



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS



MIRIAM DOS SANTOS MAGALHÃES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO
DA ESPÉCIE *Anacardium occidentale* Linneu

Macapá
2015

MIRIAM DOS SANTOS MAGALHÃES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO
DA ESPÉCIE *Anacardium occidentale* Linneu**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá- UNIFAP, na área de concentração Biologia Farmacêutica como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto.

Co- orientador: Prof. Dr. Jesus Rafael Rodriguez Amado.

Macapá
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

668.651

M188a Magalhães, Miriam dos Santos.

Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcóolico da espécie *Anacardium occidentale* Linneu / Miriam dos Santos Magalhães, orientador, Raimundo Nonato Picanço Souto; co-orientador, Jesus Rafael Rodriguez Amado. – Macapá, 2015.
60 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Atividade larvicida. 2. *Aedes aegypti*. 3. *Anacardium occidentale*. 4. *Culex quinquefasciatus*. I. Souto, Raimundo Nonato Picanço, orient. II. Amado, Jesus Rafael Rodriguez, (co-orient). III. Fundação Universidade Federal do Amapá. IV. Título.

MIRIAM DOS SANTOS MAGALHÃES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO
DA ESPÉCIE *Anacardium occidentale* Linneu**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá- UNIFAP, na área de concentração Biologia Farmacêutica como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data da aprovação: _____/_____/_____

Orientador: Prof.º Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto

Avaliador 1

Avaliador 2

Dedico aos meus pais, pelo incentivo, ao meu esposo, pela compreensão, e aos meus filhos, pelos carinhos nos momentos mais difíceis e por enfrentar minhas constantes ausências.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, saúde, força, iniciativa, coragem e por não ter-me permitido desistir em tantos momentos difíceis, por tudo.

Aos meus filhos, por existirem e suportarem minha ausência, ao meu esposo, pelo amor, pela enorme ajuda em todos os sentidos e certeza de que tudo daria certo, aos meus pais, pela grande força e por terem depositado em mim tão imensa confiança.

Ao meu orientador Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto, pela compreensão dos percalços enfrentados durante estes dois anos, pela amizade e orientação e por ter acreditado em mim.

Ao Prof. Dr. Jesus Rafael Rodriguez Amado, pela mão estendida no momento mais crucial desta dissertação, pela dedicação e paciência, sem ele, eu não teria conseguido.

À equipe do Laboratório de Arthropoda e do insetário, locais onde tive a oportunidade única de aprender e desenvolver minha pesquisa através do ensinamento, paciência, amizade e ajuda de pessoas maravilhosas que ali sempre se encontram.

Ao prof. Dr. Caio Pinho Fernandes, por ter muito me ajudado e ensinado, e a sua equipe do Laboratório de Nanobiotecnologia fitofarmacêutica pelo desenvolvimento de parte da minha pesquisa e pela tentativa valiosa onde muito aprendi.

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Fármacos, por ter me acolhido.

A uma grande amiga, Dayse Maria da Cunha Sá, pelo incentivo na realização deste mestrado.

À amiga Gisele Custódio de Souza, pela grande ajuda e paciência.

À Universidade Federal do Amapá, através do Programa de Pós- graduação em Ciências Farmacêuticas.

Ao prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa, coordenador do mestrado em Ciências Farmacêuticas, pela sensibilidade e compreensão.

Aos amigos, poucos, mas verdadeiros que de alguma forma, direta ou indiretamente, ajudaram a compor esta pesquisa e me acompanharam nesta jornada.

As dificuldades que você encontra se resolverão conforme você avançar. Prossiga, e a luz aparecerá, e brilhará com clareza crescente em seu caminho.

Jean le rond D' Alanbert

RESUMO

O uso de plantas com atividade larvicida tem sido uma opção eficiente e segura na busca por alternativas no combate ao mosquito *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Extratos obtidos da espécie *Anacardium occidentale* Linn. (Cajueiro) têm mostrado atividade larvicida promissora frente a diferentes espécies de insetos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade larvicida do extrato hidroalcolico a 70 % da casca da castanha de caju em diferentes cepas de mosquitos em condições de laboratório. O extrato foi obtido por maceração durante três dias, utilizando-se como solvente o etanol 70%. A casca fresca da castanha de caju foi usada como droga. Utilizou-se uma relação droga: solvente 1:3. O extrato foi caracterizado preliminarmente. Para isto, avaliaram-se propriedades organolépticas, pH, densidade, resíduo de evaporação, cinzas totais e o teor de polifenóis. A atividade larvicida foi avaliada na espécie *Aedes aegypti* (linhagem Macapá e Rockefeller) e *Culex quinquefasciatus*. As larvas foram expostas a diferentes concentrações do extrato. A mortalidade larval foi observada após 24 e 48 h. Os dados da mortalidade foram submetidos à análise Probit para determinação da CL₅₀. Pela primeira vez o extrato hidroalcolico a 70 % da casca da castanha de caju foi obtido e caracterizado, físico e quimicamente. Os resultados demonstraram que o extrato de *Anacardium occidentale* Linn apresentou potencial atividade larvicida contra as espécies testadas. O valor da CL₅₀ para *Culex quinquefasciatus* foi de 0,52 ppm, para *Aedes aegypti* (linhagem Macapá) foi de 0,94 ppm e para *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) foram de 0,74 (24h) e 0,68 (48h). O efeito larvicida do extrato para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) foi dependente do tempo de exposição.

Palavras-chave: Atividade larvicida. *Anacardium occidentale*. *Aedes aegypti*. *Culex quinquefasciatus*.

ABSTRAT

The use of plants with larvicidal activity has been an effective and safe option in the search for alternatives to combat *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Extracts obtained from species *Anacardium occidentale* Linn (cashew) have shown promissory larvicidal activity against different insect species. The objective of this study was to evaluate the larvicidal activity of hydroalcoholic extract of the shell of the cashew nut in different strains of mosquitoes under laboratory conditions. The extract was obtained by maceration for three days using ethanol 70% as a solvent. Fresh bark of cashew nuts was used as drug. A ratio drug: solvent 1:3 was used. The extract was preliminarily characterized. For this, was evaluated organoleptic properties, pH, density, evaporation residue, total ash and polyphenol content. The larvicidal activity was evaluated in the species *Aedes aegypti* (Macapa strain and Rockefeller) and *Culex quinquefasciatus*. Larvae were exposed to different concentrations of the extract. Larval mortality was observed after 24 and 48 h. The mortality data were subjected to Probit analysis to determine the LC₅₀. For the first time, the hydroalcoholic extract 70% of the shell of the cashew nut was obtained and characterized, physical and chemically. The results showed that the *Anacardium occidentale* Linn extract has potential larvicidal activity against the tested species. The LC₅₀ value for *Culex quinquefasciatus* was 0.52 ppm, for *Aedes aegypti* (Macapa strain) was 0.94 ppm and *Aedes aegypti* (Rockefeller strain) were 0.74 at 24h and 0.68 at 48h. The larvicidal effect of the extract for the species *Aedes aegypti* (Rockefeller strain) was dependent on the exposure time.

Key-words: Larvicidal activity. *Anacardium occidentale*. *Aedes aegypti*. *Culex quinquefasciatus*.

LISTA DE ABREVIACÕES

ARTHROLAB- Laboratório de Arthropoda

AC- antes de cristo

Bt- Bacillus thuringiensis

C_(x)- concentração da amostra

%CT- porcentagem de cinzas totais

CL 50 – concentração letal que mata 50% das larvas

CNSL- cashew nut shell liquid

DENV 1- Sorotipo 1 do vírus da dengue

DENV 2- Sorotipo 2 do vírus da dengue

DENV 3- Sorotipo 3 do vírus da dengue

DENV 4- Sorotipo 3 do vírus da dengue

DC-dengue clássica

FT- fenóis totais

FHD- Febre hemorrágica da dengue

HAMAB- Herbário Amapaense

LCC- líquido da castanha de caju

LAT.- Latitude

LONG.- Longitude

MCV- massa do cadinho vazia

MCEC- massa do cadinho com extrato

MCC- massa do cadinho com cinza

OP- Organofosforados

OMS- Organização Mundial de Saúde

P- Piretróides

RFC- reativo de Folin Ciocalteu

SP- solução padrão

SM- solução da amostra

SCS- solução de carbonato de sódio

SCD- síndrome do choque da dengue

UNIFAP- Universidade Federal do Amapá

WHO- World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1 | Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> Linn)..... | 19 |
| Figura 2 | Extrato da casca de castanha de caju..... | 33 |
| Figura 3 | Bioensaios realizados com as larvas de mosquito..... | 39 |
| Figura 4 | Fruto e pseudofruto (A) Constituintes da castanha de caju (B e C)..... | 40 |
| Figura 5 | Amostra do extrato hidroalcoólico 70% da casca da castanha de caju demonstrando a cor marron escuro..... | 41 |
| Figura 6 | Curva de calibração ajustada para a determinação de polifenóis pelo método de Folin Ciocalteu..... | 43 |
| Figura 7 | Linha de regressão mortalidade vs concentração nos tempos 24 e 48h para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> | 45 |
| Figura 8 | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> | 47 |
| Figura 9 | Linha de regressão mortalidade vs concentração e os tempos 24 e 48h para a espécie <i>Aedes aegypti</i> Macapá..... | 49 |
| Figura 10 | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> Macapá..... | 50 |
| Figura 11 | Linha de regressão mortalidade vs concentração às 24 e 48h para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Rockefeller)..... | 51 |
| Figura 12 | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Rockefeller) no período 24h..... | 53 |
| Figura 13 | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Rockefeller) no período 48h..... | 53 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------------|--|----|
| Tabela 1 | Preparação das quantidades de reagentes e amostras para a curva de calibração..... | 37 |
| Tabela 2 | Características físico-químicas preliminares do extrato hidroalcolico da castanha de caju..... | 42 |
| Tabela 3 | Composição mineral da casca da castanha de caju..... | 43 |
| Tabela 4 | Análise de regressão múltipla para comparação das linhas de regressão e os tempos 24 e 48h..... | 45 |
| Tabela 5 | Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> | 46 |
| Tabela 6 | Análise de regressão múltipla para a comparação das linhas de regressão para os tempos 24 e 48h para <i>Aedes aegypti</i> Macapá..... | 48 |
| Tabela 7 | Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para a determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> Macapá..... | 49 |
| Tabela 8 | Análise de regressão múltipla para a comparação das linhas de regressão para os tempos 24 e 48h para <i>Aedes aegypti</i> linhagem Rockefeller..... | 51 |
| Tabela 9 | Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para a determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Rockefeller)..... | 52 |

Sumário

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. OBJETIVOS | 17 |
| 2.1. GERAL | 17 |
| 2.2. ESPECÍFICOS | 17 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 18 |
| 3.1. A ESPÉCIE <i>Anacardium occidentale</i> Linn..... | 18 |
| 3.2. ATIVIDADE LARVICIDA DE ESPÉCIES VEGETAIS | 21 |
| 3.3. A RESISTÊNCIA AOS INSETICIDAS QUÍMICOS | 25 |
| 3.4. DENGUE E ELEFANTÍASE: PROBLEMÁTICAS MUNDIAIS | 27 |
| 3.4.1. Conhecendo a dengue | 27 |
| 3.4.1.1. Ovo | 28 |
| 3.4.1.2. Larva | 28 |
| 3.4.1.3. Pupa | 29 |
| 3.4.1.4. Adulto | 29 |
| 3.4.2. Conhecendo a Filariose Linfática (FL) | 30 |
| 4. MATERIAL E MÉTODO | 33 |
| 4.1. MATERIAL VEGETAL..... | 33 |
| 4.2. CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DO FRUTO DO CAJU..... | 33 |
| 4.2.1. Determinação dos parâmetros organolépticos | 34 |
| 4.2.2. Determinação da densidade relativa do extrato | 34 |
| 4.2.3. Determinação do pH | 35 |
| 4.2.4. Determinação das cinzas totais | 35 |
| 4.2.5. Determinação de resíduo de evaporação | 35 |
| 4.2.6. Determinação da composição mineral | 36 |
| 4.2.7. Determinação de polifenóis Totais pelo Método Folin Ciocalteu | 36 |
| 4.2.7.1. Preparação da solução padrão de ácido pirogálico 0,025 mg/mL | 36 |
| 4.2.7.2. Preparação da curva de calibração | 36 |

| | | |
|----------|--|----|
| 4.2.7.3. | Preparação da amostra..... | 37 |
| 4.2.7.4. | Determinação dos Polifenóis totais em porcentagem..... | 37 |
| 4.3. | AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA | 38 |
| 4.3.1. | Obtenção das Larvas | 38 |
| 4.3.2 | Desenho experimental para o ensaio biológico | 38 |
| 4.4. | ANÁLISE DOS DADOS | 39 |
| 5. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 5.1. | CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO 70% DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU..... | 40 |
| 5.1.1. | Características organolépticas | 40 |
| 5.1.2. | Propriedades físico-químicas | 41 |
| 5.1.2.1. | Avaliação da composição mineral..... | 42 |
| 5.1.2.2. | Avaliação dos polifenóis | 43 |
| 5.2. | AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO 70% DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU | 44 |
| 5.2.1. | Avaliação da atividade larvicida para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i>. | 44 |
| 5.2.1.1. | Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> | 44 |
| 5.2.1.2. | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Culex quinquefasciatus</i> | 46 |
| 5.2.2. | Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (Linhagem Macapá) | 48 |
| 5.2.2.1. | Determinação da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Macapá). | 49 |
| 5.2.3. | Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (Linhagem Rockefeller) | 51 |
| 5.2.3.1. | Cálculo da CL ₅₀ para a espécie <i>Aedes aegypti</i> (linhagem Rockefeller) | 52 |
| 6. | CONCLUSÃO | 54 |
| 7. | REFERÊNCIAS | 55 |

1. INTRODUÇÃO

Muitos estudos apontam o interesse pela utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos. O conhecimento de benefícios das espécies vegetais para o tratamento de diversas patologias é conhecido desde o período de colonização no Brasil.

Desta forma, efeitos sobre os insetos, tais como a repelência e a mortalidade (inseticida) podem ser ocasionados por diversos derivados botânicos. Os pesticidas de origem natural, dependendo da espécie vegetal e do tipo de utilização, podem ser usados, dentre outros, sob forma de substâncias isoladas, pós ou extratos.

Dequech et al.(2008) lembram que extratos vegetais possuidores de atividade inseticida representam uma alternativa importante de controle de insetos-praga em pequenas áreas de cultivo, tais como as hortas, situação na qual a produção de extratos torna-se viável.

O Brasil, em se tratando de biodiversidade, detém em seu território grande parte da Floresta Amazônica. A Amazônia brasileira mantém uma grande diversidade de ecossistemas e a maior reserva de biodiversidade do mundo. Das 100 mil espécies de plantas existentes em toda a América Latina, 30 mil estão na região com 2,5 mil espécies de árvores (ELETRONORTE, 2001)

Assim, as plantas tornam-se uma fonte próspera de potenciais agentes eficientes para o controle de mosquitos transmissores de patologias. Esta enorme diversidade de espécies vegetais existentes no país deve ser vista como vantagem no sentido de tê-las territorialmente e, se obter resultados promissores e relevantes que vêm sendo obtidos nas pesquisas que visam a busca de substâncias com atividade larvicida contra estes insetos.

No Brasil, os organofosforados (OP) e os piretróides (P) destacam-se nos programas que visam a controlar insetos transmissores de doenças. Tais inseticidas químicos requerem monitoramento constante (LUNA, 2004), uma vez que há o desenvolvimento de resistência.

Portanto, a dengue é uma doença viral transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* causadora de epidemias em todo o mundo. Apesar de pesquisas avançadas no intuito do desenvolvimento de vacinas contra o vírus, o método ainda encontra-se em fase de experimento.

A patologia emerge rapidamente em muitas partes do mundo. Atualmente os continentes Americano, Sudeste da Ásia e regiões Ocidentais do pacífico são as mais afetadas. Sua incidência tem aumentado significativamente nos últimos 50 anos. A estimativa prevista é que

entre 50 a 100 milhões de infecções aconteçam, anualmente, em mais de 100 países endêmicos colocando em risco quase metade da população do planeta (WHO, 2013).

No Brasil, com relação ao número de casos, retrospectivamente, no ano de 2011 foram notificados 344.715 casos. Em 2012 estes diminuíram para 190.294 registros, ambos no período de Janeiro a Março. Já em 2013, no mesmo período, somente os Estados de Rondônia, do Acre, do Amazonas, Tocantins, espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, de Minas Gerais e Goiás contabilizaram um índice que abrange de 304, 9 a 3.105 casos da doença por 100 mil habitantes (FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ, 2013).

A filariose bancroftiana, também conhecida por elefantíase, é causada pela *Wuchereria bancrofti*, sendo prevalente em 83 países de climas tropical e subtropical (WHO, 2005; MATTOS et al., 2008). No Brasil a bancroftose é transmitida pelo vetor conhecido no Nordeste por muriçoca, mosquito da espécie *Culex quinquefasciatus* (MATTOS et al., 2008).

Mais de 120 milhões sofrem da doença, sendo que mais de 40 milhões encontram-se gravemente incapacitadas ou apresentam deformações. Dos infectados, um terço vive na Índia, um terço na África e o restante na Ásia, Pacífico Ocidental e nas Américas. No Brasil, Recife é a cidade com maior número de casos do país (FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ, 2015).

A ampla utilização de inseticidas químicos sintéticos no controle de vetores e em larga escala, também, na área da saúde ocasiona problemas. Tal fato torna-se preocupante, pois o uso contínuo tem provocado prejuízos ambientais como a contaminação do solo e da água, bem como malefícios ao homem, a exemplo as epidemias por não controle do vetor e os danos causados aos alimentos, além do surgimento de populações resistentes ocasionando dificuldades no combate ao mosquito.

Assim, o uso de substâncias menos agressivas aos humanos e ao ambiente, como substâncias oriundas de espécies vegetais, tem se tornado uma escolha adequada, potencialmente eficiente e promissora.

O uso de plantas para o controle de vetores transmissores de diversas doenças tem sido muito estudado. Inúmeras espécies vegetais têm demonstrado potencial atividade larvicida aliado aos benefícios ambientais e humanos. A espécie *Anacardium occidentale* Linn (cajeiro) tem evidenciado um potencial extraordinário na solução e/ou amenização de problemas frente a mosquitos veiculadores de doenças.

Portanto, o *Anacardium occidentale* Linn vem se destacando como planta medicinal graças à potente ação anti-inflamatória e antibacteriana de seus metabólicos secundários, notadamente aos polifenóis, taninos e flavonóides. Atualmente o cajeiro faz parte do elenco

de plantas que estão validadas como medicinais. Isto se deve às suas propriedades farmacológicas serem tão bem conhecidas (SALEM, et al.,1965; HISLAN, 1966; MOTA, 1982; MELO et al., FILHO et al., 2010).

A atividade larvicida desta espécie vegetal tem sido relatada na literatura, podendo-se destacar o potencial larvicida do LCC (líquido da castanha de caju), principal produto do cajueiro depois da castanha de caju, sobre insetos transmissores de doenças com ausência de sinais de toxicidade evidenciado em pesquisas. Neste contexto, o extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju apresenta excelente alternativa frente às larvas de *A. aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. No entanto, até este momento, não foram encontrados dados que indicam a avaliação desta atividade por este extrato.

Portanto, considerando o contexto supracitado, optou-se para a realização deste trabalho, a elaboração e caracterização, assim como a avaliação da atividade larvicida, do extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* Linn).

1. OBJETIVOS

1.1 GERAL

Avaliar a atividade larvicida do extrato hidroalcolico a 70 % da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale* Linn.) em diferentes cepas de mosquitos em condições de laboratório.

1.2 ESPECÍFICOS

1. Obter e caracterizar o extrato hidroalcolico a 70 % da casca da castanha de caju.
2. Avaliar a atividade larvicida do extrato hidroalcolico a 70% da casca da castanha de caju em diferentes cepas do mosquito *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*.
3. Estimar a CL₅₀ das espécies de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A ESPÉCIE *Anacardium occidentale* Linn

Pouco se conhece da imensa variedade de espécies vegetais existentes na flora brasileira. Muito menor ainda é o conhecimento de suas utilidades. Entretanto, um ponto de partida para tais descobertas é a valorização da medicina popular.

A espécie *Anacardium occidentale* L. é popularmente conhecida como cajueiro (figura 1). Pertencente à família Anacardiaceae, é a única espécie cultivada e a de maior dispersão no território brasileiro (LIMA, 1998; LIMA et al., 2006). Ocorrem no Brasil 15 gêneros e aproximadamente 70 espécies (SOUZA e LORENZI, 2005; MONTANARI, 2010).

Acredita-se que o cajueiro é originário do Brasil, principalmente das regiões Norte e Nordeste se espalhando para outros países tais como Índia, Angola, Moçambique e o Quênia (ASSUNÇÃO e MERCADANTE, 2003; ALCÂNTARA et al., 2009).

O cajueiro, em terras secas e arenosas do sertão é uma árvore baixa e esgalhada e às vezes quase rasteira, sendo de grande porte em terrenos bons podendo atingir até 20 metros de altura. A casca é adstringente, com ação antidiabética e utilizada tradicionalmente por comunidades em loções e gargarejos contra aftas e infecções da garganta, sendo que dela exsuda por incisão uma goma-resina amarela dura com propriedades expectorante e depurativa (PIO CORRÊA, 1926; AGRA et al., 2007; CHAVES et al., 2010).

O cajueiro é uma planta utilizada na medicina tradicional, principalmente no nordeste do Brasil. Esta tem reportados alguns efeitos medicinais como são para aliviar dor de dente, para combater as inflamações de gengiva e garganta, artrites, bronquites, hemorroidas. Também tem sido utilizado contra icterícia, cólicas intestinais, contra diabetes, asma e como afrodisíaco (MOTA, 2004; MORAES et al., 2005; AGRA, 2007; FILHO et al., 2010).

O caju propriamente dito é um pseudofruto originado do desenvolvimento do pedicelo e é comercializado *in natura* ou na forma de doces e sucos (MONTANARI, 2010).

O principal produto desta espécie vegetal é a castanha, da qual se extrai o óleo contendo o denominado ácido anacárdico (90%) e dois fenóis (10%), bastante empregado nas mais diversas indústrias, como as de plástico (MOURA, 2001; ALCÂNTARA et al., 2009). Este óleo é denominado de Líquido da Castanha de Caju (LCC) ou *Cashew nut shell liquid* (CNSL) e vem a ser um aquênio de comprimento e largura variáveis, com casca coriácea lisa,

mesocarpo alveolado repleto do LCC que possui coloração escura e é cáustico e inflamável (MAZZETTO et al., 2009).

A castanha é constituída de três partes: casca, película e amêndoa: (PAIVA; GARRUTI; SILVA NETO, 2000; MORAIS, 2009):

- A casca: constituída por um epicarpo coriáceo, atravessado por um mesocarpo esponjoso, cujos alvéolos são preenchidos pelo LCC.
- A película: também denominado de tegumento da amêndoa.
- A amêndoa: é a parte comestível da castanha, formada por dois cotilédones de cor marfim.



Figura 1. Cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.)
Fonte: a autora

Várias são as pesquisas que abordam a utilização das partes do *Anacardium occidentale* Linn. objetivando desvendar suas potencialidades para as mais diversificadas funções.

Relevante salientar que menos de 7% das espécies conhecidas da família Anacardiaceae foram estudadas do ponto de vista fitoquímico e de atividade. Entretanto, pode-se constatar que duas classes de substâncias são típicas da família, a saber: flavonóides (em especial os biflavonóides) e os lipídios fenólicos. A variedade de metabólicos e as atividades biológicas são fatores que justificam o grande interesse no estudo de espécies desta família (CORREIA et al., 2006).

Deste modo, visando a busca por meios eficazes e alternativos de cura de inúmeras patologias, o uso da espécie *A. occidentale* tem sido relatado como, dentre outros, tendo ação antifúngica (RAJESH KANNAN et al., 2009), antimicrobiana (CHABI, et al., 2014) e antioxidante (DOSS e THANGAVEL, 2011), inseticida (PORTO et al., 2013) e até mesmo antidiabética (UKWENYA et al., 2012).

O cajueiro é utilizado intensamente na região brasileira possuindo imensa relevância cultural e sócio- econômica. Entretanto, seu cultivo é realizado em todo o mundo e os cultivadores buscam melhorar o plantio do caju globalmente (GOMTHI e SIVAMANIS, 2014).

Assim, de acordo com Mazzetto et al. (2009), praticamente tudo se utiliza da planta. As folhas novas causam o processo de cicatrização quando cozidas e colocadas sobre feridas. Bem como a madeira de suas árvores é empregada como parte da fabricação de pequenos barcos, ferramentas e cabos, na construção civil etc. Ainda a casca do tronco possui uma substância de coloração vermelho-escuro usada no tingimento de tecidos. Além da amêndoa que, após processamento, pode ser inserida na dieta alimentar sendo exportada para todo planeta. Enfim, o mesocarpo é de onde se extrai o Líquido da Castanha de Caju (LCC), sendo este líquido utilizado na indústria e na medicina.

O LCC é uma das maiores fontes de lipídios fenólicos de origem natural, possuindo como componentes majoritários o cardanol, cardol, 2-metilcardolácido e o ácido anacárdico. Este último, quando submetido a temperaturas em torno de 180° C converte-se em cardanol, produzindo o denominado LCC técnico (GUISSONI et al., 2013).

A planta é muito estudada por apresentar diversas propriedades e utilidades já comprovadas em inúmeras literaturas.

Desta forma, Cunha (2011) em sua pesquisa utilizou hidrogel do extrato alcóolico da casca do caule do *Anacardium occidentale* para investigar, dentre outros aspectos, a fase dermal pré clínica e ocular em coelhos e a toxicidade clínica fase I via dermal em seres humanos. O resultado obtido indicou que esta formulação fitoterápica pode, em dose e via de administração testada, ser usada pela população, uma vez que alterações não foram observadas.

Monteiro (2006) avaliou o efeito do tratamento na evolução da reparação tecidual com um filme polimérico preparado com o polissacarídeo extraído da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn.). O autor demonstra eficácia no processo de restauração do tecido quando da utilização destes filmes poliméricos como curativos oclusivos. Do mesmo modo, Mendes (2013) no estudo da ação terapêutica desta goma, ratificou possível atividade

cicatrizante, dando margem, assim, para um desenvolvimento futuro de uma composição natural no processo cicatricial de feridas.

3.2.ATIVIDADE LARVICIDA DE ESPÉCIES VEGETAIS

Cerca de 400 A.C o “pó da pérsia”, assim conhecido o piretro, substância derivada do crisântemo (*Chrysanthemum cineraria folium*) já era utilizado no controle de pragas. Os primeiros fitoinseticidas usados foram a nicotina (*Nicotiana tabacum*), a rianodina (*Ryania speciosa*), a sabadina e outros alcalóides extraídos de *Schoenocaulon officinale*, as piretrinas extraídas do piretro *C. cinerariae folium* e a rotenona (*Derris spp* e *Lonchocarpus spp*) (LAGUNES e RODRIGUEZ, 1992; ROEL, 2001).

A partir da segunda metade do século XVIII, vale ressaltar a elaboração, sob responsabilidade da Universidade de Coimbra, da primeira farmacopéia do reino português no ano de 1794. A “*Pharmacopeia geral para o Reino e Domínios de Portugal*” era formada por dois volumes assim designados: *Elementos de natureza e Medicamentos simples, preparados e compostos* (DIAS, 1995; SANTOS e PINTO, 2012). A exploração da colônia enriquecia Portugal com a imensidão de vegetais que o Brasil poderia proporcionar ao desenvolvimento da farmacologia que tinha de ser revelada (SANTOS e PINTO, 2012).

Assim, em meados do século XX, observou-se um crescente interesse na descoberta de produtos naturais objetivando principalmente fármacos com efeitos contra o câncer e os processos inflamatórios (PINTO et al., 2003; FELIU, 2011).

A maior parte dos ativos sintéticos comercializados por grandes indústrias farmacológicas tem por base substâncias de origem vegetal. Exemplos destes compostos são o ácido acetil-salicílico, princípio ativo da Aspirina (isolado inicialmente de uma Salicaceae) e a escopolamina (isolado de Solanaceae), modificado constituindo o princípio ativo do Buscopan, medicamento analgésico (FELIU, 2011).

Desta forma, os inseticidas botânicos podem atuar de várias maneiras, em especial quando é um complexo que é responsável por sua ação sobre o inseto. Em geral, pode-se distinguir três tipos de mecanismo de ação de uma substância de origem vegetal sobre os insetos, a saber:

- Ação tóxica, repelente e/ou alimentar.

Exemplificando, os extratos com ação inseticida atuam causando a morte do inseto por intoxicação. Tal ação tóxica interfere na transmissão sináptica ou axônica dos impulsos

nervosos nos insetos. Com sua ação repelente, extratos fazem com que os insetos se afastem da planta, prevenindo a alimentação ou oviposição na mesma ou agem como antialimentar, inibindo o inseto a iniciar a alimentação (KATHRINA e ANTÔNIO, 2004; MENEZES, 2005).

- Ação sobre órgãos ou moléculas-alvo

Certos inseticidas botânicos podem agir no sistema neuroendócrino interferindo nos processos normais de troca de tegumento (ecdise) e/ou metamorfose ou podem interferir no metabolismo respiratório das células, assim interferindo na síntese de energia (KATHRINA e ANTONIO, 2004; MENEZES, 2005).

- Ação por contato ou ingestão

As substâncias que atuam por contato afetam o sistema nervoso central, que é acessível para as substâncias que possuem ação inseticida e atingem toda a superfície do corpo do inseto ou suas vias respiratórias, causando assim, sua morte. Já substâncias que atuam por ingestão (caracteriza o modo de ação de um inseticida que age e penetra no organismo por via oral), afetam o sistema digestório, o de biossíntese de hormônios da ecdise ou a formação da camada de quitina da cutícula do inseto. Como exemplo, a salanina (presente nos extratos de nim) provoca uma diminuição do peristaltismo (movimentos intestinais) resultando numa acentuada perda de apetite o que pode resultar na morte do inseto por inanição (KATHRINA e ANTONIO, 2004; MENEZES, 2005).

Os problemas ocasionados pelo uso dos inseticidas químicos no combate a insetos vetores necessitam ser amenizados e/ou solucionados.

Nesta perspectiva, buscam-se alternativas de controle contra o arbovírus, destacando-se os estudos com espécies vegetais que visem descobrir substâncias eficazes contra o inseto.

De acordo com Porto et al. (2008), o potencial de determinadas plantas proporciona o uso de biomoléculas com atividade específica no combate de vetores a enfermidades diminuindo, assim, os riscos de resistência e os danos ao meio ambiente.

As plantas, seres suscetíveis às mudanças e aspectos do ambiente, apresentam os metabólitos secundários (metabolismo secundário) que são compostos que servem de proteção e defesa contra o meio externo em geral (DEWICK, 2009; GARCEZ et al., 2013).

O estudo da fitoquímica analisa os produtos provenientes do metabolismo secundário das plantas e envolve as etapas de isolamento, purificação e a determinação da estrutura destes

metabólitos (Croteau, Kutchan e Lewis, 2000; Garcez et al., 2013). Este estudo, juntamente a ensaios específicos, permite identificar extratos e frações bioativas e a caracterizar as substâncias presentes em uma determinada espécie, responsáveis por esta bioatividade (GARCEZ, 2013).

Assim sendo, materiais vegetais são extraídos das plantas e suas partes (caule, folhas, etc.) divididas e testadas com o intuito de se descobrir novos compostos.

Desta forma, as solanáceas são citadas como controladoras de insetos por apresentarem metabólitos secundários com expressiva toxicidade, como exemplo tem-se a *Nicotiana tabacum* L., que pode ser empregada contra diversos insetos (LOVATO et al., 2004; DEQUECH et al., 2008).

Em estudos realizados por Rafael et al. (2008) comprovam que o dilapiol, extraído da folha de *Piper aduncum* pode reduzir a sobrevivência e reprodução em *Aedes* ratificando efeitos citotóxicos, assim como o surgimento de alterações no núcleo que podem inibir a divisão celular, afetar o sucesso de reprodução ou causar outras anomalias.

Cavalca et al. (2010) constataram que o óleo essencial *Eucalyptus cinerea* é altamente promissor por apresentar grande poder larvicida e pode ser utilizado como alternativa para o controle do vírus transmissor da dengue em programas de saúde. Neste estudo os autores relatam ainda o efeito homeopático (dinamização em 30CH) do *E. cinerea* sugerindo diminuição no número médio de mosquito fêmea adulto.

Plantas contendo óleos essenciais que possuam sesquiterpenos em grande quantidade como nerolidol e farnesol, monoterpenos como α e β -pineno, carvona e geraniol e fenilpropanóides como safrol, eugenol e aldeído cinâmico são alternativas interessantes para o controle de larvas do mosquito *Aedes* (SIMAS et al., 2004).

Furtado et al. (2005) compararam o efeito larvicida de dez (10) óleos essenciais de espécies vegetais. O óleo essencial de *Vanillos mopsis* arbórea Baker destacou-se por apresentar a maior atividade larvicida contra o *Aedes* e é utilizado na cultura popular contra mosquitos por lhe ser conferida propriedade repelente. Tal característica também é atribuída a *Cymbopogon winterianus* Jowit. Outra espécie citada é a *Ocimum gratissimum*, que demonstrou ter o menor efeito larvicida.

Por serem uma mistura complexa de substâncias, os óleos essenciais não mostram um mecanismo larvicida precisamente definido (CAVALCA et al., 2010). Sugere-se que dentre os mecanismos estejam a inibição da enzima e da membrana de desagregação, desnaturação de proteínas, com uma interação dos componentes do óleo provável que causam sinergismo e/ou antagonismo (JANSSEN, 1989, apud CAVALCA et al., 2010).

Estudos realizados por Garcez et al. (2013) versaram sobre substâncias que apresentam atividade larvicida de diversas espécies vegetais. Tais compostos foram assim obtidos: 18 de espécies da família Fabaceae, 13 da família Rutaceae, 11 das Piperaceae e oito da Boraginaceae. Para finalizar, citam as demais substâncias bioativas distribuídas em 16 outras famílias tais como a Meliaceae e Annonaceae.

Diversos são os estudos que abordam a respeito da atividade inseticida frente aos milhares de insetos existentes no planeta, com o intuito de sanar ou amenizar o processo de desenvolvimento de resistência aliado a um menor impacto ao homem e ao meio ambiente. A busca por alternativas é intensificada visando à utilização de espécies vegetais com potenciais inseticidas.

É desta forma que a espécie *Anacardium occidentale* L., pertencente à família Anacardiaceae, é uma planta bastante explorada buscando-se conhecer suas mais diversas atividades. Dentre elas as de ação larvicida, já mencionada em diversas literaturas em todo o mundo.

Assim, no Brasil, Guissoni e colaboradores (2012) em seu estudo intitulado “Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*”, relataram o potencial larvicida do LCC (líquido da castanha de caju) em larvas de *Aedes aegypti*. Concluíram, também, ausência de toxicidade do LCC e suas frações para *Rattus norvegicus* dentro dos parâmetros analisados. Fato este relevante uma vez que se busca à utilização de produtos que não apresentem malefícios ao homem ou que estes sejam insignificantes.

Da mesma forma, Farias et al. (2009) avaliaram a atividade inseticida do *Anacardium occidentale*, isolado do LCC, contra ovos, larvas (terceiro estágio) e pupas de *Aedes* e sua toxicidade em ratos. Os resultados foram promissores, já que, mesmo a uma dose considerada elevada (0,3g/Kg de peso corporal) do líquido da castanha de caju, tal composto não apresentou qualquer reação adversa em ratos, bem como mostrou-se tóxico contra ovos, larvas e pupas de *Aedes aegypti*.

Porto et al. (2013) trabalharam com a atividade larvicida do líquido da castanha de caju frente ao *A. aegypti*. Assim, buscaram demonstrar a permanência da eficácia do LCC recém-produzido e do LCC resfriado a 4° C por um período de 6 meses. Interessante foi o resultado dos dois testes realizados, pois mostraram mortalidade em torno de 70% em concentração de até 0,1 mg, permanecendo o perfil tóxico, mesmo sob condições diferenciadas de armazenamento.

Na Índia, Mukhopadhyay et al. (2010) observaram atividade larvicida em larvas e pupas de *Aedes aegypti* e *Anopheles subpictus*. As duas espécies de mosquitos apresentaram suscetibilidade ao LCC em uma concentração de 12 ppm para larvas e pupas de *A. aegypti* e de 38 ppm para as larvas e pupas de *A. albipictus*.

Também, Nnamani et al. (2011) evidenciaram atividade larvicida do extrato aquoso das folhas, das amêndoas e da casca do caule de *A. occidentale* sobre larvas da espécie *A. gambiae*. Observa-se que estes autores testaram diferentes partes do cajueiro, objetivando englobar ao máximo as potencialidades do mesmo sobre o mosquito transmissor da malária.

Assim, Lomonaco et al. (2009) confirmou que o LCC técnico e seus principais constituintes (*A. occidentale*) possuem excelente ação frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

Shaalam e colaboradores (2005) em seu estudo “Uma revisão de fitoquímicos botânicos com potencial mosquitocida” revela que larvas de diferentes mosquitos exibem diferentes suscetibilidades aos mesmos fitoquímicos. Acrescentam que, em geral, as larvas de *Aedes* são menos suscetíveis a inseticidas de extratos botânicos que larvas de *Culex*.

Fauziah et al. (2014) relatou que o LCC, procedente da castanha de caju, possui eficaz atividade larvicida contra larvas de *Culex quinquefasciatus*.

Por fim, Tripathy et al. (2011) realizaram um estudo sobre larvas de três espécies de mosquitos (*Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* e *Culex quinquefasciatus*) de duas espécies de plantas, dentre elas *Anacardium occidentale*. Os resultados comprovaram ter o extrato deste vegetal atividade larvicida sobre as três espécies.

3.3.A RESISTÊNCIA AOS INSETICIDAS QUÍMICOS

Um desafio importante para o investimento em novos ingredientes ativos e formulações é não ter um caminho claro para os padrões industriais a serem seguidos, portanto, o mercado de inseticidas para o controle do vetor da dengue é complexo e fragmentado (WHO, 2012).

Os inseticidas sintéticos podem causar uma série de problemas sobre o homem e ao meio ambiente. Tais efeitos maléficos são o ressurgimento de pragas-alvo, o surgimento de pragas secundárias em função dos efeitos tóxicos sobre os inimigos naturais dessas pragas, desenvolvimento de resistência das pragas a estes produtos, intoxicações dos produtores rurais, contaminação da água e do solo, impactos negativos sobre os organismos não-alvo e presença de resíduos tóxicos nos alimentos (VAN DEN BOSCH, 1978; FLINT & VAN DEN BOSCH, 1981; MENEZES, 2005).

Portanto, há um longo, mas promissor caminho a ser percorrido no intuito de sanar os problemas decorridos da dengue.

Adengue é uma doença que afeta sociedades em áreas tropicais e subtropicais em todo o mundo. Aproximadamente 2,5% dos indivíduos infectados evoluem ao óbito (WHO, 2013).

Para a obtenção do controle de epidemias da dengue é necessário o envolvimento da tríade formada pelo setor público, privado e pela população.

De acordo com Furtado et al.(2005) o controle do mosquito se utilizando inseticidas tais como o temephos, malathion e fenitrothion (organofosforados) formam a principal medida empregada pelos programas de saúde pública. Além destes se incluem os piretróides (deltametrina e cipermetrina) ao qual o mosquito criou resistência (LUNA et al.,2004; BRASIL,2006; RAFAEL et al., 2008).

Em virtude disso, inúmeros casos de resistência são relatados no mundo por espécies do mosquito, em particular para o de *Aedes aegypti* no Brasil (LIMA et al., 2006). Portanto, o surgimento de resistência pelo vírus aos inseticidas químicos sintéticos juntamente com falhas operacionais de campanhas no controle desta enfermidade demonstra a necessidade de mudanças nas ações de controle e no uso dos produtos (PORTO et al., 2008).

Braga e Valle (2007) mencionam que resistência é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a capacidade de uma população de insetos tolerar uma dose de inseticida que causaria sua morte, isso em condições normais. A resistência é uma condição genética. Assim sendo, população de insetos, ácaros e outros artrópodes podem, de forma natural, apresentar uma proporção de indivíduos que tenham alelos que lhes confirmam resistência a um determinado produto químico.

Outrossim, resistência pode ser definida como um processo de evolução acelerada de uma comunidade que responde a uma imensa pressão seletiva obtendo sobrevivência dos indivíduos que possuem alelos que lhes atribuem resistência (BRAGA e VALLE, 2007).

Desta forma, o grau de resistência de insetos vetores está dependente da quantidade e frequência de inseticidas empregados, pois o rápido desenvolvimento desta capacidade de mecanismo de defesa sobressaindo-se aos “suscetíveis”, como o *Aedes* é favorecido por características que englobam seu ciclo de vida, que é curto, e sua alta proliferação (LARANJA et al., 2006). Este mesmo autor refere serem os organofosforados instáveis do ponto de vista químico necessitando novas aplicações em períodos curtos. Tal fato gera grande preocupação e desencadeiam novos interesses em se descobrir meios eficazes no combate ao mosquito.

Simas et al., (2004) relata ser a resistência um obstáculo ao controle de insetos pestes de importância médica e na agricultura. Esta resulta, ainda, em uma maior frequência de

aplicação de inseticidas, bem como doses maiores com baixos rendimentos, prejuízos ambientais e o aparecimento de patologias quando os vetores passam a não serem controlados.

Além disso, pode ocorrer um fenômeno denominado de “resistência cruzada”, que vem a ser a proteção contra mais de um inseticida por um único mecanismo de ação, sendo comum entre os inseticidas piretróides. Tal fenômeno torna toda a classe de inseticidas comprometida. E a resistência a um determinado inseticida, dependendo do mecanismo de ação envolvido, pode levar também ao desenvolvimento de resistência a inseticida de outras classes, o que torna a substituição difícil do produto (CRUZ, 2002; BARRETO, 2005).

3.4.DENGUE E ELEFANTÍASE: PROBLEMÁTICAS MUNDIAIS

3.4.1. Conhecendo a dengue.

A dengue, possivelmente, foi derivada do termo swahili “*Ka dingapepo*”. Primeiramente, o termo foi utilizado durante uma epidemia que assolava as Índias Ocidentais Espanholas como maneira de descrever enfermidades acometidas pelos ingleses em meados da década de 20. Posteriormente, foi utilizado para descrever perturbações causadas por maus espíritos (HOMES et al, 1998; ACIOLE, 2009).

As espécies *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) pertencem ao Filo Arthropoda, pés articulados, à Classe Hexapoda, ou seja, três pares de patas, a Ordem Diptera significando um par de asas anterior funcional e um par posterior transformado em halteres, à Família Culicidae e ao Gênero *Aedes* (BRASIL, 2001).

Estudos apontam que o *Aedes aegypti* é originário da África diferenciando-se e se adaptando aos centros urbanos, sendo que nas Américas somente tem sido encontrada a variedade doméstica, a qual se acredita tenha sido transportada em barris que vinham dos navios de exploradores e colonizadores. Já o *Aedes Albopictus* seria oriundo da floresta tropical Asiática e que, posteriormente, passou a adaptar-se ao ambiente urbanizado preferindo áreas abertas com florestas em torno das habitações (SANTA CATARINA, 2008).

Os primeiros microrganismos a serem denominados de vírus foram o agente etiológico da febre amarela, em 1902, e o da dengue, em 1907 sendo descritos como filtráveis e submicroscópicos. No período da Segunda Guerra Mundial, ocorreu o isolamento do primeiro vírus da dengue por Kimura e Hotta e por Sabin e Schlesinger. Estes últimos isolaram a cepa durante a ocorrência de uma epidemia no Havaí e, mais tarde, também conseguiram isolar o segundo sorotipo. Em 1956, em um curso epidêmico hemorrágico na Ásia, os tipos 3 e 4 foram

descobertos. A partir daí os quatro sorotipos foram identificados e conhecidos como DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (MARTINEZ-TORRES, 1990; BARRETO e TEIXEIRA, 2008).

No que concerne à transmissão, a dengue é transmitida através da picada do inseto fêmea do *Aedes aegypti* contaminado pelo vírus. A realização destes repastos sanguíneos objetiva viabilizar a maturação dos ovos. O período de transmissibilidade da doença ocorre tanto no mosquito quanto no homem através de dois ciclos, a saber: período de incubação extrínseco e período de incubação intrínseco, respectivamente (BRASIL, 2008).

O ciclo de vida do *A. aegypti* compreende quatro fases, a conhecer: ovo, larva, pupa e adulto.

3.4.1.1.Ovo

A fêmea do mosquito deposita os ovos na parede interna de recipientes próximos a superfície aquática sendo de coloração esbranquiçada, mas logo adquirem cor enegrecida brilhante (BRASIL, 2001). Caso o mosquito não encontre recipientes adequados, a fêmea, em casos excepcionais, pode voar a grandes distâncias em busca de outros locais para realizar a oviposição (BRASIL, 2008).

Seu tamanho varia de 0,6 a 0,7 mm e podem persistir na natureza por cerca de um ano e meio sem sofrer influências externas (SANTA CATARINA, 2008).

Uma fêmea produz cerca de 120 ovos por postura. Por volta de 4 a 7 dias o embrião está apto a surgir caso a umidade e a temperatura estejam favoráveis (CONSOLI & LOURENÇO-de-OLIVEIRA, 1994; ACIOLE, 2009).

O ovo é a forma mais resistente do ciclo biológico, fato que possibilita ampla sobrevivência ao mosquito, devido à resistência às adversidades climáticas (SILVA e SILVA, 1999).

3.4.1.2.Larva

Por ser holometabólico, é neste estágio que ocorre o período de alimentação e crescimento e subdivide-se em quatro fases evolutivas. Estas dependem de condições ideais como temperatura, densidade das larvas no criadouro e disponibilidade de alimento. Desta forma, a duração dos instares pode não ultrapassar os cinco dias. Ao contrário, o quarto estágio pode perdurar por semanas (BRASIL, 2001).

A larva vem à superfície para respirar ficando em posição quase vertical. Para se deslocar, movimenta-se em forma de serpente. Sob luminosidade e movimentos bruscos na água, local onde se passa tal fase, a larva retorna ao fundo do depósito com rapidez. (SANTA CATARINA, 2008).

3.4.1.3.Pupa

Nesta fase o mosquito sofre sua última metamorfose até a fase adulta.

A pupa se desenvolve por completo em dois dias. Sua cabeça uni-se ao tórax (cefalotórax), portanto vem a possuir aspecto de vírgula (ACIOLE, 2009).

3.4.1.4.Adulto

O adulto representa a fase reprodutora do inseto. Posteriormente à fase pupal, o adulto procura pousar sobre as paredes do recipiente, ficando ali por horas, para possibilitar o endurecimento do exoesqueleto, das asas. O acasalamento se dá geralmente durante o voo e uma única inseminação é suficiente para fecundar todos os ovos que a fêmea venha a produzir durante toda a sua vida (BRASIL, 2001).

As fêmeas alimentam-se de sangue e de sucos vegetais. A nutrição sanguínea é realizada para maturação dos ovos e quando o repasto não é completo o mosquito a realiza mais de uma vez entre duas posturas. Em condições ideais, o intervalo entre a alimentação e oviposição é de três dias (SANTA CATARINA, 2008).

Desta forma, quanto às manifestações clínicas têm-se: a manifestação da dengue pode ser assim elucidada: Dengue Clássica (DC) Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e Síndrome do Choque da Dengue (SCD). Na forma clássica (duração de 5 a 7 dias), a primeira manifestação é a febre (39 a 40° C), com início abrupto, associada a dores de cabeça, articulares, musculares e ao redor dos olhos, e exantema (vermelhidão generalizada), acompanhado, ou não, de coceira. A FHD apresenta seus sintomas iniciais semelhantes aos da DC, porém com posterior agravamento do quadro, diminuição da febre, aparecimento de manifestações hemorrágicas, trombocitopenia (diminuição de plaquetas) e perda de plasma. A SCD é um agravamento da FHD, frequentemente precedido por dor abdominal. Com curta duração, a SCD pode levar a óbito ou à recuperação rápida caso ocorra tratamento adequado (BRASIL, 2008).

No Brasil, a partir da década de 80, iniciou-se um processo de epidemias explosivas que atingiram todas as regiões brasileiras.

Neste sentido, Catão (2012) em seu estudo detalha as ocorrências de dengue no país após sua reemergência desde o ano de 1982 até o ano de 2008, evidenciando as duas maiores epidemias que aconteceram em escala nacional. A primeira foi no ano de 1998, sendo este marcado por mais de 520 mil notificações, representando uma taxa de 326,5 casos de dengue por 100 mil habitantes, destacando-se o estado de Minas Gerais com o maior número de casos registrados (147 mil) somente na região metropolitana de Belo Horizonte. A partir de 2006 inicia-se uma tendência de aumento nos casos de dengue no Brasil, e são registrados 910 casos de FHD. A segunda maior ocorreu no ano de 2008 com mais de 550 mil notificações.

O ano de 2008 também apresentou o maior número de casos mais graves, maior número de óbitos e de internações no território brasileiro (BRASIL, 2009a).

3.4.2. Conhecendo a Filariose Linfática (FL).

Outra patologia de grande importância para saúde pública em todo o mundo é a denominada elefantíase. De hábitos antropofílicos e endofílicos, *Culex quinquefasciatus*, apresenta ampla distribuição geográfica (ALVES et al., 2011).

O *Culex quinquefasciatus*, descrito por Say (1983), mosquito tropical urbano, anteriormente conhecido por *Culex fatigans* ou *Culex pipiens fatigans*, é pertencente a ordem Díptera, família Culicidae (BRASIL, 2011).

A filariose linfática é uma doença parasitária crônica causada pelo verme nematoide *Wuchereria bancrofti*, sendo também conhecida por bancroftose. Este verme possui diferentes formas evolutivas nos hospedeiros vertebrados e invertebrados. Nos humanos (vertebrados) as formas são as filárias e microfilárias e nos mosquitos vetores (invertebrados) a forma é de larva dos mosquitos (BRASIL, 2009b).

O habitat dos vermes adultos (filárias), no homem, é nos vasos e gânglios linfáticos. As regiões do corpo humano que abrigam a forma adulta são a pelve (atingindo pernas e bolsa escrotal), mamas e braços, estas mais raramente (BRASIL, 2009b). Já a elefantíase é transmitida pela picada da fêmea do mosquito *Culex quinquefasciatus* infectada com larvas do parasito. Assim, os vermes adultos causam lesões nos vasos linfáticos onde se desenvolvem e as lesões provocadas pela presença dos parasitos serão responsáveis pelo quadro clínico que se apresentará (BRASIL, 2009b).

A transmissão da doença ocorre quando um inseto transmissor pica um homem infectado com microfilaremia e a transmite a outro indivíduo, após maturação das microfilárias no vetor, que ocorre entre 12 a 14 dias do repasto sanguíneo. A microfilária pode persistir por cerca de 5 a 10 anos (BRASIL, 2010).

O ciclo de vida da espécie *Culex quinquefasciatus*, compreende quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto (BRASIL, 2011), igualmente à espécie *Aedes aegypti*.

As manifestações clínicas da filariose linfática (*W. bancrofti*) apresentam-se clinicamente de forma variada. Estas surgem em decorrência da presença no ser humano tanto de vermes adultos quanto das microfilárias. Os primeiros lesam inicialmente os vasos linfáticos, enquanto que as últimas têm ações extralinfáticas. As manifestações podem ser agudas ou crônicas. Desta forma, dentre as manifestações agudas estão:

- Linfangiectasia subclínica: dilatação dos vasos linfáticos. Quando progride, pode ser palpável ou mesmo percebida a sua inspeção (BRASIL 2009b).
- Linfangite filarial aguda (LFA): a morte dos vermes adultos pode resultar apenas na formação subclínica de nódulos granulomatosos. Em outros casos, esta morte provoca uma linfadenite (gânglio) ou linfangite descendente (vasos linfáticos). A LFA produz um cordão subcutâneo visível podendo ou não ser acompanhado de febre, cefaléia, fraqueza e dor muscular. A reação localizada é caracterizada pelo aumento do linfonodo ou pelo aparecimento de nódulo no trajeto do vaso linfático (BRASIL 2009b).
- Linfadenopatia: causada pelo enfartamento dos gânglios linfáticos já comprometidos, os quais formam uma massa palpável compacta de superfície irregular. Em geral esta massa é indolor e localiza-se de preferência nas regiões inguinal, epitroclear e axilar (BRASIL 2009b).
- Síndromes de disfunção linfática: hidrocele e linfedema agudos. Estes ocorrem após um episódio de LFA, provavelmente resultam de uma obstrução parcial e temporária do vaso linfático, causada pela reação inflamação desencadeada pela desintegração dos vermes adultos (BRASIL 2009b).

Apenas pequena proporção de casos de filariose linfática apresenta manifestações crônicas. Algumas são:

- Linfedema crônico: o edema linfático é uma manifestação clínica decorrente de inúmeras doenças, a filariose é uma delas. O diagnóstico clínico de um edema de origem linfática, filarial ou não, pode ser feito com base em sinais e sintomas. Frequentemente é unilateral. O contínuo agravamento do edema leva ao quadro de elefantíase (BRASIL 2009b).

- Manifestações urogenitais crônicas: hidrocele, edema linfático, elefantíase de bolsa escrotal e síndromes de fistulização linfática (BRASIL 2009b).

No Brasil, a filariose permanecia endêmica em apenas três capitais: Belém, Manaus e Recife. Nas duas primeiras cidades, houve uma significativa redução da transmissão, entretanto, Recife é a cidade com maior número de casos (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2015).

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1.MATERIAL VEGETAL

Os frutos de caju foram coletados no período da manhã em um lugar longe das estradas em um sítio com coordenadas GPS Lat. 030380 (N) e Long. 498820 (L) localizado na BR 070, Rodovia do Curiaú, Ramal do Alegre da pedreira, Macapá, Amapá, Brasil, no mês de Outubro de 2014. Uma exsicata da amostra foi autenticada pelo curador Patrick Cantuária e depositada no Herbário Amapaense – HAMAB sob o n° 018781.

A castanha foi retirada manualmente do pseudofruto. Em seguida foi cortada ao meio utilizando-se uma faca, sendo a amêndoa retirada. Em seguida as cascas da castanha foram lavadas com água destilada, pesadas e colocadas em um vidro âmbar utilizando uma relação 3 mL de álcool 70% por cada grama da casca de castanha. A mistura foi agitada manualmente uma vez por dia, durante três dias. Ao término deste tempo, o extrato (figura 2) foi decantado, filtrado e colocado em frasco âmbar para sua conservação.



Figura 2. Extrato da casca da castanha de caju.
Fonte: a autora.

4.2.CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO DO FRUTO DO CAJU.

Foi realizada a caracterização físico-química do extrato hidroalcolólico a 70% da casca da castanha de caju.

As determinações foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da Universidade Federal do Amapá-UNIFAP, sendo as mesmas realizadas segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.2.1. Determinação dos parâmetros organolépticos

Odor: Utilizou-se uma tira de papel absorvente cerca de 1 cm de largura por 10 centímetros de comprimento. Lança-se mão de uma das extremidades da tira e a insere na amostra para ensaio. Desta forma, o odor foi sentido e se determinou que este correspondia à característica do produto.

Cor: Um tubo de ensaio bem limpo e seco foi usado e preenchido até três quartos com a amostra teste. A cor, a transparência, a presença de partículas e a separação de fases foram observados e os resultados foram relatados.

4.2.2. Determinação da densidade relativa do extrato

A densidade relativa foi determinada pelo método do picnômetro.

Para determinação da densidade utilizou-se uma balança, modelo ACCULAB, marca Sartorius ($d = \pm 0,001g$).

Primeiramente o picnômetro vazio foi limpo com água destilada, seco com papel toalha e pesado. Em seguida, preencheu-se o picnômetro com o extrato hidroalcólico a 70%, mantendo-o a uma temperatura de 20°C ($\pm 1^\circ C$) durante 15 minutos. Ajustou-se o líquido até o nível de capacidade do picnômetro. Utilizou-se papel toalha para secagem externa do picnômetro e foi feita a pesagem. A mesma operação foi realizada, utilizando-se água destilada a 20° C. A densidade relativa do extrato foi determinada utilizando a seguinte fórmula:

$$D_{20} = (M_1 - M) / (M_2 - M)$$

Onde:

M_1 : Peso do picnômetro contendo solução extrativa (g)

M_2 : Peso do picnômetro com água (g)

M : Peso do picnômetro vazio (g)

4.2.3. Determinação do pH

O pH foi obtido por pH-metro modelo mPA210 e marca MS TECNOPON, calibrado com solução tampão de pH 7,0 e pH 4,0. O pH foi medido em triplicata e o valor foi expresso em função da média e do desvio padrão.

4.2.4. Determinação das cinzas totais

Para a determinação de cinzas totais, usou-se um cadinho (cápsula de porcelana) e sua massa (MCV) foi determinada utilizando-se uma balança modelo ACCULAB, marca Sartorius. Foram colocados 2mL do extrato da casca da castanha de caju e foi determinada a massa do cadinho com o extrato (MCEC). Posteriormente, o cadinho foi colocado no forno a 550°C durante 5 horas. Ao término deste tempo o cadinho com as cinzas foi retirado do forno e deixado esfriar em um dessecador até a temperatura ambiente. Em seguida, a massa do cadinho com as cinzas foi determinada utilizando a balança (MCC). O ensaio foi realizado em triplicata. A quantidade de cinzas totais (%CT) foi calculada através da seguinte equação:

$$\% CT = (MCC - MCV/MCEC) * 100$$

4.2.5. Determinação de resíduo de evaporação

Pegou-se um cadinho e sua massa (MCV) foi determinada utilizando-se uma balança de precisão (ACCULAB (Sartorius, Alemanha)). Em seguida foram colocados 5 mL do extrato da casca da castanha de caju e foi determinada a massa do cadinho com o extrato (MCEC). Posteriormente, o cadinho foi colocado em banho maria até a eliminação de quase todo o líquido presente na amostra. Em seguida, o cadinho foi colocado numa estufa a 105°C durante 1 hora.

Depois deste tempo, o cadinho com o resíduo foi retirado da estufa e foi deixado para esfriar em uma dessecadora até a temperatura ambiente. Neste momento, a massa do cadinho foi determinada. O cadinho foi colocado novamente na estufa seguindo o mesmo procedimento anterior. O cadinho foi pesado novamente. O procedimento continuou até se obter duas pesagens consecutivas constantes (MCC). O ensaio foi realizado em triplicata. O resíduo de evaporação em porcentagem (% RE) foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\% RE = (MCC - MCV/MCEC)*100$$

4.2.6. Determinação da composição mineral

Foi determinada a composição mineral do extrato utilizando-se o método de Espectrometria de Absorção Atômica (QUIMIS, AA6300, Shimadzu). Foi utilizado um mostrador automático ASC6100 com otimização por chama FAAS. O teste foi realizado em triplicata. A amostra a ser analisada foi preparada da seguinte forma: 2 ml do extrato foram incinerados em um forno a 450 ° C, por um período de 4 horas até se obter um resíduo de peso constante. O resíduo final foi pesado e diluído em 2 ml de ácido nítrico, completando-se o volume com até 100 ml de água destilada. Assim, determinou-se a concentração de Cádmio, Cromo, Ferro, Zinco, Manganês, Magnésio, Cobre e chumbo. A concentração dos mesmos foi expressa em ppm.

4.2.7. Determinação de polifenóis Totais pelo Método Folin Ciocalteu

4.2.7.1. Preparação da solução padrão de ácido pirogálico 0,025 mg/mL.

Foram pesados 50 mg de um padrão primário de ácido pirogálico, utilizando-se uma balança analítica modelo ACCULAB (Sartorius, Alemanha). Dissolveu-se e completou-se o volume utilizando-se água destilada. Foi retirada uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, sendo o volume completado com água destilada. Foi feita a homogeneização, obtendo-se a solução padrão com uma concentração de 0,025 mg/mL.

4.2.7.2. Preparação da curva de calibração

Foram utilizados nove balões volumétricos de 50 mL. O primeiro se rotulou como Branco, outros cinco como soluções padrões e três contendo as amostras. Foram colocadas as quantidades de reagentes e de amostra que se apresentam (tabela 1) e os volumes foram completados com água destilada.

Tabela 1. Preparação das quantidades de reagentes e amostras para a curva de calibração.

| N° | C(mg/mL) | Água (mL) | SP(mL) | SM(mL) | RFC(mL) | SCS (mL) |
|----|-----------|-----------|--------|--------|---------|----------|
| 1 | Branco | 10 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 2 | 0,025 | 10 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| 3 | 0,050 | 10 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 4 | 0,075 | 10 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 5 | 0,100 | 10 | 4 | 4 | 2 | 2 |
| 6 | 0,125 | 10 | 5 | 5 | 2 | 2 |
| 7 | Amostra 1 | 10 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 8 | Amostra 2 | 10 | 0 | 3 | 2 | 2 |
| 9 | Amostra 3 | 10 | 0 | 3 | 2 | 2 |

C, concentração; SP, solução padrão de ácido pirogálico 0,025; SM, solução de amostra; RFC, reagente de Folin Ciocalteu; SCS, solução de carbonato de sódio 20%.

4.2.7.3. Preparação da amostra

Foi transferido 1 g de extrato para um balão de 100 mL e dissolveu-se completando o volume com água destilada. Utilizou-se uma alíquota de 5 mL e se levou a 100 mL, utilizando outro balão volumétrico do mesmo volume. Esta solução foi utilizada para a preparação das amostras descrita na tabela 1.

4.2.7.4. Determinação dos Polifenóis totais em porcentagem

Foram realizadas as leituras de absorvância do branco, dos padrões e da amostra a 760 nm, utilizando-se um espectrofotômetro de Absorção Atômica (QUIMIS, AA6300, Shimadzu). A curva de calibração foi construída, ajustando-se pelo método dos mínimos quadrados. A concentração da amostra $C(x)$ foi calculada interpolando o valor da absorvância desta na curva de calibração e substituindo esse valor na equação da reta ajustada. A análise foi realizada em triplicata. A porcentagem dos fenóis totais (FT) foi calculada utilizando-se a expressão abaixo.

$$\% \text{ FT} = C(x) * 100$$

4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

4.3.1. Obtenção das Larvas

As larvas de *Aedes aegypti*, das cepas Macapá e Rockefeller e as larvas de *Culex quinquefasciatus* utilizadas, foram criadas no Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá (ARTHROLAB). O processo foi iniciado com ovos de larvas da geração F9, oriundas da colônia, sendo todas de 4º estágio jovem, para se evitar que durante os experimentos atingissem o estágio de pupa. Foram mantidas em condições climáticas padronizadas, em uma sala (3m x 4m) com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $75\pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 horas OMS (1970;1980;1984).

4.3.2 Desenho experimental para o ensaio biológico

Pra realização do ensaio biológico, primeiramente foram testadas concentrações do extrato equivalentes a 10, 20, 30, 40 e 50 ppm. O extrato mostrou-se muito ativo chegando aos 100 % de mortalidade em poucas horas. Desta forma foram consideradas concentrações muito baixas do extrato, que foram diferentes para cada hora das espécies avaliadas, sendo mais baixas para *Culex* que mostrou mortalidade mais alta. As concentrações utilizadas para cada uma das cepas foram:

- *Aedes aegypti* Rockefeller: 1,05; 1,57; 2,10 e 2,62 ppm
- *Aedes aegypti* Macapá: 1,57; 2,62 e 3,67 ppm
- *Culex quinquefasciatus* Macapá: 0,26; 0,52; 0,79 e 1,05 ppm

Os bioensaios foram realizados em Becker de vidro (figura 3) com capacidade para 100ml. Nestes, foram colocados 80 ml de água destilada. Em seguida foram colocados em cada Becker as concentrações utilizadas do extrato. A solução foi agitada para homogeneização e em seguida foram colocadas as larvas em cada um dos grupos correspondentes. Depois de colocadas as larvas, o volume foi completado para 100 ml.

Em cada caso foi utilizado um grupo controle que continha somente água destilada e uma quantidade de etanol 70 % correspondente ao volume em μL da maior concentração utilizada. Os grupos experimentais corresponderam a cada uma das concentrações utilizadas

para cada espécie, que foram mencionadas acima, somados ao grupo controle. Utilizaram-se sempre uma quantidade de 20 larvas por grupo.

As leituras da mortalidade foram verificadas nos períodos de três, seis, 24 e 48h, após a exposição das larvas às soluções. O número de mortos foi observado quando da ausência total de movimentos e por meio da estimulação exaustiva externa do recipiente com pipetas Pasteur.



Figura 3. Bioensaios realizados com as larvas de mosquitos.
Fonte: a autora.

4.4. ANÁLISE DOS DADOS

Para determinar os valores de CL_{50} da atividade larvicida do extrato hidroalcolico de caju foi realizada uma análise Probit. Além do efeito da substância testada, foi comprovado também se o efeito observado era dependente do tempo de contato das larvas com o extrato de caju. Para isto, foi feita uma comparação das análises de regressão entre mortalidade vs concentração e os tempos 24 e 48 horas. Foi considerado um efeito estatisticamente significativo se $p < 0,05$. Para o processamento da informação foi utilizado o software Statgraphic Centurium XXV.1 (StatEase Co. MA. USA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO 70% DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU.

Considerando-se a revisão bibliográfica realizada neste trabalho, não foram encontradas referências na literatura relacionadas a obtenção de extrato hidroalcólico a 70% utilizando a casca da castanha de caju. A figura 4 mostra a castanha de caju seccionada transversalmente, onde se observa a parte utilizada para a preparação do extrato hidroalcólico 70% da casca da castanha de caju. Também é possível verificar o líquido oleoso (LCC) oriundo da casca da castanha, atualmente o produto mais estudado desta planta.

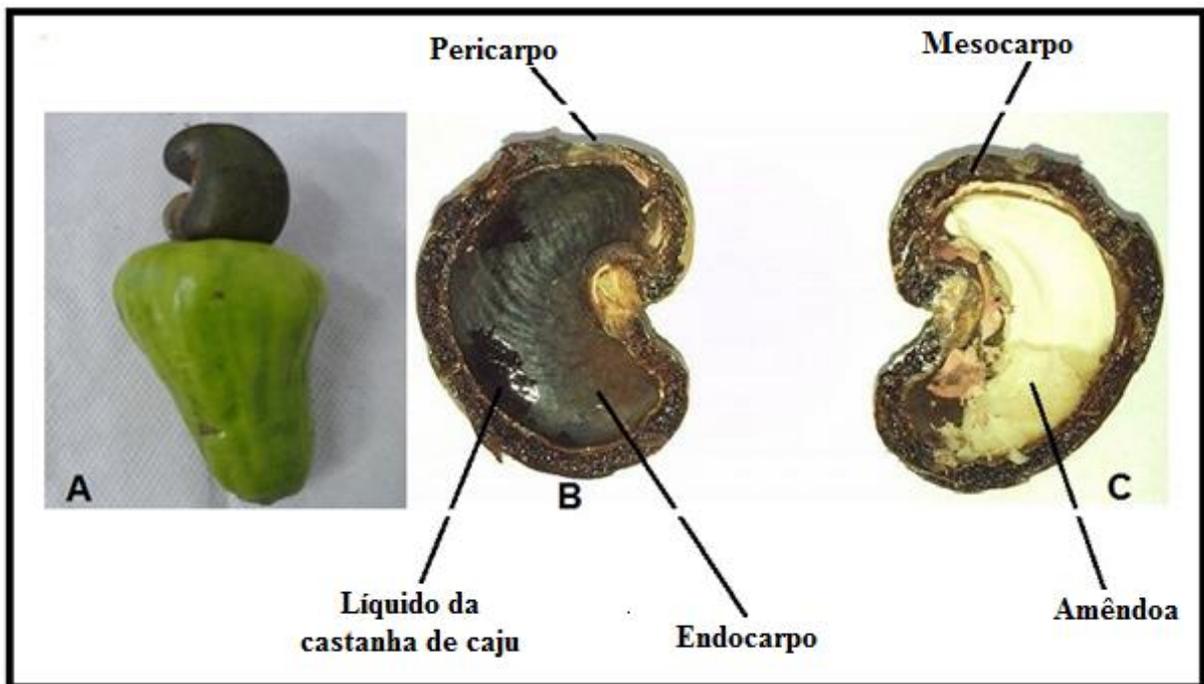


Figura 4. Fruto e pseudofruto (A). Constituintes da castanha de caju (B e C)
Fonte: a autora.

5.1.1. Características organolépticas

A figura 5 apresenta a aparência do extrato hidroalcólico 70% da casca de castanha de caju obtido neste trabalho. Este extrato possui um odor característico, diferente do odor que apresenta o LCC. O extrato hidroalcólico 70 % da casca de castanha de caju apresentou um aspecto translúcido, homogêneo de coloração marrom escuro. Não se observou a presença de partículas em suspensão.

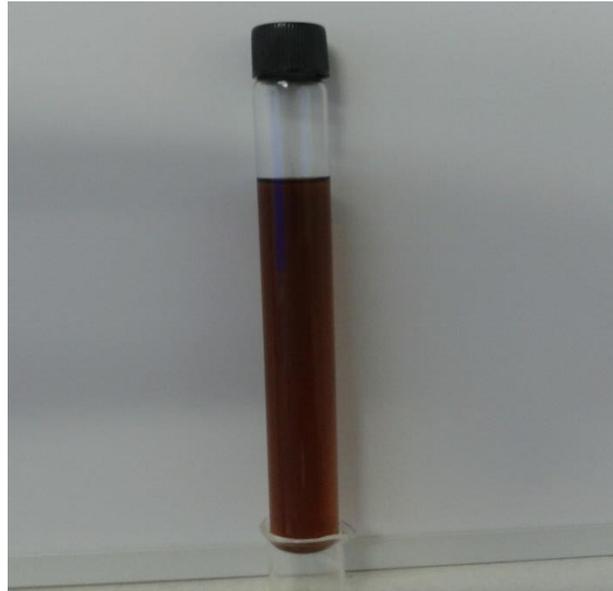


Figura 5. Amostra do extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju demonstrando a cor marrom escuro.

Fonte: a autora

5.1.2. Propriedades físico-químicas

A análise físico-química preliminar realizada com o extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju está apresentada na tabela 2. Neste estudo, o valor obtido de densidade foi $0,910 \pm 0,001$ g/mL.

Aremu e Akinwumi (2014) reportam 0,909 g/mL para LCC e 0,913 g/mL para o óleo da amêndoa de caju. Outros estudos reportam valores de densidade para LCC da casca da castanha (0,500 g/mL) e para o óleo da amêndoa.

Akinhanmi e Akintokun (2008) evidenciaram 0,962 g/mL, para o óleo da castanha. Estes autores, em estudo comparativo do LCC das castanhas de espécie brasileira e as de espécie africana, citaram 0,941 g/mL e 0,924g/mL, respectivamente. É importante ressaltar que estes produtos são basicamente óleos. Estes são obtidos aquecendo a parte da castanha que vai ser extraída e que tem uma constituição mais oleosa.

A variabilidade nas propriedades dos extratos, além da possibilidade de influência de fatores externos, pode ser um indicativo das diferenças desse produto em função dos diferentes métodos utilizados.

Tabela 2. Características físico-químicas preliminares do extrato hidroalcóolico da castanha de caju.

| Propriedades | Unidade | Média + DP |
|-----------------------|---------|---------------|
| Densidade 20°C | g/mL | 0,910 ± 0,001 |
| pH (1mL em 15 mL AD) | - | 5,08 ± 0,03 |
| Cinzas | % | 1,17 ± 0,01 |
| Resíduo de Evaporação | % | 10,49 ± 0,17 |
| Polifenóis totais | % | 5,52 ± 0,001 |

AD, água destilada; DP, Desvio Padrão

O valor do pH obtido para o extrato obtido nesta pesquisa foi de $5,08 \pm 0,03$, indicando a presença de acidez da solução. Este valor de pH foi mais ácido que os relatados por Idah et al. (2014) que obtiveram 6,28 e 6,68, para LCC da casca da castanha e para o óleo da amêndoa de caju, respectivamente.

O LCC é obtido basicamente aquecendo-se a castanha e permitindo sua retirada, enquanto que o extrato hidroalcóolico a 70% da casca da castanha de caju teve a possibilidade de interagir mais com a casca, preenchendo os poros da mesma e facilitando a extração de outros componentes tais como os polifenóis, flavonóides e ácidos fenólicos que poderiam estar presentes proporcionando, também, acidez ao produto.

Aremu e Akinwumi (2014) obtiveram valores de 5,7 (método Soxhlet) e 5,2 (método mecânico) do óleo da amêndoa de caju. O vapor da água pode arrastar outros compostos da casca que podem, do mesmo modo, aumentar o conteúdo de ácido desse extrato.

Quanto ao teor de cinzas, o valor foi de $1,17 \pm 0,01$ %. Melo et al. (1998) alcançaram 2,40% para as castanhas cruas e 2,43% para as tostadas. Akinhanmi e Akintokun (2008) verificaram o valor de 2,8% para a castanha. Os autores acrescentaram também cinzas de LCC de duas variedades de castanhas, brasileira (1,2%) e africana (1,3%). Desta forma, Aquino et al. (2011) demonstrou 2,30% para castanhas com manchas e 2,81% para castanhas sem manchas. Aremu e Akintokun (2008) evidenciaram o valor de $3,73 \pm 0,1$ %.

No que tange aos resíduos de evaporação, o valor obtido foi de $10,49 \pm 0,17$ %.

5.1.2.1. Avaliação da composição mineral

A tabela 3 sumariza o teor mineral presente no extrato hidroalcóolico a 70% da casca da castanha de caju. O chumbo possui a mais elevada concentração ($0,1737 \pm 0,1169$ ppm), seguido, em ordem decrescente pelo Cobre ($0,0275 \pm 0,0106$ ppm), Magnésio ($0,7668 \pm 0,0618$ ppm), Manganês ($0,0274 \pm 0,0063$ ppm), Zinco ($0,0779 \pm 0,0169$ ppm), Ferro ($0,1022 \pm 0,0063$ ppm), Cromo ($0,0121 \pm 0,0079$ ppm) e Cádmiio ($0,0040 \pm 0,0013$ ppm).

O teor mineral da castanha de caju também foi demonstrado por Akinhanmi e Akintokun (2008). Alguns minerais encontrados por estes autores, tais como cálcio, sódio, fósforo e potássio, não foram encontrados na presente pesquisa. A composição mineral das espécies em geral, dependem do solo onde crescem as plantas, das chuvas, da intensidade do sol, além das características próprias do vegetal. Porém, é muito importante conhecer esta composição pois podem ser utilizadas, por exemplo, para comparar e identificar extratos preparados com castanhas de diferentes lugares.

Tabela 3. Composição mineral da casca da castanha de caju.

| N° | Elementos | | | | | | | |
|----|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Cd | Cr | Fe | Zn | Mn | Mg | Cu | Pb |
| 1 | 0,0027 | 0,0150 | 0,1005 | 0,0966 | 0,0326 | 0,7915 | 0,0366 | 0,0947 |
| 2 | 0,0040 | 0,0181 | 0,0970 | 0,0629 | 0,0293 | 0,6965 | 0,0159 | 0,3079 |
| 3 | 0,0053 | 0,0031 | 0,1092 | 0,0802 | 0,0204 | 0,8124 | 0,0300 | 0,1184 |
| X | 0,0040 | 0,0121 | 0,1022 | 0,0799 | 0,0274 | 0,7668 | 0,0275 | 0,1737 |
| DP | 0,0013 | 0,0079 | 0,0063 | 0,0169 | 0,0063 | 0,0618 | 0,0106 | 0,1169 |

5.1.2.2. Avaliação dos polifenóis

A determinação de polifenóis totais foi realizada com o intuito de se caracterizar física e quimicamente o extrato hidroalcoólico 70% da casca da castanha de caju. A curva de calibração obtida durante esta análise é apresentada na figura 6.

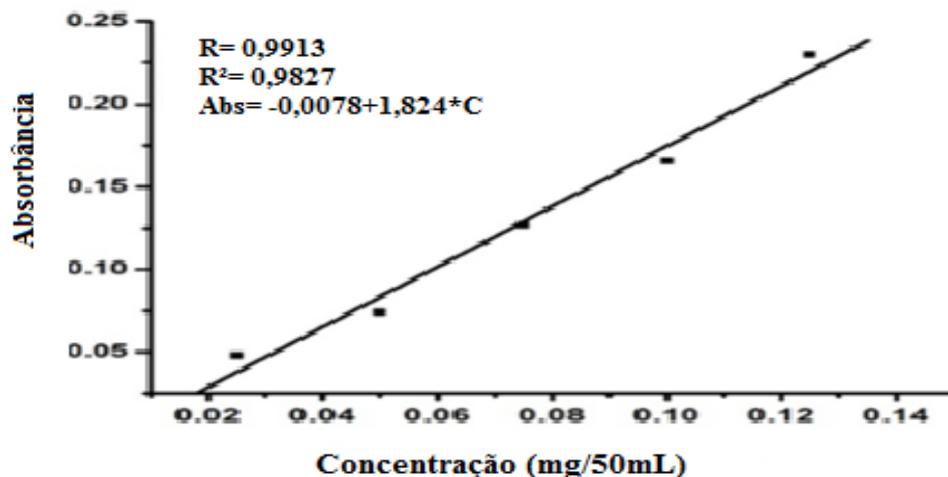


Figura 6. Curva de calibração ajustada para a determinação de polifenóis pelo método de Folin Ciocalteu.

O teor de polifenóis totais encontrado foi de $5,52 \pm 0,001\%$. Na figura 6 estão os valores encontrados para os polifenóis totais. Os polifenóis têm demonstrado atividade antioxidante, anti-inflamatória, além de outras (ESCALONA et al., 2013).

5.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO 70% DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU

5.2.1. Avaliação da atividade larvicida para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

5.2.1.1. Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

Os resultados obtidos para o extrato hidroalcólico 70% da casca da castanha de caju no presente estudo, foram comparados, principalmente, com estudos realizados com o líquido da castanha de caju (LCC), que é o produto mais estudado desta espécie. Não foram encontrados na literatura estudos referentes ao extrato hidroalcólico a 70% da casca da castanha de caju, esta é a primeira referência a este produto.

No presente estudo foi verificado que o extrato hidroalcólico 70% da casca da castanha de caju possui uma grande atividade larvicida. Nas primeiras 3-6 horas de exposição das larvas à solução do extrato de concentrações entre 10-50 ppm, foi observada uma mortalidade importante que chegou até 100 %. Isto demonstra que este extrato é muito ativo. Porém, nos experimentos posteriores foi necessário baixar as concentrações, até os níveis estudados neste trabalho.

Evidenciou-se um grande número de mortes das larvas, havendo alta letalidade logo nas primeiras 24h, restando poucas até se atingir as 48 horas. Diante disto, e para avaliar se o tempo de exposição das larvas também influenciaria na atividade larvicida observada, foi realizada uma comparação das análises de regressão mortalidade vs concentração para os dois tempos avaliados (24 e 48 h). A tabela 4 apresenta a análise estatística realizada para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

Tabela 4. Análise de regressão múltipla para a comparação das linhas de regressão a os tempos 24 e 48h para *Culex quinquefasciatus*.

| Parâmetro | Estimado | Erro Padrão | Teste T | |
|------------------|----------|-------------|-------------|---------|
| | | | Estatística | p-valor |
| Constante | 0.178049 | 0.187482 | 0.949691 | 0.3789 |
| Concentração (C) | 0.633493 | 0.29176 | 2.17128 | 0.0729 |
| Tempo as 48h | 0.152641 | 0.265139 | 0.575702 | 0.5857 |
| Tempo*C as 48h | 0.151449 | 0.412611 | 0.367049 | 0.7262 |

(*) Por

De acordo com a tabela 4, a magnitude dos p-valor para todos os parâmetros avaliados superiores a 0,05 é indicativo de que não há diferença estatística significativa de mortalidade entre os tempos 24 e 48h. Desta forma é possível garantir que o tempo de exposição das larvas ao extrato hidroalcoólico da casca da castanha de caju, não tem influência na mortalidade observada. Assim sendo, a mortalidade é apenas consequência da concentração do extrato utilizado.

A figura 7 apresenta o gráfico ajustado para cada um dos tempos de exposição avaliados para a espécie *Culex quinquefasciatus*. Nela se apresenta também, as expressões de regressão da cada uma delas. Observando pode-se constatar que as expressões são iguais, pois a diferença entre as interseções é a mesma que a das inclinações. Este fato permite fazer o cálculo da CL_{50} utilizando-se qualquer das expressões.

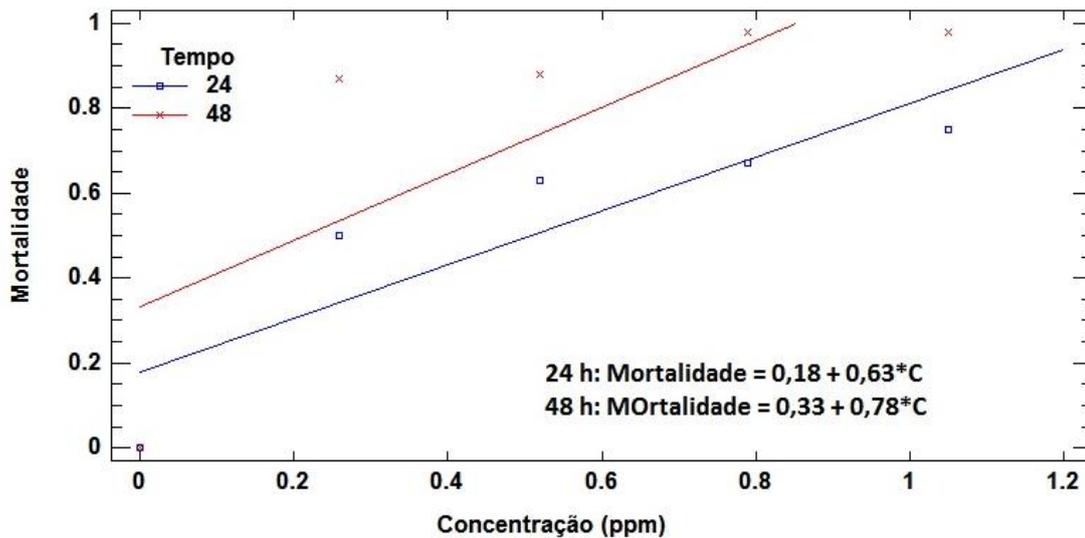


Figura 7. Linha de regressão mortalidade vs concentração nos tempos 24 e 48h para espécie *Culex quinquefasciatus*

5.2.1.2. Determinação da CL_{50} para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

Os resultados da avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcolico da casca da castanha de caju para a espécie *Culex quinquefasciatus* são apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para a determinação da CL_{50} para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

| Grupo | C (ppm) | 24 h | | 48 h | |
|-------|----------|------|------|------|------|
| | | X | DP | X | DP |
| I | Controle | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| II | 0.26 | 0.50 | 0.18 | 0.87 | 0.10 |
| III | 0.52 | 0.63 | 0.24 | 0.88 | 0.10 |
| IV | 0.79 | 0.67 | 0.14 | 0.98 | 0.03 |
| V | 1.05 | 0.75 | 0.09 | 0.98 | 0.03 |

C, concentração; X, mortalidade em %; DP, desvio padrão

A análise dos dados da tabela anterior permitiu constatar que o extrato hidroalcolico a 70% da casca da castanha de caju proporcionou efetiva atividade larvicida. A tabela 5 confirma a menor porcentagem de mortalidade nas 24h que foi de 50% e a maior que foi de 98%, esta última já no período de 48h.

No presente estudo o extrato da casca da castanha de caju apresentou uma CL_{50} frente a espécie *Culex quinquefasciatus* igual a 0,52 ppm. O gráfico analítico obtido através da análise Probit realizada para a determinação desta concentração é apresentado na figura 8.

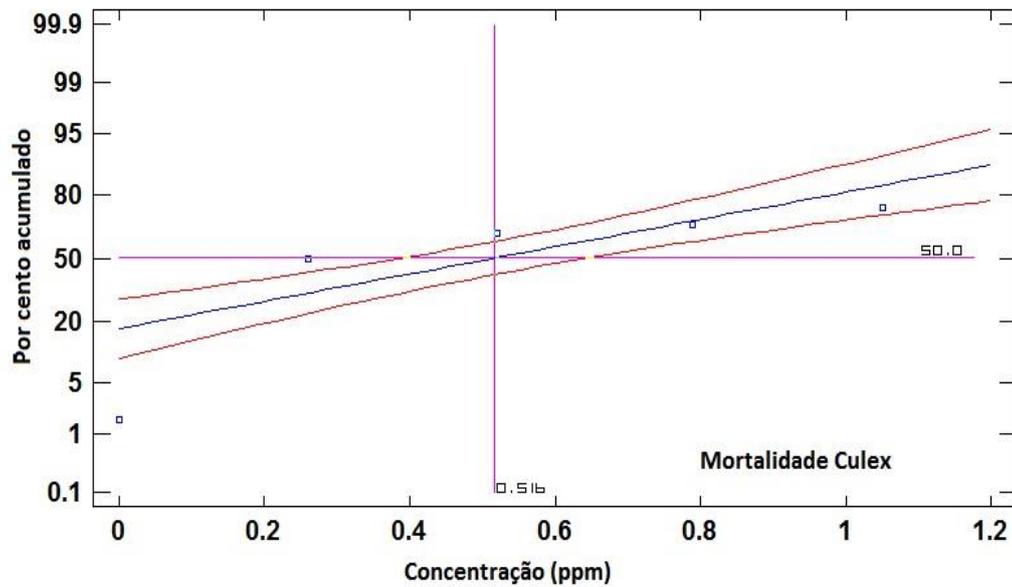


Figura 8. Determinação da CL_{50} para a espécie *Culex quinquefasciatus*.

O extrato hidroalcolólico a 70% da casca da castanha de caju causou a mortalidade a uma concentração considerada baixa se comparada a outras literaturas no valor de 0,52 ppm. Portanto, o extrato da espécie vegetal utilizado é bastante eficiente uma vez que mesmo em concentrações pequenas provoca alto índice de mortalidade.

Os resultados das CL_{50} confirmam que o extrato da casca apresentou comportamento semelhante ao que foi relatado por Shaalan et al. (2005) quando afirma que, em geral, as larvas do gênero *Culex* são mais suscetíveis a extratos botânicos de ação inseticida que as larvas do gênero *Aedes*. Este autor acrescenta, ainda, que a menor CL_{50} descrita para um componente botânico foi de 0,004mg/L de um constituinte da espécie vegetal *Piper nigrum*.

Boa atividade larvicida sobre *Culex quinquefasciatus* também foi observada por Fauziah et al. (2014) mostrando esta espécie ser suscetível às concentrações de 8 a 10,49 ppm de LCC e possuindo uma LC_{50} de 20,52 ppm.

Inúmeros estudos são realizados sobre a atividade inseticida de origem botânica frente a espécie de *Culex quinquefasciatus*, entretanto, escassas são os que abordam sobre a atividade larvicida de *Anacardium occidentale* Linn contra este mosquito.

5.2.2. Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie *Aedes aegypti* (Linhagem Macapá)

A mesma análise foi realizada para a espécie *Aedes aegypti* Macapá. A tabela 6 apresenta os resultados da análise estatística realizada. Da mesma forma, as magnitudes do p-valor para todos os parâmetros avaliados foram superiores a 0,05, Isto significa dizer que não há diferença estatística significativa de mortalidade entre os tempos 24 e 48h para esta espécie.

Tabela 6. Análise de regressão múltipla para a comparação das linhas de regressão para os tempos 24 e 48h para *Aedes aegypti* Macapá.

| Parâmetro | Estimado | Erro Padrão | Teste T | |
|------------------|-----------|-------------|-------------|---------|
| | | | Estatística | P-Valor |
| CONSTANTE | 0.186773 | 0.264336 | 0.706576 | 0.5188 |
| Concentração (C) | 0.150497 | 0.110722 | 1.35923 | 0.2457 |
| Tempo=48 | 0.0267094 | 0.373827 | 0.0714486 | 0.9465 |
| Tempo *C=48 | 0.117451 | 0.156585 | 0.750075 | 0.4949 |

(*) Por

A tabela 6 apresenta os valores ajustados para cada um dos tempos de exposição avaliados para a espécie *Aedes aegypti* Macapá. Nela apresenta-se, também, as expressões de regressão de cada uma delas. Da mesma forma que aconteceu para *Culex*, para esta espécie também não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as linhas de regressão para ambos os tempos avaliados, pelo que pode se calcular da CL_{50} , utilizando qualquer das expressões.

A figura 9 apresenta o gráfico ajustado para cada um dos tempos de exposição avaliados para a espécie *Aedes aegypti* Macapá. Nela se apresenta, também, as expressões de regressão de cada uma delas. Pode-se constatar que as expressões são iguais. Este fato permite fazer o cálculo da CL_{50} , utilizando qualquer das expressões.

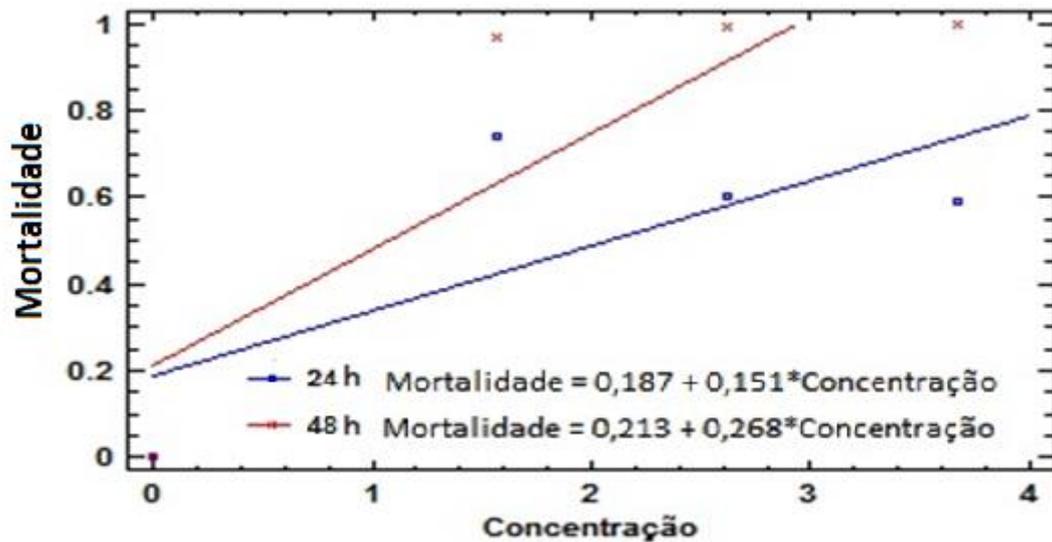


Figura 9. Linha de regressão mortalidade vs concentração e os tempos 24h e 48 h para a espécie *Aedes aegypti* Macapá.

5.2.2.1. Determinação da CL₅₀ para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Macapá).

Os resultados da avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Macapá) são apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para a determinação da CL₅₀ para a espécie *Aedes aegypti* Macapá.

| Grupo | C (ppm) | 24 h | | 48 h | |
|-------|----------|------|------|------|------|
| | | X | DP | X | DP |
| I | Controle | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| II | 1.57 | 0.74 | 0.08 | 0.97 | 0.06 |
| III | 2.62 | 0.60 | 0.38 | 0.99 | 0.02 |
| IV | 3.67 | 0.59 | 0.42 | 1.00 | 0 |

A análise dos dados da tabela anterior permitiu verificar que o extrato hidroalcolico 70% da casca da castanha de caju proporcionou efetiva atividade larvicida. A tabela 7 mostra a menor e a maior porcentagem de mortes que foi de 59 % nas 24h e 100% dentro das 48h, constatando-se alto índice de mortalidade independente do período. Ainda, das tabelas extraem-se que a concentração de 3,67ppm causa 100% de mortalidade para *Aedes* Macapá.

Mukhapahyay et al. (2010), Farias et al. (2009) e Lomonaco et al. (2009) corroboram com o presente estudo demonstrando excelente atividade larvicida da espécie *A. occidentale*.

Para tanto, Mukhapahyay et al. (2010) demonstraram que as concentrações de 12 ppm e 19 ppm de LCC provocaram alta e mesma taxa de mortalidade (98,5%) em larvas de *Aedes aegypti* quando expostas às duas concentrações.

O valor da CL_{50} obtido neste estudo para o extrato da casca de castanha de caju frente a espécie *Aedes aegypti* (Macapá) foi igual a CL_{50} de 0,94 ppm. O gráfico analítico obtido através da análise Probit realizado para a determinação desta concentração é apresentado na figura 10 e evidencia a concentração que mata 50% das larvas do mosquito *Aedes aegypti* (linhagem Macapá).

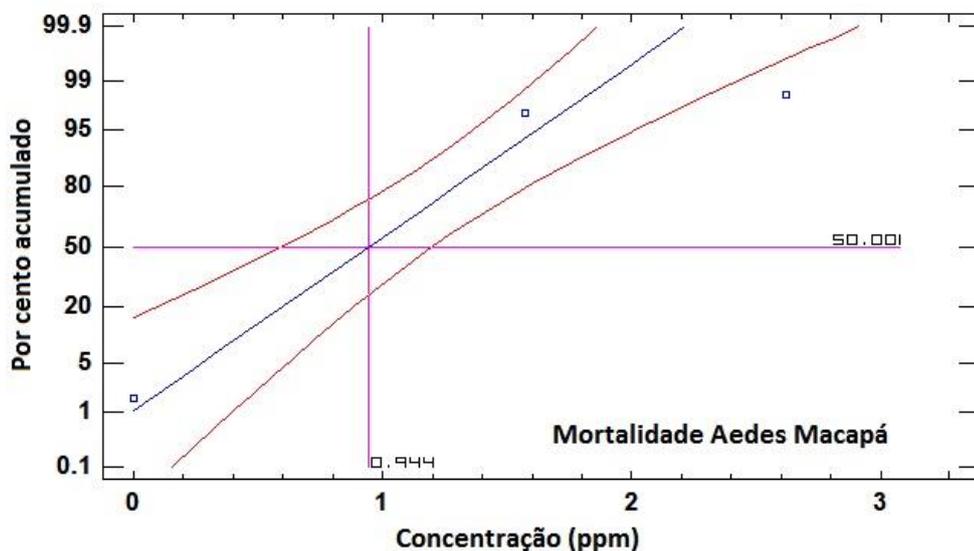


Figura 10. Determinação da CL_{50} para a espécie *Aedes aegypti* Macapá.

Estudo realizado por Porto et al. (2013) demonstrou que tanto o LCC recém-produzido quanto o LCC submetido ao resfriamento a 4° C por seis meses causaram mortalidade em torno de 70% em larvas de *A. aegypti* em diluição de até 0,1 mg.mL⁻¹. A CL_{50} do produto recém-produzido e do produto após congelamento variou de 0,07 mg.mL⁻¹ a 0,009 mg. mL⁻¹. Já a concentração capaz de produzir 95 % da mortalidade foi de 0,013 mg.mL⁻¹, demonstrando toxicidade do LCC extraído do cajueiro.

O estudo realizado por Tripathy et al. (2011) revelou atividade larvicida da planta *Anacardium occidentale* Linn sobre três espécies de mosquitos, dentre eles, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Assim, relatou a CL_{50} no valor de 27,82 ppm e 11,68 ppm, respectivamente.

Também Guissoni et al. (2013) relatou o resultado promissor das concentrações letais do líquido da castanha de caju sobre larvas de *A. aegypti* que foram de 6,55 ppm para o CL₅₀ e 10,98 ppm para o CL₉₀.

5.2.3. Avaliação da influência do tempo de exposição na mortalidade para a espécie *Aedes aegypti* (Linhagem Rockefeller)

Diferentemente do que acontece com as larvas do gênero *Culex* e *Aedes* (linhagem Macapá), para esta espécie o tempo de exposição das larvas ao extrato apresentou diferenças estatísticas significativas (p valor <0,05; Tabela 8). Isto significa dizer que a mortalidade das larvas para esta espécie, além da influência da concentração, foi influenciada pelo tempo que estas permaneceram expostas ao extrato.

Tabela 8. Análise de regressão múltipla para a comparação das linhas de regressão para os tempos 24 e 48h para *Aedes aegypti* Linhagem Rockefeller.

| Parâmetro | Estimado | Erro padrão | Teste T | |
|----------------|----------|-------------|-------------|---------|
| | | | Estatística | p-valor |
| CONSTANTE | 79.9811 | 2.96705 | 26.9564 | 0.0000 |
| Concentração | 7.95761 | 1.54032 | 5.1662 | 0.0000 |
| Tempo as 48h | 11.6824 | 4.19604 | 2.78416 | 0.0115 |
| C*Tempo as 48h | -4.77699 | 2.17834 | -2.19295 | 0.0403 |

C, concentração; (*) Por

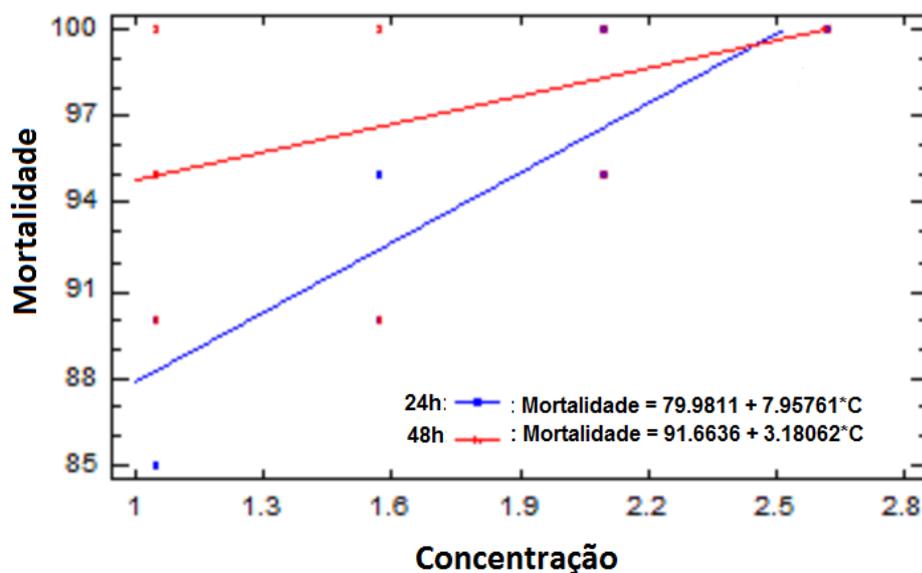


Figura 11. Linha de regressão mortalidade vs concentração às 24 e 48h para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller).

A figura 11 representa as linhas de regressão ajustadas para os tempos avaliados. Além disto, a figura evidencia as expressões matemáticas de cada uma delas. Como pode se observar, as linhas de regressão cortam-se num ponto do gráfico. Isto é indicativo de que acontece uma brusca mudança da inclinação de uma das curvas, como consequência, provavelmente de outro fator externo, neste caso o tempo de exposição das larvas de *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) à substância tóxica e à concentração têm interferência sobre a mortalidade.

5.2.3.1. Cálculo da CL_{50} para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller)

Na tabela 9 estão apresentados os resultados obtidos no ensaio de atividade larvicida do extrato hidroalcolólico da casca de castanha de caju.

Tabela 9. Representação dos valores da concentração e mortalidade nas 24 e 48h para a determinação da CL_{50} para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller).

| Grupo | C (ppm) | 24 h | | 48 h | |
|-------|----------|------|------|------|------|
| | | X | DP | X | DP |
| I | Controle | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| II | 1,05 | 0,88 | 0,03 | 0,95 | 0,05 |
| III | 1,57 | 0,92 | 0,03 | 0,97 | 0,06 |
| IV | 2,10 | 0,98 | 0,03 | 0,98 | 0,03 |
| V | 2,62 | 0,95 | 0,09 | 1,00 | 0,00 |

Evidenciou-se que a concentração que causou a menor mortalidade foi em torno de 88% dentro das 24h, bem como a de maior mortalidade foi de 100% no período das 48 de exposição ao extrato. Estes dados confirmam que o extrato apresentou efetividade frente as larvas de *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) provocando índices superiores a 50% de letalidade. Também, a concentração que provocou 100% de mortalidade foi de 2,62 ppm.

Nota-se a suscetibilidade desta linhagem diante da baixa concentração do extrato da castanha de caju, demonstrando este apresentar propriedades larvicidas consideráveis.

Como foi mencionado anteriormente, foram encontradas diferenças estatísticas significativas (p valor $<0,05$; Tabela 9), da mortalidade das larvas para esta espécie, para os dos tempos de exposição avaliados. Portanto, foram calculados valores da CL_{50} para 24 e 48 horas, pois para efeitos práticos, esse valor pode ser importante. Em seguida, apresentam-se os gráficos obtidos da análise Probit para a determinação da CL_{50} nas 24 horas (figura 12) e

nas 48 horas (figura 13). Neste estudo a CL_{50} foi de 0,74 ppm para as 24h e 0,68 ppm para as 48h.

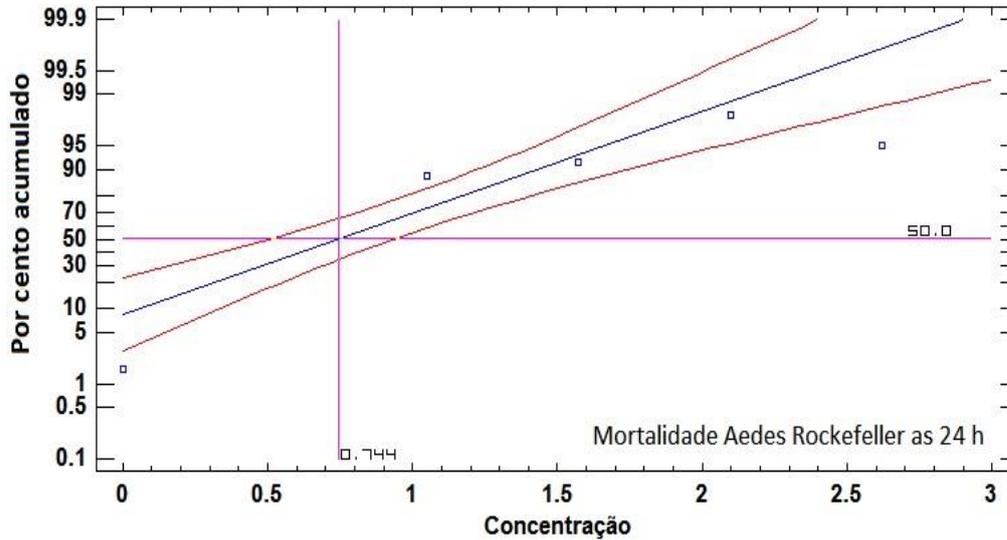


Figura 12. Determinação da CL_{50} para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) no período de 24h.

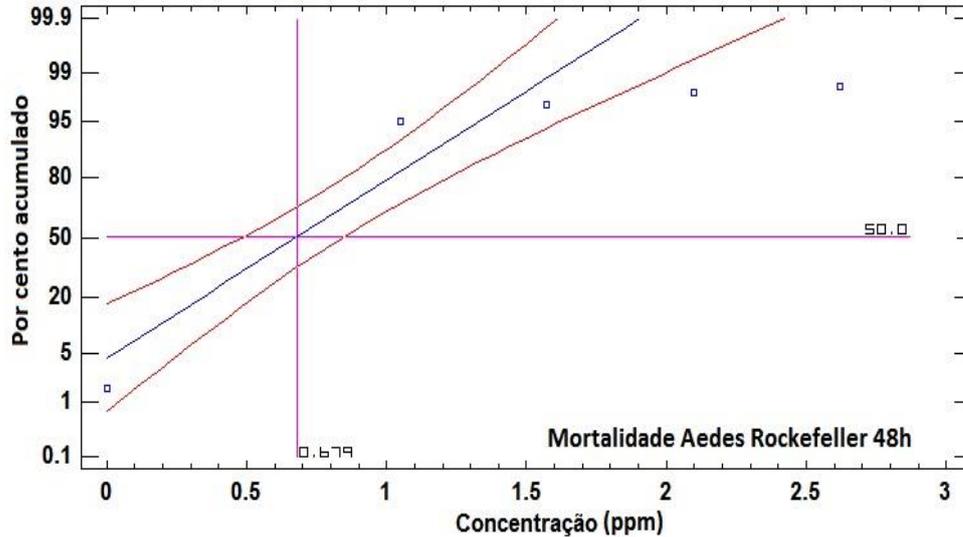


Figura 13. Determinação da CL_{50} para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) no período de 48h.

De um modo geral, todas as concentrações letais das espécies aqui estudadas são bem menores que as encontradas por Guissoni et al. (2011), Lomonaco et al. (2009) e Porto et al. (2013).

6. CONCLUSÃO

1. Neste trabalho foi obtido e caracterizado, física e quimicamente, pela primeira vez o extrato hidroalcolico a 70% da casca da castanha de caju.
2. O estudo revelou que o extrato hidroalcolico a 70% da casca da castanha de caju apresentou potencial atividade larvicida frente a todas as espécies avaliadas. A CL₅₀ para a espécie *Culex quinquefasciatus* foi de 0,52 ppm, para *Aedes aegypti* Macapá foi de 0,94 ppm e para *Aedes* linhagem Rockefeller, para as primeiras 24 horas foi de 0,74 ppm e para as 48 horas foi de 0,68 ppm.
3. O efeito larvicida para a espécie *Aedes aegypti* (linhagem Rockefeller) foi também dependente do tempo de exposição das larvas ao extrato.

7. REFERÊNCIAS

ACIOLE, S.D.G. **Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais das Plantas Amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como Alternativa de Controle às Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. 2009. 86p. Dissertação (Biologia Humana e Ambiente). Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências. Departamento de Biologia Animal, Lisboa, 2009.

AKINHANMI, T.F.; AKINTOKUN, P.O. Chemical Composition and Physicochemical Properties of Cashew Nut (*Anacardium occidentale*) Oil and Cashew nut Shell Liquid. **Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences**, Nigeria, v. 2, n. 1, 2008.

ALCÂNTARA, S.R.; ALMEIDA, F.A.C.; SILVA, F.L.H.; GOMES, J.P. Isotermas de adsorção do pedúnculo seco do caju. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 13, n. 1, p. 81-87, 2009.

ALVES, S.N.; TIBÚRCIO, J.D.; MELO, A.L. Suscetibilidade de larvas de *Culex quinquefasciatus* a diferentes inseticidas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n.4, p. 486-489, jul -ag. 2011.

AREMU, M.O.; AKINWUMI, O.D. Extraction, Compositional and Physicochemical Characteristics of Cashew (*Anacardim occidentale*) Nuts Reject Oil. **Asian Journal of Applied Science and Enginnering**, Nigeria, v. 3, n. 3, Ag. 2014.

BARRETO, M.L.; TEIXEIRA, M. G. L. C. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 22, n. 64, dez. 2008.

BARRETO, C.F. *Aedes aegypti*- Resistência aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, Goiás, v. 1, n. 2, p.62-73, nov. 2005.

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

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Atenção Básica. Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose. **Cadernos de Atenção Básica**, n. 21. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

_____. Ministério da Saúde. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009a.

_____. Ministério da saúde. **Guia de vigilância epidemiológica e eliminação da filariose linfática**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009b.

_____. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância do *Culex quinquefasciatus***. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

_____. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: guia de bolso**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: Histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16. n. 2, p. 113-8, abr.-jun. 2007.

CATÃO, R. de C. **Dengue no Brasil: abordagem geográfica na escala nacional**. São Paulo: cultura acadêmica, 2012.

CAVALCA, P.A.M.; LOLIS, M.I.G.A.; REIS, B.; BONATO, C.M. Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinérea* essential oil against *Aedes aegypti*. **Brazilian Archives Biology and Technology**, Curitiba, PR, v.53, n. 4, July/Aug. 2010.

CHABI, S.K.; SINA, H.; ADUOKONOU-SAGBADJA, H.; AHOTON, L.E.; ROKO, G.O.; SAIDOU, A.; ADÉOTI, K.; AHANCHEDE, A.; BABA-MOUSSA, L. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. leaves and barks extracts on pathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, France, 2014.

CHAVES, M. H.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.L.; COSTA, D.A.; OLIVEIRA, C.A.A.; COSTA A.F.; JÚNIOR, E.M.B. Fenóis totais, Atividade antioxidante e constituintes químicos de extrato de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Terezina, Piauí, v. 20, n. 1, p. 106-112, jan. /març. 2010.

CORREIA, S.J. DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

CUNHA, M.L.D.M. **Ensaio Toxicológicos dermais, pré-clínicos e clínicos Fase I, com o hidrogel do extrato alcóolico das cascas do caule de *Anacardium occidentale* Linn.** 2011. 96 f. Dissertação (Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba. Centro de ciências da Saúde, João Pessoa, 2011.

DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, C.D.; LIMA, C.G.; EGEWARTH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microteca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**, Santa Maria, RS, v.21, n.1, p.41-46, març. 2008.

DOSS, V.A.; THANGAVEL, K.P. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of *Anacardium occidentale* L. **International Journal of Applied Biology and pharmaceutical Technology**, Chennai, v. 2, n. 3, July-Sep. 2011.

ELETRONORTE (Brasil). Cenários sócio-energéticos da Amazônia 2000-2020. [S.I.:s.n.], 2001. Disponível em: <<http://www.eln.gov.br/opencsm/export/site/eletronorte/publicacoes/publicacoes/cenariosocienergeticoAmazonia2000-2020.pdf>>. Acesso em 12 ago. 2013.

ESCALONA, J.C.; PEREZ, R.R.; URDANETA, L.E.; MORRIS, Q.H.; CAMACHO, M.; RODRIGUEZ, A.J.R.; SIERRA, G.G.; Role of polyphenols in the antimicrobial activity of ethanol Tamarindos indica L fluid extract, **BLACPMA**, v. 12, n. 5, p. 516-522, 2013.

FARIAS, D.F.; CAVALHEIRO, M.; VIANA, S.M.; DE LIMA, G.P.G.; BEZERRA, L.C.B.B.R.; RICARO, N.M.; CARVALHO, A.F.U. Insecticidal action of sodim anacardate from Brazilian cashew liquid against *aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Fortaleza, Ceará, v. 25, n. 3, Sep. 2009.

FAUZIAH, R.S.; SUDARSONO; MULYANINGSIH, B. Larvicidal activity of the mixture of cashew nut shell liquid (CNSL) and aqueous extract of *Sapindus rarak* DC against larvae of *Culex quinquefasciatus*. **Biology, Medicine & Natural Product Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 23-26, 2014.

FELIU, D. A. **Análise de Terpenóides de espécies de *Croton* sect. *Lampro cróton* (Mull. Arg.) Pax. (Euphorbiaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

FILHO, J.F.S.; DINIZ, M.F.F.M.; HIGINO, J.S.; BARBOSA, R.G.; RODRIGUES, L.T.D.; FERNANDES, C.M.; ARAÚJO, G.D.S. Estudo de Toxicologia Clínica de um Fitoterápico obtido a partir de um Extrato Etanólico Bruto da casca de *Anacardium occidentale* Linn, em Voluntários Saudáveis. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, Recife, PE, v. 14, n. 1, p. 65-74, 2010.

FURTADO, R.F.; LIMA, M.G.A.; NETO, M.A.; BEZERRA, J.N.S.; SILVA, M.G.V. Atividade Larvicida de Óleos Essenciais Contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, Fortaleza, CE, v.34, n.5, p.843-847, 2005.

FUNDAÇÃO OSVALDO CRUZ. Ministério da Saúde. **Rede de Ações Integradas de Atenção à Saúde no Controle da Dengue**, Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2013. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/rededengue/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sial=9>. Acesso em: 19 set. 2013.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Ministério da Saúde. **Invivo. Filariose Linfática**, Rio de Janeiro: Fiocruz, 2015. Disponível em: <http://www.invivo.fiocruz.br/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=106&sid=8>. Acesso em: 23 jan. 2015.

GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L.M.G.E.; SARMENTO, U.C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, Mato Grosso do Sul, v.5, n. 3, p.363-393, maio-jun. 2013.

GOMATHI, P. P.; SIVAMANIS, S. Extraction of resin from agro-industrial wastes. **Innovare Journal of engineering e technology**, Chennai, v. 2, n. 1, 2014.

GUISSONI, A.C.P.; SILVA, I.G.; GERIS, R.; CUNHA, L.C.; SILVA, H.H.G. Atividade Larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Ratus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, v. 15, n. 3, p. 363-367, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª edição, São Paulo: IMESP, 2008. p.1020.

LARANJA, A.T.; MANZATO, A.J.; BICUDO, H.E.M.C. Caffeine effect on mortality and oviposition in successive generations of *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.40, n.6, Dec. 2006.

LIMA, M.G.A.; MAIA, I.C.C.; SOUSA, B.D.; MORAIS, S.M.; FREITAS, S.M. Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v.48, n.4, July/Aug. 2006.

LOMONACO, D.; SANTIAGO, G.M.P.; FERREIRA, Y.S.; ARRIAGA, A.M.C.; MAZZETTO, S.E.; MELLE, G.; VASAPOLLO, G. Estudo do LCC técnico e seus principais constituintes como novos larvicidas naturais. **32ª Reunião Anual da sociedade brasileira de química**, Ceará, 2009.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; DOS ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. **Revista Saúde Pública**, Curitiba, PR, v. 38, n. 6, p.842-843, 2004.

MATTOS, D.; MOTA, S.; DREYER, G. Aspectos da realidade social de crianças e adolescentes atendidos em serviço de referência para Filariose Bancroftiana, Recife, Estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Recife, Pernambuco, v. 41, n.1, p.29-35, jan-fev, 2008.

MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 372-741, 2009.

MELO, M.L.P.; MAIA, G.A.; SILVA, A.P.V.; OLIVEIRA, G.S.F.; FIGUEIREDO, R.W. Caracterização físico-química da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, 1998.

MENDES, R.M.B. **Obtenção e caracterização de biofilmes à base dos polímeros naturais: pectina e goma do cajueiro com perspectivas de uso em processos de cicatrização.** 2013. Dissertação (Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí, Piauí, Terezina, 2013.

MENEZES, E.L.A. **Inseticidas Botânicos: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação e Uso Agrícola.** Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2005.

MONTANARI, R.M. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécie de Anacardiaceae, Siparunaceae e Verbenaceae.** 159f. Tese (*Doctor Scientiae*). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

MONTEIRO, F.M.F. **Avaliação do Tratamento Tópico de lesões Cutâneas com Filmes obtidos do polissacarídeo da Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.).** 163f. 2006. Doutorado (Ciência Veterinária). Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

MORAIS, A.C.S. **Desenvolvimento, otimização e aceitabilidade de extrato hidrossolúvel da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale*).** 113f. Dissertação (Ciência e tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2009.

MUKHOPADHYAY, A.K.; HATI, A.K.; TAMIZHARASU, W.; BABU, P.S. Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L.) on immature stages of two mosquito species. **Journol Vector Borne Diseases**, v. 47, p. 257-260, 2010.

NNAMANI, C.V.; OSAYI, E.E.; ATAMA, C.I.; NWACHUKWU, C. Lavicidal effects of leaf, bark and nutshell of *Anacardium occidentale* on the larvae of *Anopheles gambiae* in Ebonyi state, Nigeria. **Animal research International**, Ebonyi, Nigeria, v. 8, n. 1, p. 1353-1358, 2011.

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**, Campo Grande, MS, 41(6):586-589, nov-dez, 2008.

PORTO, K.R.A.; ROEL, A.R.; MACHADO, A.A.; CARDOSO, C.A.L.; SEVERINO, E.; OLIVERIRA, J.M. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 4, p. 419-422, out-dez. 2013.

RAFAEL, M.S.; HEREIRE-ROJAS, W.J.; ROPER, J.J.; NUNOMURA, S.M.; TADEI, W.P. Potential Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Piper aduncum* L. (Piperaceae) extrats demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. **Genetics and molecular research**, Manaus, AM, v.7, n.3, p.772-781, 2008.

RAJESH KANNAN, V.; SUMATHI, C.S.; BALASUBRAMANIAN, V.; RAMESH, N. Elementary Chemical Profiling and Antifungal Properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts. **Botany Research International**, India, v. 2, n. 4, p. 253-257, 2009.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v.1, n.2, p. 43-50, 2001.

SANTA CATARINA (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Vigilância em Saúde. Diretoria de Vigilância Epidemiológica- DIVE. **Guia de Orientação para Treinamento de Técnicos de Laboratório de Entomologia**, Santa Catarina, 2008.

SANTOS, N. P.; PINTO, A. C. “A mata é sua farmácia”- A pesquisa de plantas brasileiras para o combate de doenças tropicais no século XIX. **Revista virtual de Química**, Rio de janeiro, v. 4, n.2, p.162-172, mai.2012.

SHAALAN, E.A-S., CANYON, D., MOHAMED, W.F.Y., ABDELWAHAB, H. e ABDEL-HAMID, M. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p.1149-1166, Oct. 2005.

SILVA, Heloisa Helena.G.; SILVA, Ionizete Garcia. 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**, vol. 32, n.4, p.349-355, jul-ago, 1999.

SIMAS, N.K.; LIMA, E.C.; CONCEIÇÃO, S.R.; KUSTER, R.M.; FILHO, A.M.O.; LAGE, C.L.S. Produtos Naturais para o Controle da Transmissão da Dengue- Atividade Larvicida de *Myroxylon balsamum* (Óleo Vermelho) e de Terpenóides e Fenil propanóides. **Química Nova**, Rio de Janeiro, vol. 27, n.1, p.46-49, 2004.

Statgraphic Centurium XXV.1 (StatEase Co. MA. USA).

TRIPATHY, A.; SAMANTA, L.; DAS, S.; PARIDA, S.K.; MARAI, N.; HAZRA, R.K.; MALLAVDANI, U.V.; KAR, S.K.; MAHAPATRA, N. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 291-295, 2011.

UKWENYA, V.O.; ASHAOLU, J.O.; ADEYEMI, A.O; AKINOLA, O.A.; CAXTON-MARTINS, E.A. Antihyperglycemic activities of methanolic leaf extrate of *Anacardium occidentale* (Linn.) on the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. **Jornal of Cell and Animal Biology**, v.6, n. 11, p. 169-174, Jun. 2012.

WHO. 1970. Insecticide resistance and vector control. **World Health Organization Technical Reports Series**. 443. 53p.

WHO.1980. Resistance of vectors of diase to pesticides. **Technical Report Series** 655. Genebra. 48p.

WHO. 1984. Chemical methods for the control of arthropod vectors and pets of public health importance, Geneva, 108p.

WHO. 2012. Report of a WHO technical working group meeting on dengue prevention and control, Geneva, Switzeriand, 6p.

WHO, 2013. Dengue Control. Word Health Organization Technical, Geneva. Disponível em: <<http://www.who.int/denguecontrol/en/index.html>>. Acesso em: 10 jul.2013.