

# USO DE SOLUÇÃO SATURADA DE NaCl NO CONTROLE DE IMATUROS DE *Aedes aegypti*

USE OF SATURATED NaCl SOLUTION TO CONTROL IMATURES OF *Aedes aegypti*

Rafael Benedito Lima de Jesus<sup>1</sup>, João Manoel de Queiroz<sup>1</sup>, Talita da Silva Barbosa<sup>1</sup>, Francine Alves da Silva Coêlho<sup>2</sup>, Matheus Diniz Gonçalves Coêlho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduandos do curso de Enfermagem - Centro Universitário FUNVIC, Pindamonhangaba-SP.

<sup>2</sup>Mestre, docente - Instituto Básico de Biociências, Universidade de Taubaté, Taubaté-SP

<sup>3</sup>Doutor, docente do Centro Universitário FUNVIC, Pindamonhangaba-SP.

\*Correspondência: prof.matheuscoelho.pinda@unifunvic.edu.br

RECEBIMENTO: 17/05/21 - ACEITE: 14/07/21

## Resumo

Dípteros culicídeos do gênero *Aedes* desempenham um importante papel na disseminação de agentes etiológicos de diversas arboviroses, dentre as quais o Zika vírus, a febre Chikungunya, dengue e febre amarela. Várias opções para prevenção primária podem ser direcionadas para romper o ciclo de transmissão de tais enfermidades, sendo o controle de populações desse inseto uma das medidas mais eficazes. Entretanto, a notável plasticidade ecológica e a resistência frente a substâncias inseticidas tornam as ações de manejo e controle insuficientemente eficazes. Sendo assim, no presente trabalho objetivou-se determinar a aplicabilidade de soluções salinas preparadas com diferentes saturações de NaCl para controle de imaturos de *Aedes aegypti*. Foram preparadas soluções de NaCl nas diluições de 7%, 3,5%, 1,75%, 0,875%, 0,4375%, 0,21875%, 0,109375% nas quais foram acrescentadas 300 larvas de terceiro e quarto estágios evolutivos, sendo estas separadas em 10 grupos de trinta larvas, para cada diluição testada, determinando-se a mortalidade após 1, 6 e 24 horas. Observou-se 100% de atividade larvicida na diluição de 7%, porém com decréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) em saturações menores, apontando para um potencial do uso de soluções de NaCl para a prevenção primária de doenças transmitidas por este vetor, no que concerne ao controle de imaturos.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*. Extratos vegetais. Toxicidade.

## Abstract

Culicidae dipterans of the genus *Aedes* play an important role in the dissemination of etiologic agents of several arboviruses, among which are the Zika virus, Chikungunya fever, dengue and yellow fever. Several options for primary prevention can be directed to break the cycle of transmission of such diseases, being the control of populations of this insect one of the most effective measures. However, the remarkable ecological plasticity and resistance to insecticidal substances make the management and control actions insufficiently effective. Thus, the present study aimed to determine the applicability of saline solutions prepared with different NaCl saturations to control immature *Aedes aegypti*. NaCl solutions were prepared in dilutions of 7%, 3.5%, 1.75%, 0.875%, 0.4375%, 0.21875%, 0.109375% in which 300 third and fourth evolutionary larvae were added, which were separated into 10 groups of thirty larvae, for each dilution tested, determining mortality after 1, 6 and 24 hours. Larvicidal activity was observed at 7% dilution, but with a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in smaller saturations, pointing to a potential for the use of NaCl solutions for the primary prevention of diseases transmitted by this vector, with regard to the control of the immature.

Keywords: *Aedes aegypti*. Plant extracts. Toxicity.

## Introdução

A origem do mosquito *Aedes aegypti* remete ao Egito. Os primeiros casos registrados dessa espécie de díptero datam de 1762, onde o inseto recebeu o nome de *Culex aegypti*, porém, em 1818 passou a ser denominado *Aedes aegypti*, após a descrição do gênero *Aedes*, sendo esta a nomenclatura que vigora nos dias atuais.<sup>1</sup>

As populações desse inseto vêm se espalhando pelas regiões tropicais e subtropicais do planeta desde o século XVI, período das Grandes Navegações. Admite-se que o vetor foi introduzido no Novo Mundo no período colonial, por meio de navios que traficavam escravos, ampliando a distribuição geográfica desta espécie e maximizando-se riscos para a saúde pública, já que espécies do gênero *Aedes* são capazes de transmitir diversas enfermidades, destacando-se quatro arboviroses nas américas, a saber: Dengue, Zika, Chikungunya e Febre amarela.<sup>2</sup>

O aumento da população de *Ae. aegypti* está relacionado com a falta dos cuidados básicos como eliminação da água parada em vasos de plantas, pneus, garrafas plásticas, piscinas sem uso e sem manutenção, e até mesmo em recipientes pequenos, como tampas de garrafas, tornando-se importante o controle populacional dessa espécie como forma de diminuir a incidência de tais enfermidades.<sup>3</sup>

Um dos fatores que influencia na persistência populacional de *Ae. aegypti* diz respeito a sua elevada plasticidade ecológica, podendo estabelecer populações a partir de diversos criadouros naturais ou antropogênicos, bem como devido a resistência aos inseticidas utilizados para o seu controle.<sup>4</sup>

O uso de inseticidas organofosforados (OF) com propriedade larvicida tem sido a estratégia de escolha para o controle de larvas de *Ae. Aegypti*, porém, a Rede Nacional de Monitoramento de Resistência dessa espécie a inseticidas (MoReNa) detectou que a partir de 1999 o principal OF utilizado, o Temefós Fersol 500 CE (Fersol Ind. E Comércio AS), passou a apresentar baixa eficácia, sendo substituído por inseticidas “alternativos”.<sup>5</sup>

Outras substâncias têm sido propostas como alternativa aos OF, dentre as quais piriproxifeno (hormônio juvenil), novaluron (inibidor de quitina) e spinosad (biolarvicida), porém com riscos para o uso excessivo. Recentemente foi demonstrado o potencial teratogênico do piriproxifeno em experimentos realizados com ratas Wistar.<sup>6</sup> Santorum et al.<sup>7</sup> demonstraram efeitos citotóxicos de Novarulon frente ao bicho-da-seda, evidenciando, dessa forma, risco do uso dessa substância, devido a sua não especificidade para uso contra *Ae. Aegypti*. Por fim, Spinosad, um biolarvicida de baixo risco

para o ambiente, tem-se apresentado com baixa eficácia, devido a seleção de cepas resistentes de dípteros da espécie *Musca domestica*.<sup>8,9</sup>

Dessa forma destaca-se a importância do delineamento de pesquisas visando identificar estratégias pouco tóxicas e eficazes para o controle de populações de *Aedes aegypti*. Sendo assim, no presente trabalho objetivou-se avaliar a aplicabilidade do uso de solução saturada de NaCl para o controle de imaturos de *Ae. Aegypti*.

## Método

Para coleta de imaturos de culicídeos, foram montadas armadilhas utilizando pneus usados de Kart, as quais foram distribuídas em um campus de uma instituição de ensino superior com sede na região do vale do Paraíba.

As larvas coletadas foram encaminhadas ao laboratório de Parasitologia da Universidade de Taubaté, para fins de identificação, segundo chave de identificação de culicídeos de área urbana, da Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo. Larvas pertencentes à espécie *Ae. aegypti* foram separadas e encaminhadas para o laboratório de parasitologia do Centro Universitário FUNVIC, e mantidas a temperatura ambiente até o início dos experimentos. No delineamento dos testes foram incluídas apenas larvas de 3º e 4º estágio que se apresentassem ativas, sendo excluídas larvas com sinais de perda de vitalidade, com movimentação diminuída e que se apresentassem em outros estágios de evolução larval ou na forma de pupa.

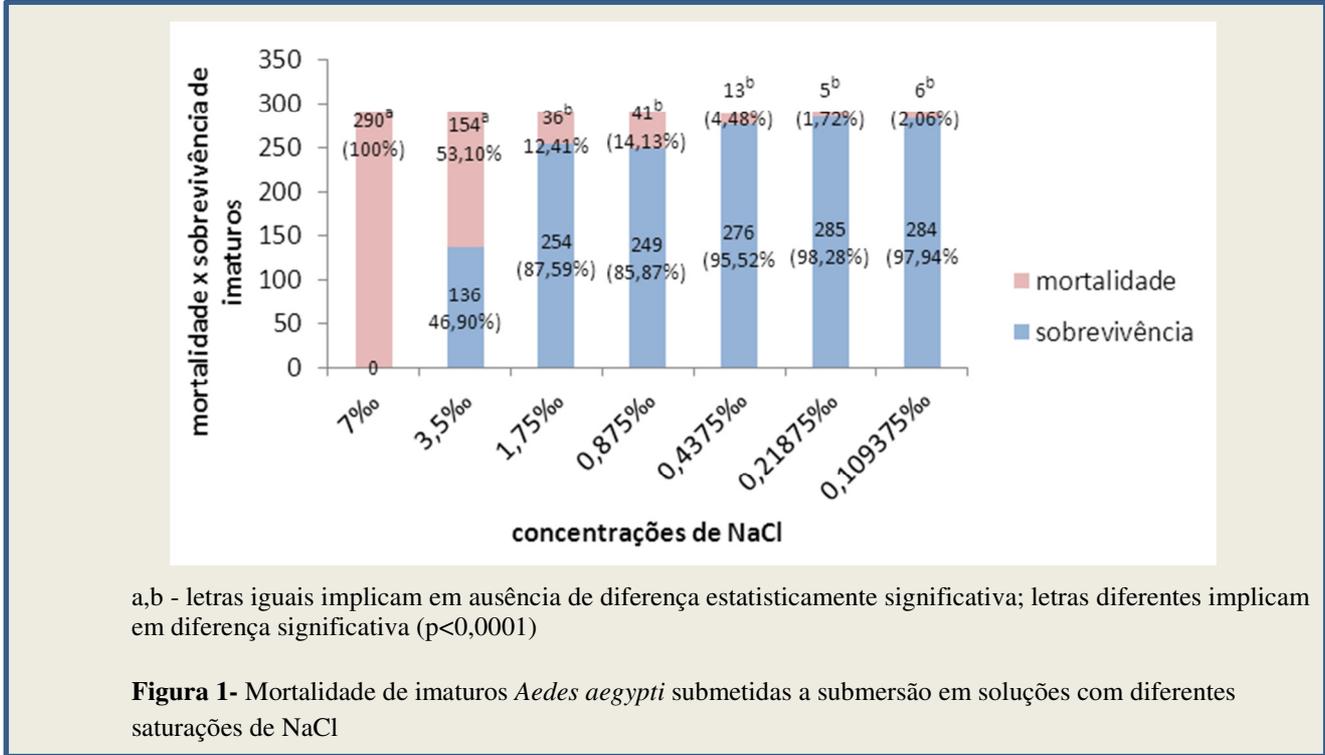
Para avaliar a eficácia do uso de solução saturada de NaCl para o controle de imaturos de *Ae. Aegypti*, inicialmente foi preparada uma solução salina saturada na concentração de 7%, mediante diluição de 7 gramas de NaCl em 100 mL de água desclorada. A partir dessa diluição, diluições sucessivas foram preparadas, de forma a se obter as concentrações de 3,5%, 1,75%, 0,875%, 0,4375%, 0,21875%, 0,109375%, nas quais foram acrescentadas larvas de terceiro e quarto estágios evolutivos da espécie alvo, sendo estas separadas em 30 grupos de dez larvas, para cada diluição testada. Cabe destacar que um grupo controle foi utilizado, sendo este composto por larvas que foram submersas em água desclorada, sendo também separadas em 30 grupos de dez larvas.

A determinação da eficácia se deu mediante avaliação da mortalidade após 1, 6 e 24 horas, e, para avaliação dos resultados obtidos utilizou-se o método ANOVA e Teste de Kruskal-Wallis, para variação entre as amostras e o Teste de Dunn, para identificação quais amostras diferiram

significativamente ( $p < 0,05$ ). O programa Bioestat 5.0 foi utilizado como ferramenta de apoio para os cálculos estatísticos.

No presente trabalho avaliou-se a influência da salinidade na sobrevivência de imaturos de *Ae. aegypti* frente a soluções saturadas de NaCl. Os resultados da sobrevivência e mortalidade dos imaturos estão disponibilizados na figura 1.

**Resultados**



De outra forma, as mortalidades de imaturos de *Ae. aegypti* nas diferentes

saturações de NaCl no decorrer do tempo estão expostas na tabela 1.

		TEMPO DE OBSERVAÇÃO							
		1 H		6 H		12 H		24 H	
		V.A.	V.R	V.A.	V.R	V.A.	V.R	V.A.	V.R
CONCENTRAÇÃO	7‰	290	100%	290	100%	290	100%	290	100%
	3,5‰	124	42,75%	154	53,10%	154	53,10%	154	53,10%
	1,75‰	30	10,34%	35	12,06%	35	12,06%	36	12,41%
	0,875‰	30	10,34%	41	14,13%	41	14,13%	41	14,13%
	0,4375‰	1	0,34%	12	4,13%	13	4,48%	13	4,48%
	0,21875‰	0	0%	3	1,03%	5	1,72%	5	1,72%
	0,109375‰	0	0%	2	0,68%	5	1,72%	6	2,06%

**Discussão**

Os resultados expostos no presente trabalho permitiram identificar que houve uma elevada mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* em salinidade de 7‰ (figura 1), com indução de 100%

de morte de larvas. Observou-se também uma predominância de mortalidade após uma hora do início da exposição às suspensões salinas avaliadas (tabela 1), indicando índices de tolerância à salinidade significativamente inferiores aos observados nas suspensões iguais ou inferiores a 3,5‰ de NaCl.

A tolerância de imaturos de *Ae. aegypti* a salinidade já foi relatada por diversos autores<sup>10-12</sup> e os resultados apresentados neste estudo corroboram com os apresentados por Silva et al.<sup>11</sup> os quais evidenciaram 66% de mortalidade de larvas na concentração de 3,6‰, concentração esta que foi a máxima analisada por estes. De outra forma, os resultados aqui apresentados foram opostos aos evidenciados por Arduino et al.<sup>12</sup> os quais observaram ausência de mortalidade de larvas provenientes tanto de região de planalto quanto de região litorânea do sudeste de São Paulo, não apenas na concentração de 7‰, como também na concentração de 10,5‰, só identificando 50% de mortalidade na concentração de 14‰.

Resultados intermediários entre os aqui apresentados e os apresentados por Arduino et al.<sup>12</sup> foram evidenciados por Ratnasari et al.,<sup>10</sup> os quais demonstraram que a mortalidade de 50% de imaturos (CL50) se deu em concentrações de sal próximas a 10‰, tanto para isolados de regiões intracontinentais, como para isolados de regiões litorâneas. As divergências parciais entre os resultados de diversas pesquisas relacionadas ao tema aqui proposto podem ser explicadas por alguns fatores relacionados à capacidade adaptativa de *Ae. aegypti*, bem como a forma de delineamento experimental utilizada pelos diferentes pesquisadores.

As semelhanças entre o presente estudo e o estudo de Silva et al.<sup>11</sup> e, de forma contrastante, as discrepâncias observadas entre os resultados aqui apresentados e as evidências científicas de Arduino et al.,<sup>12</sup> estão possivelmente relacionadas ao fato de *Ae. Aegypti* ser uma espécie de culicídeo eurialino osmoconformista, portanto capaz de viver em coleções de água onde a salinidade varia, necessitando, entretanto, passar por um processo de aclimação, de forma a apresentar maior tolerância à pressão osmótica elevada na hemolinfa.

Assim, a relativamente baixa resistência a salinidade exposta no presente trabalho provavelmente está relacionada ao fato de que as larvas utilizadas eclodiram em água doce e só depois foram acondicionadas nos recipientes contendo diferentes concentrações de NaCl, sofrendo dessa forma uma sobrecarga imediata de salinidade, sem que houvesse um tempo de adaptação, diferente do que ocorreu nos delineamentos experimentais desenvolvidos por Ramasamy et al.<sup>13</sup> ou Arduino et al.,<sup>12</sup> os quais iniciaram seus experimentos partindo de insetos adultos, que realizaram a ovipostura nas superfícies dos recipientes contendo água salgada, permitindo assim que as larvas recém-eclodidas em meios salobres não sofressem de forma significativa um choque fisiológico ou metabólico.

Há ainda a possibilidade de que essa adaptabilidade seja geneticamente herdável, de modo que gerações passadas de cepas de *Ae. Aegypti* resistentes à salinidade podem ter adquirido essa capacidade no decorrer do tempo, transferindo tal habilidade de forma definitiva para as gerações posteriores. Dessa forma, é possível que as diferenças dos resultados aqui expostos com os obtidos por diferentes autores estejam também relacionadas com os isolados populacionais de alados que foram utilizados, de modo que os pesquisadores que demonstraram uma resistência mais elevada à salinidade podem ter utilizado isolados que foram naturalmente expostos a oscilações ambientais de salinidade e, conseqüentemente, se adaptaram e transferiram essa herança genética às descendências, o mesmo possivelmente não vindo a ocorrer com os isolados utilizados no presente trabalho.

Ramasamy et al.<sup>13</sup> evidenciaram tal hipótese ao avaliarem a possibilidade ou não de perda dessa habilidade após exposição de diversas gerações de cepas resistentes a salinidade à água dessalinizada. Tais autores observaram que mesmo após cinco gerações de adaptação à água doce, cepas de *Ae. aegypti* derivadas de água salobra permaneceram tolerantes à salinidade, demonstrando assim uma capacidade geneticamente herdada, mesmo após mudanças ambientais para ambientes menos salobres.

Cabe destacar que, mesmo existindo discrepâncias relacionadas à concentração de NaCl necessária para inviabilizar 100% de larvas de *Ae. aegypti*, não só no presente artigo como também em todos os artigos consultados, independente da metodologia utilizada, demonstrou-se haver uma concentração 100% inibitória que oscilou entre 7% e 17,5%, permitindo inferir a potencialidade do uso de soluções salinas hipertônicas para o controle de populações desse vetor, que pode ser aprimorado e avaliado em futuros estudos, mediante uso concomitante com outras estratégias, que possam apresentar um efeito sinérgico ao efeito da salinidade, no controle de populações de *Ae. Aegypti*.

O controle efetivo dos vetores deve dispor de várias alternativas, adequáveis a realidade local, e que venham a permitir sua execução de forma integrada e seletiva, de acordo com as condições ambientais e a dinâmica populacional do vetor<sup>14</sup>, e, neste sentido, o uso de NaCl apresenta um elevado potencial, uma vez que, se utilizado de forma integrada, pode diminuir o uso de substâncias inseticidas, dentre as quais os inseticidas carbamatos, organofosforados e piretróides, os quais, se utilizados de forma não racional, podem

não só causar impactos ambientais, como também propiciar a seleção de cepas resistentes.

O estudo realizado apresentou limitações quanto à amostra, já que as larvas utilizadas foram provenientes exclusivamente de região periurbana de um município de região de vale, não litorânea, e também não tendo estas originalmente eclodido em meio salino. Outra limitação diz respeito ao fato de que a resistência à salinidade foi determinada apenas de forma aguda, com acompanhamento por um período de 24 horas, e, por fim, não foram realizados testes com outras fases evolutivas para além das larvas de 3º e 4º estágio.

## Conclusão

Conclui-se que o uso de solução saturada de NaCl em concentrações iguais ou superiores a 7‰ é uma estratégia aplicável para o controle de larvas de *Aedes aegypti*, porém, devido a possibilidade de adaptação à salinidade, por parte de isolados desta espécie, faz-se necessário o delineamento de estudos de eficácia de tal medida preventiva na prática da vigilância epidemiológica, bem como o delineamento de estudos que possam definir uma concentração de NaCl capaz de inviabilizar o desenvolvimento de larvas de *Ae. aegypti* em diferentes estágios evolutivos e independente de sua adaptabilidade a salinidade.

## Referências

- Zara ALSA, Santos SM, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle de *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol Serv Saúde*. 2016;25(2):391-404. DOI: 10.5123/S1679-49742016000200017
- Lopes N, Nozawa C, Linhares REC. Características gerais e epidemiologia das arboviroses emergentes no Brasil. *Rev Pan-amaz Saúde*. 2014;5(3):55-64. DOI: 10.5123/S2176-62232014000300007
- Busato MA, Corralo VS, Guarda C, Zulian V, Lutinski JÁ, Bordin SMS. Evolução da infestação por *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) nos municípios do oeste do estado de Santa Catarina. *Rev Saúde Públ Santa Cat*. 2014;7(9):107-18.
- Affeldt PES, Maciel LTR, Bozo LSO, Alves APSM, Silva-Coelho FAS, Akisue G, Coelho MDG. Avaliação da atividade inseticida de látex e extratos vegetais frente a culicídeos. *Rev Biociências*. 2016;22(1):61-7.
- Fonseca EOL, Macoris MLG, Santos RF, Morato DG, Santa-Isabel MDS, Cerqueira NA, Monte-Alegre AF. Estudo experimental sobre a ação de larvicidas em populações de *Aedes aegypti* do município de Itabuna, Bahia, em condições simuladas de campo. *Epidemiol Serv Saúde*. 2019;28(1):e2017316. DOI: 10.5123/S1679-49742019000100004. <https://www.scielo.br/j/ress/a/SVWJzZq7Q3NDK3kcZ9fMx7w/?lang=pt&format=pdf>
- Sartori A, Hollenback CB, Jardim LH, Silva P, Mello FB, Mello JRB. Avaliação da toxicidade pré-natal: estudo da teratogenicidade do inseticida piriproxifeno em ratos Wistar. *Arq Bras Vet Med Zootec*. 2020;72(3):719-28. DOI: 10.1590/1678-4162-11251
- Santorum M, Brancalhão RMC, Guimarães ATB, Padovani RP, Tettamanti G, Santos DC. Negative impact of Novarulon on the nontarget insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Environ Pollut*. 2019;249:82-90. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.02.095
- Zhang Y, Guo M, Ma Z, You C, Gao X, Shi H. Esterase-mediated spinosad resistance in house flies *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Ecotoxicol*. 2020;29(1):35-44. DOI: 10.1007/s10646-019-02125-y
- Khan HAA. Spinosad resistance affects biological parameters of *Musca domestica* Linnaeus. *Sci Rep*. 2018;8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32445-8>
- Ratnasari A, Jabal AR, Syahribulan, Idris I, Rhma N, Rustam SNRN, Karmila M, Hasan H, Wahid I. Salinity tolerance of larvae *Aedes aegypti* in land and coastal habitats in Pasangkayu, West Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*. 2021;22(3):1203-10. DOI: 10.13057/biodiv/d220316
- Silva DL, Araújo CRQ, Siqueira CVS, Cunha IMF, Gomes-Junior PP. Efeito da Salinidade (NaCl) no desenvolvimento larval de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). *GETEC*. 2019;8(21):107-16.
- Arduíno MB, Mucci LF, Serpa LLN, Rodrigues MM. Effect of salinity on the behavior of *Aedes aegypti* populations from the coast and plateau of Southern Brazil. *J Vector Borne Dis*. 2015;53:79-87.
- Ramasamy R, Surendran SN, Jude PJ, Dharshini S, Vinobaba M. Larval development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in peri-urban brackish water and its implications for transmission of arboviral diseases. *PLOS Negl trop dis*. 2011;5(11):e1369. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001369
- Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiol Serv Saúde*. 2007;16(4):279-93. DOI: 10.5123/S1679-49742007000400006