, M. C.; ZANELLA, P. L.; SODER, R.B.; COSTA, J. C. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. *J Pediatr.*, v. 92, n.3, p. 230-240, 2016.

PEREIRA, I. M.; Garcia De Senna Carneiro, T.; PEREIRA, R. R. Developing innovative software in brazilian public universities: Tailoring agile processes to the reality of research and development laboratories. In: Proceeding for the 4th Annual International Conference on Software Engineering & Applications (SEA 2013), 2013.

SANTOS, O. O.; OLIVEIRA, R. A.; SANTOS E.; BOMFIM, J. P. A .; BITTENCOURT, M. A. L. Atividade de Espécies Botânicas (Piperaceae e Myrtaceae) na Oviposição e Mortalidade de Adultos de *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae). *Ensaios e Ciência*, v.25, n.4, 2021, p.424-431.

SILVA, D. M. L.; MARTINS, V. E. P. Óleos essenciais e extratos vegetais como ferramentas alternativas ao controle químico de larvas de *Aedes* spp, *Anopheles* spp e *Culex* spp. doi: 10.12662/2317-3206jhbs.v10i1.4623.p1-15.2022.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYZEWSKI, E.; LERIN L.; ROTTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb). *Rev. Ceres*, Viçosa, v. 57, n.5, p. 589-594, set/out, 2010.



63º Congresso Brasileiro de Química
05 a 08 de novembro de 2024
Salvador - BA