

# ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE MOSQUITO DA DENGUE SUBMETIDAS À DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO DE NIM

Fabrizio Pelizer de Almeida<sup>1</sup>

Flávia Mendes Ribeiro<sup>2</sup>

Mauro Luiz Benigni<sup>3</sup>

## Química Ambiental

### 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.**

### 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

---

<sup>1</sup>Docente - Uniube. Engenharia Ambiental. [fabrizio.almeida@uniube.br](mailto:fabrizio.almeida@uniube.br).

<sup>2</sup>Prof. Dr. Uniube – Campus Marileusa, Uberlândia-MG. Instituto de Tecnologia. [fabrizio.almeida@uniube.br](mailto:fabrizio.almeida@uniube.br).

<sup>3</sup>Graduanda em Engenharia Química da UNIUBE, Uberaba-MG, [flaviamendesribeiro94@gmail.com](mailto:flaviamendesribeiro94@gmail.com).

<sup>3</sup>Prof. Dr. Uniube – Campus Aeroporto, Uberaba-MG. [mauro.benigni@uniube.br](mailto:mauro.benigni@uniube.br).

(*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.

## **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:

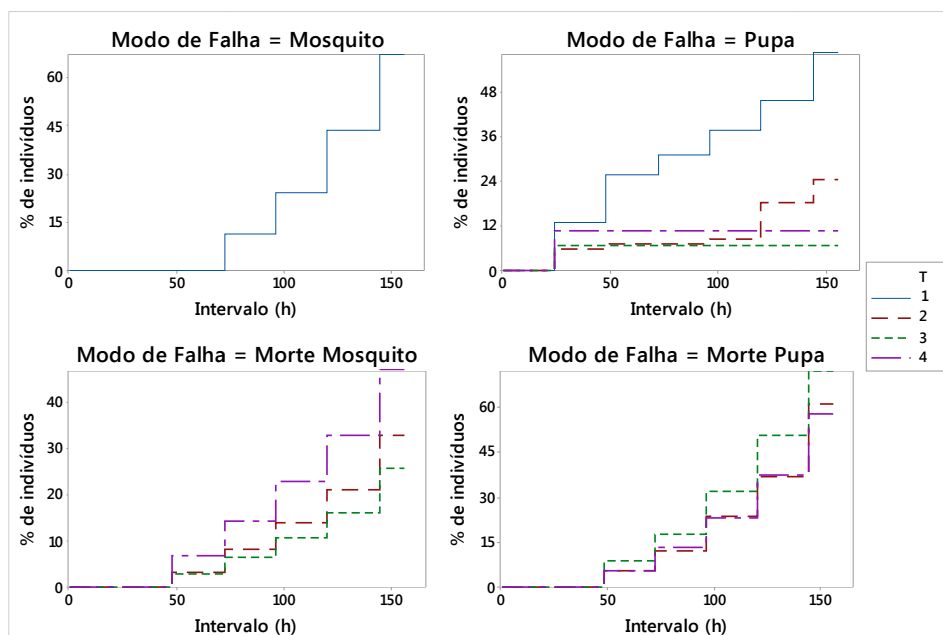
$$\hat{S}(t) = \prod_{j:t_j < t} \left( \frac{n_j - d_j}{n_j} \right) = \prod_{j:t_j < t} \left( 1 - \frac{d_j}{n_j} \right) \text{Equação 1.}$$

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.

## 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), apresenta 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).

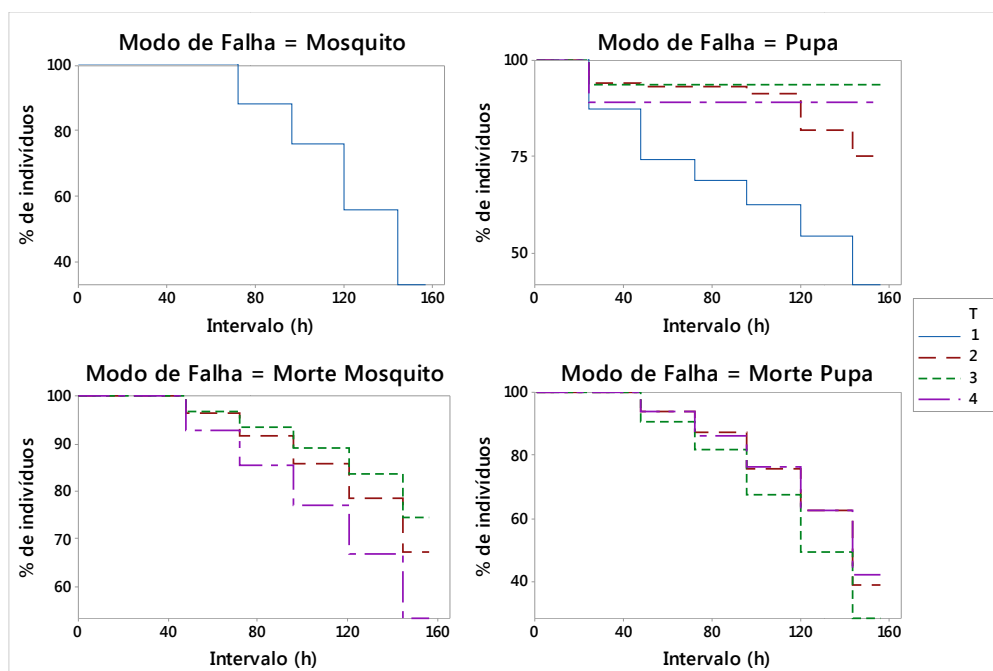


Fonte: Elaborado pelos autores.

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.

## 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.