

ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS CAUSADAS POR LIXIVIADO DESTILADO EM LARVAS DE *Culex quinquefasciatus*

AIRAN DE QUEVEDO FERNANDES¹; MAURO PEREIRA SOARES²; SIARA SILVESTRI³; RONYSSA DOS SANTOS RIBEIRO⁴; JULIA VICTÓRIA DOS SANTOS⁵; CAMILA BELMONTE OLIVEIRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – airanfernandes18@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gmpsoares@gmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria – siarasilvestri@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – ronyssaribeiro5742@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - juliavictoriabji@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – camilabelmontevet@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

Espécies pertencentes a ordem Díptera e a família Culicidae constituem um dos principais desafios para a saúde pública global, em virtude da sua capacidade vetorial para diversos arbovírus e parasitos, incluindo a Dengue, Chikungunya, Febre Amarela, filaríoses, dentre outras, ocasionando elevada morbidade e mortalidade em regiões tropicais e subtropicais (GOVINDARAJAN et al., 2013). No Brasil, são descritas cerca de 500 espécies de Culicídeos, dos quais em torno de 20 com importância médico-veterinária, dentre elas *Culex quinquefasciatus* (MHADAV et al., 2024). Entre as principais enfermidades transmitidas por esta espécie, destaca-se a Filariose Linfática, recentemente considerada erradicada no País pela OMS, tornando-se o 20º no mundo a ter esse status (WHO., 2024).

Durante décadas, o controle na transmissão de patógenos baseou-se predominantemente com uso de inseticidas químicos (WHO., 2011). No controle de adultos é comumente realizado através da aplicação de piretrinas e piretróides, além de neonicotinoides, organofosforados e carbamatos, em que ambos atuam no sistema nervoso dos insetos (MHADAV et al., 2024). No entanto, devido a resistência adquirida pela espécie *Culex quinquefasciatus*, a ineficácia dos métodos de controle, aliada as mudanças climáticas e ao avanço da urbanização tem intensificado as interações entre a espécie e populações humanas, favorecendo ocorrência de surtos de doenças transmitidas por este vetor em áreas previamente não afetadas (BHARATI, 2021., MHADAV et al., 2024).

Os principais processos antrópicos que atualmente impactam o planeta, como as mudanças climáticas e urbanização, tem intensificado a distribuição geográfica de *Culex quinquefasciatus* (MHADAV et al., 2024). Níveis crescentes de urbanização aumentam a disponibilidade de habitats propícios para sua reprodução, como acúmulos de água em recipientes (KOLIMENAKIS., 2021). Associado a isto, perspectivas atuais preveem aumentos médios de temperaturas globais entre 2,5 °C e 2,9 °C (PNUMA., 2023). Experimentos que avaliam o desenvolvimento e sobrevivência indicam que em temperaturas elevadas o desenvolvimento larval ocorre de maneira mais acelerada, porém a sobrevivência larval e adulta acima de determinados limites térmicos é reduzido (MOSER., 2023).

Vários estudos propõem o uso de fitoquímicos como fontes promissoras no desenvolvimento de larvicidas comerciais (PAVELA., 2015). Seus compostos atendem critérios de baixo risco, além de serem biodegradáveis e não tóxicos a organismos não alvos (YAGO., 2023).

Neste contexto, o lixiviado de aterro sanitário, mais conhecido como “chorume”, resultado da decomposição da matéria orgânica, é um efluente caracterizado por uma grande heterogeneidade na sua composição, contendo restos de produtos farmacêuticos, metais e compostos orgânicos voláteis (DE

SOUZA., 2015). Através do processo de destilação simples no tratamento desse líquido, a sua toxicidade em organismos vivos é reduzida (STORCK et al., 2023). Considerando o impacto epidemiológico de *Culex quinquefasciatus* e a crescente resistência adquirida, esse estudo avaliou as alterações histológicas causadas pelo lixiviado destilado em diferentes concentrações em larvas do culicídeo.

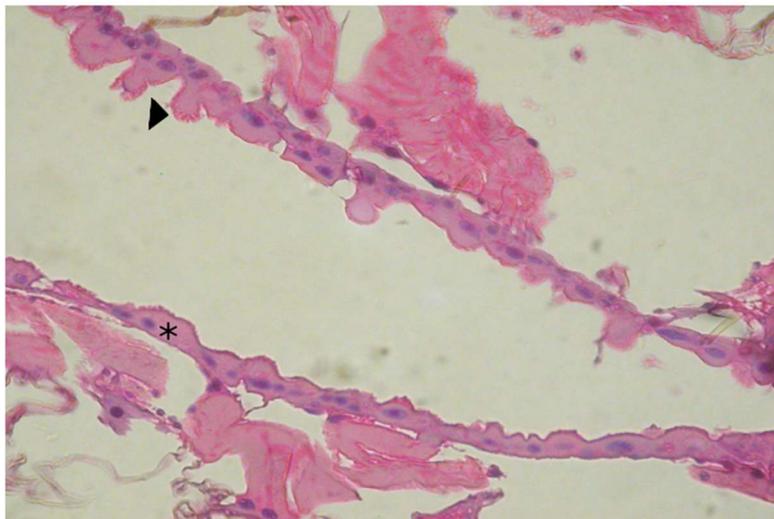
2.METODOLOGIA

As amostras de lixiviado destilado foram obtidas em parceria com o Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos (LAPOCOL) da UFSM (STORCK et al., 2023). As coletas de larvas de *C. quinquefasciatus* foram realizadas em área urbana na cidade de Pelotas, RS (31°46'19"S 52°19'27"W), local com água parada e acúmulo de matéria orgânica. Utilizaram-se conchas entomológicas adaptadas (350ml) acopladas com cabo extensor. As larvas coletadas foram acondicionadas em frascos com furos na tampa para mantê-las vivas e com a água do criadouro. Posteriormente, no Laboratório de Protozoologia e Entomologia (LAPEn), foi feita triagem, com o objetivo de selecionar larvas nos 3º e 4º de desenvolvimento para o teste. Em seguida, as larvas foram alocadas em cada um dos 11 tubos Falcons (50ml) com 20 ml de água destilada em cada. Destes, 9 tubos foram destinados aos tratamentos divididos em: LD (lixiviado destilado) nas concentrações de 15% (n=20), 10% (n=20) e 5% (n=20) em triplicatas, além de um tubo como controle negativo com água destilada e outro como controle positivo com piretróide (deltametrina). Os ensaios foram realizados em laboratório com condições ideais de umidade (80%), temperatura (28 C°) e de fotoperíodo. As análises se deram em 48 horas, seguindo a metodologia de FERREIRA (2021) com modificações. Para as análises histológicas, as larvas foram fixadas por imersão em solução de formalina 10% tamponada durante 24 horas. Cada grupo de larvas com diferentes tratamentos foram agrupados em uma pequena cavidade feito em placa de ágar. Após a acomodação das larvas, o fosso foi preenchido por ágar líquido (FERREIRA, 2021). Depois da solidificação, a placa de ágar foi recortada em pequenos retângulos contendo no seu centro o grupo de larvas do tratamento. As amostras foram processadas rotineiramente, incluídas em parafina, cortadas em seções de 3-4 µm, coradas com hematoxilina-eosina (HE) e examinadas em microscópio óptico (PROPHET, 1994).

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliar as alterações morfohistológicas causadas podem ajudar a elucidar os efeitos tóxicos da aplicação de compostos em insetos (VAN DER OOST et al., 2003). Neste estudo, somente a concentração de 15% lixiviado destilado após 48 horas mostrou alterações no intestino das larvas de *C. quinquefasciatus* (Figura 1). A borda estriada (ponta da seta) apresenta menos espessa e mostrando células intestinais (asteriscos) sem delimitações causados pela ação do lixiviado destilado.

Figura 1. Intestino de larvas de *Culex quinquefasciatus* após exposição ao lixiviado destilado 15%. A borda estriada (ponta seta) apresentando-se menos espessa e as células intestinais (asterisco) com alterações na forma com tamanhos variados.



As células intestinais apresentam a borda estriada espessa e bem desenvolvida para aumentar a superfície de contato, auxiliando na absorção de nutrientes (TERRA et al., 2006). JIRAUGKOORSKUL (2019) avaliou o efeito do extrato aquoso do caule de *Tinospora crispa* em larvas de *C. quinquefasciatus* em que as células intestinais apresentavam ausência da borda estriada. AL-MEHMADI e ALKHALAFY (2010) observaram danos morfológicos nas células epiteliais colunares e degeneração celular em larvas de *C. quinquefasciatus* tratadas com extrato de *Melia azedarach*. O processo de degeneração de células intestinais, ocorrido neste estudo, podem se dar devido ao estresse oxidativo causado pela ação do lixiviado, promovendo apoptose celular seguida de degeneração celular. Segundo STORCK e colaboradores (2023), na caracterização físico-química do lixiviado existem diversas variáveis como sulfato, cádmio, cálcio, chumbo, cromo, ferro, níquel, zinco, potássio, entre outros. A causa das alterações histológicas encontradas neste estudo podem se dar devido à presença na composição do lixiviado de sulfato (SO_4^{2-}), uma forma de enxofre. DE ANDRADE e colaboradores (2007), estudaram o efeito do enxofre em *Tetranychus mexicanus* e constataram que a substância atua nas vias respiratórias do ácaro, interferindo no transporte de elétrons.

4.CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou alterações histológicas no intestino médio de larvas de *C. quinquefasciatus* na concentração de 15% de lixiviado destilado. Assim, o estudo mostra resultados relevantes para um promissor desenvolvimento de um novo inseticida. O estudo de novos compostos inseticidas é necessário, devido à preocupação da Saúde Pública no controle de insetos vetores a fim de evitar transmissão de doenças.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-MEHMADI, R.M., AL-KHALAF. Larvicidal and histological effects of *Melia azedarach* extract on *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). **Journal King Saud University Sci.** v.22, nº 2, p.77–85, 2010.

BHARATI, M.; SAHA, D. Insecticide resistance status and biochemical mechanisms involved in *Aedes* mosquitoes A scoping review. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.**v.14, n.2, p.52-63,2021.

DE ANDRADE, D.J. et al. Efeito da calda sulfocástica sobre o ácaro *Tetranychus mexicanus* (McGregor, 1950) em *Citrus*. **Revista de Agricultura**, v. 82, p.161-169, 2015.

DE SOUZA, M.C. et al. Processos de tratamento do chorume e reaproveitamento: Uma revisão. **Blucher Chemistry Proceedings**. v.3, n.1, 2015.

FERREIRA, S.L. **Alterações histológicas e bioquímicas em larvas de Culex quinquefasciatus após exposição a potenciais pesticidas**. 2021. 68f. Tese (Programa multicêntrico de Pós-graduação em Bioquímica e Biologia Molecular). Universidade Federal de São João Del Rei, Divinópolis, MG.

GOVIDARAJAN, M. et al. Mosquito larvicidal activity of thymol from essential oil of *Coleus aromaticus* Benth. against *Culex tritaeniorhyncus*, *Aedes albopictus*, and *Anopheles subpictus*. *Parasitology Research*. v.112, p.3713-3721, 2013.

JIRAUNGKOORSKUL, W. Efficiency of *Tinospora crispa* against *Culex quinquefasciatus* larva. **Environ Sci Pollut Res**. v.26, nº15, 712–716, 2019.

KOLIMENAKIS, A. et al. The role of urbanization in the spread of Aedes mosquitoes and the diseases they transmit-A systematic review. **Plos neglected tropical diseases**.v.15, nº9, p.1-21, 2021.

MHADAV., et al. Culex-transmitted Diseases: Mechanisms, impact, and future control strategies using Wolbachia. **Viruses**, Tadahisa Teramoto. v.16, nº 7, p.1-24,2024.

MOSER, S.K. et al. Scoping review of *Culex* mosquito life history trait heterogeneity in response to temperature. **Parasites e Vectors**. v.16, n.200, p.1-16, 2023.

Programa das Nações unidas para o Meio Ambiente (PNUMA). Relatório Anual do Clima. 2023.

PROPHET, E. Laboratory methods in histotechnology. Armed Forces Institute of Pathology. 1994.

PAVELA, R. Óleos essenciais para o desenvolvimento de larvicidas ecológicos para mosquitos: uma revisão. **Ind Crops Prod** 76:174–187, 2015.

STORCK, T.R. et al. Toxicity evaluation of landfill leachate after treatment by simple distillation using Danio rerio biomarkers. **Process Safety and Environmental Protection**. v. 174, p. 243-252, 2023.

TERRA, W.R., COSTA, R.H., FERREIRA, C. Plasma membranes from insect midgut cells. **An Acad Bras Cienc**. v.78, p.255–269, 2006.

VAN DER OOST, R., BEYER, J., VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environ. Toxicol. Pharmacol**.v.13, nº2 ,p.57-149,2003.

YAGOO, A. et al. Mosquito larvicidal, pupicidal and ovidical effects of the different extracts of the leaves of *Peltophorum pterocarpum* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 9, n. 32, 2023.

World Health Organization (WHO). 2011. **WH position statement on integrated vector management to control malaria and lymphatic filariasis**.

World Health Organization (WHO). 2024. **Brazil eliminates lymphatic filariasis as a public health problem**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-10-2024-brazil-eliminates-lymphatic-filariasis-as-a-public-health-problem>. Acesso em: 3 de dez, 2024.