

Utilização de extratos vegetais na descontaminação da água e com atividade larvicida sobre *Aedes aegypti*

Estudantes: Ana Eliza Pereira Machado; Paulo Henrique de Sousa Martins; Walisson Machado de Melo

Orientadores: Renato Rodrigues Brandão; Tânia Cristina da Silveira; Ana Maria Borges Cunha

Escola Municipal do Moreno

RESUMO

A pesquisa refere-se ao uso extratos de origem vegetal de *Pterodon emarginatus Vogel* (Sucupira), *Momordica charantia* (Melão de São Caetano) e *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) na descontaminação da água não tratada e no combate ao mosquito vetor da dengue, com o objetivo de oferecer alternativas em relação ao tratamento de água em regiões onde não há saneamento básico, bem como no extermínio larvicida do mosquito *Aedes aegypti*. Foram realizados testes com os 3 extratos brutos e suas diluições em culturas de protozoários e em cultura de larvas do *Aedes aegypti*. Obtemos uma amostragem em relação testes de citotoxicidade positiva e comprovação de atividade antimicrobiana dos extratos vegetais produzidos. Com diminuição ou eliminação, de micro-organismos variados através da aplicação dos extratos vegetais produzidos. Os testes realizados quanto ao extermínio das larvas, ainda estão em andamento. O estudo suscita reflexões sobre natureza das ciências e suas relações com a tecnologia e os problemas da sociedade contemporânea, e coloca em evidência as possibilidades de estudo da biodiversidade local em diversas áreas da ciência, da microbiologia e epidemiologia até tecnologias relacionadas à solução de problemas sociais, como por exemplo, saneamento básico e saúde pública.

INTRODUÇÃO/JUSTIFICATIVA

A água é um recurso natural que tem papel fundamental no surgimento das formas de vidas existentes na Terra, que sempre necessitaram dela para a sua sobrevivência e evolução. Principalmente para os seres humanos, a água é o mais crítico e importante elemento para a manutenção de suas funções orgânicas, sem a qual não sobreviveriam. Além das já citadas funções orgânicas, temos ainda função social da água, a qual tem importância no que diz respeito às atividades econômicas, e o alcance da água potável de qualidade às diversas esferas da população.

A maioria das doenças transmitidas ao homem é causada por microrganismos, como bactérias, helmintos, protozoários e vírus, que podem ser veiculados pelo ar, contato, alimento e água (BRASIL, 2006). A qualidade da água é determinada por indicadores físico-químicos e microbiológicos. Segundo a Organização Mundial da Saúde, uma melhoria no saneamento e no abastecimento de água potável poderia

reduzir em até 90% as doenças diarreicas no mundo, evitando cerca de 2,2 milhões de mortes de crianças anualmente (BRASIL, 2006).

Conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), um percentual considerável da população utilizava, no ano 2000, água de poços ou nascentes para consumo próprio. Considerando ainda estas fontes como básicas para atividades agrícolas, se torna necessário avaliar a importância da qualidade da água utilizada, que incidirá no fato da mesma poder veicular vários agentes patogênicos.

Apesar da cloração dos poços ser utilizada como forma de minimizar esse risco, trata-se de uma prática que merece atenção, por se tratar da adição de um agente que pode ser tóxico devendo, dessa forma, ser realizada por pessoas capacitadas (Amaral et al, 2003). Assim como a dosagem elevada de cloração pode apresentar risco de toxicidade, a baixa concentração também pode oferecer risco de desenvolvimento de microrganismos patogênicos (NASCIMENTO et al, 2012,p.).

Diante desta realidade, uma alternativa promissora é o uso de extratos provenientes de espécies vegetais que possam apresentar atividade antimicrobiana, podendo assim diminuir ou eliminar possíveis agentes patogênicos, melhorando, portanto, os indicadores de qualidade da água, e abrindo novas possibilidades em pesquisas de medicamentos fitoterápicos.

Além disso, as deficiências no fornecimento, tratamento e armazenamento adequado de água tem possibilitado aumento do número de criadouros potenciais para mosquitos vetores de doenças. Dentre elas, a dengue que,

(...) constitui hoje a mais importante doença viral humana transmitida por mosquitos, cujo agente é um Flavivirus, com quatro sorotipos conhecidos (Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4) que podem causar a dengue clássica (DC) e a febre hemorrágica da dengue (FHD). Esta última pode evoluir para uma forma mais severa conhecida como síndrome do choque da dengue (SCD). A infecção por um sorotipo provê imunidade vitalícia para aquele vírus, mas a proteção cruzada para outro sorotipo é apenas passageira, o que torna possível ocorrer uma infecção seqüente por outro sorotipo (BARRETO et al., 2006, p. 38).

De acordo com os autores, a transmissão da dengue ao homem acontece através da picada da fêmea de *Aedes aegypti* infectada com um dos quatro sorotipos do vírus. Depois de 8 a 12 dias da contaminação ocorrem a incubação, a replicação e a disseminação do vírus por todo o corpo do mosquito. A fêmea pode passar por ciclos de reprodução durante o período de incubação e replicação do vírus.

Também segundo os mesmos, o *A. aegypti* apresenta hábitos antropofílicos e as fêmeas realizam a hematofagia em período diurno, com oviposição em criadouros artificiais, geralmente em pequenas coleções de água limpa e parada, localizadas nas proximidades das casas. Mas de acordo com estudos realizados o *A.aegypti* também se desenvolve em água poluída. Nesse caso a oviposição é realizada nas paredes dos recipientes, imediatamente acima da superfície da água. Ainda segundo os autores,

desenvolvimento do mosquito ocorre por metamorfose completa, passando pelas seguintes fases: ovo, quatro estágios larvais, pupa e adulto.

Segundo os dados , até 16 de fevereiro de 2013, foram notificados 204.650 casos no país. Deste total, 324 foram notificados como casos graves e 33 óbitos. Comparando esses resultados com igual período de 2012, o que se nota é uma aumento de 190% nos casos notificados (70.489 casos em 2012), e uma importante redução de 44% nos casos graves (577 casos em 2012) e de 20% nos óbitos.

As tabelas abaixo resumem a incidência e número de casos de dengue no Brasil entre Janeiro a Abril de 2013, segundo dados do Ministério da Saúde, sendo que o Sudeste aparece como região com maior número de casos da doença:

Região do Brasil	Incidência de dengue em 2013 (Jan-Abr)	Casos de dengue em 2013 (Jan-Abr)
Norte	242,2	39.594
Nordeste	90,7	48.872
Centro-oeste	1446,7	208.671
Sudeste	476,0	388.246
Sul	205,9	57.092

Portanto, este projeto possui como objetivo, a investigação científica em torno da utilização de extratos de espécimes vegetais da região do Moreno, com testes, visando a diminuição da taxa de microrganismos em água, bem como atividade larvicida sobre mosquito *Aedes aegypti*; abrindo possibilidades de pesquisas futuras nas áreas bioquímicas, botânica, microbiológicas e epidemiológicas, que poderão resultar em benefícios futuros para a sociedade.

A importância da realização da pesquisa e da escolha do tema, reside na necessidade da nossa sociedade em buscar novas alternativas tecnológicas, de baixo custo e principalmente sustentáveis, na resolução de questões cotidianas. Questões essas que abarcam saúde, saneamento básico, preservação do meio ambiente (mais especificamente dos recursos hídricos e da biodiversidade).

Conforme Melim (2011) o Brasil hospeda de 15 a 20% da biodiversidade mundial, sendo que de todas as espécies de organismos, dados estatísticos estimam que haja 55 mil espécies de plantas. O cerrado destaca-se entre os biomas com maior biodiversidade, mas por outro lado está entre os mais degradados. Há ainda a atração de grandes investimentos do setor farmacêutico e se torna alvo da biopirataria. Evidencia-se assim a necessidade de incentivo a pesquisa acadêmica por parte dos setores governamentais. Criando assim uma rede de exploração sustentável, otimizando e facilitando os processos de fiscalização. Então,

(...) uma alternativa bastante promissora é o uso de espécies vegetais, o que na verdade já vem sendo utilizado desde o início da civilização no processo de cura de inúmeras doenças (CALIXTO, 2000). A isso tudo, acrescenta-se os avanços da medicina que possibilita a comprovação da capacidade de cura de determinadas plantas(...) (NAKAMURA et al, 2006, p.61).

Portanto, comprovada a ampla utilidade das plantas: setor farmacêutico e medicinal é importante investigar seu emprego também em processos sanitários como, por exemplo, na descontaminação de águas naturais e/ou residuais. Atualmente o tratamento da água baseia-se no processo que vai desde a captação até a distribuição sendo que sua descontaminação é realizada na etapa de cloração.

Este sistema tradicional de descontaminação da água nem sempre atinge áreas de zonas rurais. A cloração, realizada por profissionais capacitados, é a solução mais utilizada para sanar o problema, porém recai em outros, a possibilidade de dosagem elevada ou baixa concentração. (AMARAL et al., 2003). Além de surgirem a partir daí risco para a saúde daqueles que utilizam, ainda há o efeito econômico já que poderá ter efeito na produção agropecuária (TOGASHI et al., 2008).

Da mesma forma, pesquisas relacionadas à procedimentos e mecanismos de prevenção quanto a transmissão do vírus da Dengue estão em andamento, segundo Barreto et al, 2006, até o momento, não há uma vacina pronta para uso contra os quatro sorotipos do vírus da dengue, a opção então, continua sendo o controle do *A. aegypti* por meio de inseticidas químicos sintéticos usados nas campanhas nacionais. Ainda de acordo com os autores, formas alternativas de controle de vetores vêm sendo avaliadas. Dentre elas vários estudos de substâncias extraídas de plantas têm recebido especial atenção. “Produtos naturais provenientes de plantas poderão representar alternativas às medidas de controle em razão de sua baixa toxicidade para os mamíferos e da ausência de impacto ambiental”(BARRETO et al, 2006, p.37). Assim, procurou-se, através da prospecção em plantas, substâncias potencialmente capazes de exercer controle sobre o *A. aegypti*, demonstrando efeitos tóxicos de extratos de plantas sobre as larvas.

A proposta desta pesquisa abrange não somente e de forma generalizada, a problemática dos recursos hídricos e da epidemiologia da dengue, mas aproxima a temática do discente, quando a abordagem é focada em uma realidade próxima, o manejo dos recursos hídricos no ambiente rural. Além de proporcionar através do ensino experimental, a interação entre aspectos etnobotânicos da região com o currículo tradicional. Resultando assim em novas perspectivas inclusive de pesquisas acadêmicas em torno da utilização de recursos da biodiversidade regional em aspectos sanitários, epidêmicos e em estudos sobre fitorremediação.

OBJETIVOS

Investigar através do método científico, a utilização de extratos de espécies vegetais da região rural do Moreno, que está inserida no bioma cerrado, com intuito de

diminuir a taxa de microrganismos em água bem como agir como atividade larvicida sobre mosquito *Aedes aegypti*. Possibilitando a visibilidade da biodiversidade vegetal da região em pesquisas acadêmicas futuras nas áreas bioquímicas, botânica, microbiológicas e epidemiológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras vegetais

Após a análise da entrevista etnobotânica, serão escolhidas as espécies a serem estudadas. Assim como as partes ou órgãos da mesma, que serão coletados. A coleta será feita com podão de jardinagem pelos próprios alunos acompanhados do docente, ou adulto responsável. Vegetais de porte herbáceos serão coletados por inteiro ou priorizando o maior número possível de órgãos vegetais, raiz até flores ou frutos (Marchiori, 1995). Devendo ser feita a limpeza da amostra, retirando-se um possível excesso de terra.

Na secagem do vegetal utilizaram-se jornais, que deveriam ser trocados regularmente e prensados entre pesos (tijolos ou livros) ou prensa de madeira artesanal e papelão, enrolada com barbante,

“Os espécimes vegetais coletados precisam perder a umidade natural para a sua conservação. Os ramos são acomodados em papel jornal, cuidando-se para que as folhas da planta disponham-se em um mesmo plano e, na medida do possível, sem dobramentos. Convém deixar algumas folhas com a lâmina inferior voltada para cima, a fim de facilitar a posterior análise das exsicatas.” (MARCHIORI, 1995, p.114).

As demais amostras serão encaminhadas por triagem para processamento de acordo com o processamento escolhido (infusão, solução alcoólica, secagem e moagem para preparação de pó, etc).

Preparação de extrato bruto e frações das amostras

Após seleção do vegetal (is) objetos de estudo, foi feita a preparação do extrato bruto e frações. Através de método de preparação caseira, de acordo com o vegetal escolhido, proposta pela metodologia de Foued, 2013.

A maceração é feita, colocando em contato com água potável, com agitações diárias, no mínimo sete dias consecutivos. Após maceração, coe e acrescente a quantidade suficiente do líquido de forma a obter um volume desejado. Para testes citotóxicos básicos com os alunos, poderão ser realizadas diluições (Foued, 2013).

O método de tintura é um extrato, onde é utilizado álcool, com agitação diária, por 8 a 15 dias. É utilizada a planta seca em determinado volume (e tipo) de álcool que será testado de acordo com o vegetal escolhido (Foued, 2013).

Infusão ou a decocção, que consistem na aplicação de alguma forma de calor (água fervente, vapor, cozimento), poderão ser usadas para preparação de extrato bruto em alguns casos, e posteriores diluições.

Ensaio simples de citotoxicidade e larvicida

O ensaio de citotoxicidade será realizado em duas etapas, englobando 2 organismos diferentes. No primeiro caso, para compreensão visual dos alunos, serão testadas amostras de água com presença confirmada de organismos protoctistas de grupos variados (*Entamoeba sp.*, *Giardia sp.*, *Paramecium sp.*, *Uroleptus sp.*, dentre outras) em amostras de água. Estes serão visualizados pelos alunos antes e após a aplicação do extrato, para reconhecimento e compreensão visual do processo citotóxico. A visualização será realizada através de microscópio óptico, obtido pela escola através de empréstimo.

Em um último caso, para compreensão visual macroscópica. Os extratos serão testados em amostras de água com espécimes em estágio larval de *Aedes aegypti*. Cultivados em equipamentos artesanais denominados mosquitérica. As larvas cultivadas e coletadas nos recipientes seriam transferidas para um béquer, de 500 mL. Foram feitas quatro réplicas de armazenamento das larvas para cada espécie vegetal testada, e uma réplica controle. Sendo que no primeiro recipiente foi adicionado o extrato bruto puro, nos recipientes seguintes foram adicionadas diluições equivalentes a 10-1, 10-2 e 10-3. A verificação da letalidade foi feita através da observação da mobilidade das larvas e sua reação a estímulos externos como luz (lanterna) e mecânicos (toque com bastão de vidro na parte externa do recipiente (Barreto et al, 2006).

RESULTADOS OBTIDOS/DISCUSSÃO

Os resultados são uma amostragem em relação testes de citotoxicidade positiva e comprovação de atividade antimicrobiana dos extratos vegetais produzidos. Com diminuição ou eliminação, de micro-organismos variados através da aplicação dos extratos vegetais produzidos. Possibilitando o surgimento de perspectivas em pesquisas acadêmicas com uma diversidade de vegetais do cerrado em novas aplicações ou tecnologia de descontaminação da água. Os testes relacionados à atividade larvicida para *Aedes aegypti* ainda se encontram em andamento.

CONCLUSÃO

O estudo suscita reflexões sobre natureza das ciências e suas relações com a tecnologia e os problemas da sociedade contemporânea, e coloca em evidência as possibilidades de estudo da biodiversidade local em diversas áreas da ciência, da microbiologia e epidemiologia até tecnologias relacionadas à solução de problemas sociais, como por exemplo, saneamento básico e saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBUQUERQUE, U. P. de; LUCENA, R. F. P. de (Org). Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica. Recife: LivroRápido/NUPEEA, 2004. 189 p.

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A, ROSSI JUNIOR, O.D.; FERREIRA, F.L.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco a saúde em propriedades rurais. In: Revista de Saúde Pública, Jaboticabal, v.37, n.4, p.510-514,2003.

BARRETO et. al. Estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *aedes aegypti* (díptera, culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *sapindus saponaria lin* (sapindaceae). In: Revista de Patologia Tropical. Vol. 35 (1): 37-57. jan.-abr. 2006. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/bitstream/ri/184/1/ESTUDO%20DAS%20ALTERACOES.pdf>. Acesso em 10 de setemb. 2014.

BRASIL. Secretaria de Educação Fundamental. Parâmetros curriculares nacionais: Matemática (3º e 4º ciclo do ensino Fundamental). Brasília: SEF/MEC. 1997-1998.

BRASIL. Resolução nº 54, de 15 de junho de 2000. Dispõe sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de água mineral natural e água natural. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jun. 2000, Seção 1.

BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Legislação para águas de consumo humano. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 de mar. 2004. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Dados da dengue no Brasil, 2013. Disponível em: http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=3159:dados-dengue-no-brasil-2013&Itemid=777. Acesso em 10 de setemb. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 212 p.

BUSTAMANTE, K.G.L.; LIMA, A.D.F.; SOARES, M.L.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F., BARA, M.T.F.; PIMENTA, F.C.; PAULA, J.R. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus Vogel*) – Fabaceae- In: Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.12, n.3, p.341-345, 2010.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. Journal of Ethnopharmacology, v. 100, p. 131-134, 2005.

CASALINI, Júlia; STEURER, Fabiane; RODRIGUES, Rosane da Silva; CHIM, Josiane Freitas; MACHADO, Mírian Ribeiro Galvão; GANDRA, Eliezer Ávila. Potencial Antimicrobiano de Extratos Vegetais de Alecrim e Orégano. 2011. Disponível em: www.ufpel.tche.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_01211.pdf. Acesso em 10/07/2013.

Estatísticas Dengue. Disponível em <http://www.criasaude.com.br/N3601/doencas/dengue/estatisticas-dengue.html>. Acesso em 10 de setembro. 2014.

FORTUNA, J. L.; RODRIGUES, M. T.; SOUZA, S. L.; SOUZA, L. Análise microbiológica da água dos bebedouros do Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF): coliformes totais e termotolerantes. Higiene Alimentar. 21(153): 102-105, 2007.

FRACALANZA, Hilário; AMARAL, Ivan Amorosino do; GOUVEIA, Mariley Simões Flória. O Ensino de Ciências no 1º grau. São Paulo: Atual, 1986.

FOUED, S.E.; MOURA, V.L.; GOUVEIA, N.M. Saúde para Todos: Informações sobre o uso de plantas medicinais. Rede Fitocerrado. 2013.

GALOTTI, R. L. Tratamento descentralizado de efluentes como alternativa a despoluição dos recursos hídricos a região metropolitana de Aracaju/SE. Dissertação de mestrado. Desenvolvimento e Meio Ambiente, UFSE. Disponível em: 200.17.141.110/pos/prodema/files/dis08/RodrigoGallotti.pdf .Acesso em: 12/07/2013.

MARCHIORI, J.N.C. Elementos de dendrologia. Santa Maria: Ed. UFSM. 1995. 163 p.

MELIM, Carla . Avaliação do potencial antimicrobiano de quatro espécies de plantas medicinais da flora brasileira. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas UNIVALI. Disponível em: www.univali.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=1132 Acesso em: 30/07/2013.

MIERZWA José Carlos, SILVA Maurício Costa Cabral da, RODRIGUES Luana Di Beo, HESPANHOL Ivanildo.Tratamento de água para abastecimento público por Ultrafiltração: avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com carvão ativado. Eng. sanit. ambient. Vol.13 - Nº 1 - jan/mar 2008, 78-87.

NASCIMENTO, Karla Alvarenga; FERREIRA, Marcos Roberto Alves; BORGES, Guilherme Assis; MOREIRA, Cecília Nunes.Análise e orientações sobre a qualidade microbiológica da água não tratadautilizada para o consumo humano em propriedades na zona rural e periurbanae em escolas rurais de Jataí e entorno. Disponível em: http://serex2012.proec.ufg.br/uploads/399/original_KARLA_ALVARENGA_NASCIMENTO.pdf . Acesso em: 02/08/2013

NAKAMURA, C. V. et al. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de Piper regnellii (Miq.) c. DC. var pallescens (C. DC.) Yunck. Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 61-66, jan/mar 2006.

SALGADO C.L; GUIDO. L.E., O Conhecimento Popular sobre Plantas: um Estudo Etnobotânico em Quintais do distrito de Martinésia, Uberlândia – MG. 2006. Site: www.anppas.org.br Acesso em: 01/08/2013.

SILVA et al.Atividade larvicida de taninos isolados de Magonia pubescens St. Hil. (Sapindaceae) sobreAedes aegypti (Diptera, Culicidae).Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.37 no.5 Uberaba Sept./Oct. 2004. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822004000500005&script=sci_arttext. Acesso em Acesso em 10 de setemb. 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536p.

SOARES, B.J. & MAIA, F.C.A. Água: microbiologia e tratamento. Fortaleza: Edições UFC, 1999.

SOUZA, R.S., et al. Adsorção de óleo diesel em sistema de leito diferencial com biomassa bagaço de cana-de-açúcar. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.6.2 (2011) 123-126 ISSN 1809-8797. 2011 Acesso: 20/07/2013

TOGASHI, K.C. et al. Efeitos do tipo de bebedouro sobre a qualidade da água e o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. R. Bras. Zootec., v.37, n.8, p.1450-1455, 2008.

TORRES, R.M. Remoção biológica de nitrato em água de abastecimento humano utilizando o endocarpo de coco como fonte de carbono. Dissertação de mestrado. Engenharia Sanitária/UFRN. Disponível em: bdtd.bczm.ufrn.br/tde_arquivos/.../RafaelMT DISSERT_PARCIAL.pdf acesso em: 18/07/2013

ZANON et.al. Atividade larvicida do extrato etanólico bruto da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Culex quinquefasciatus* Say(Diptera, Culicidae). Acta Biol. Par., Curitiba, 35 (3-4): 185-195. 2006.Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs/index.php/acta/article/viewFile/7510/5372>. Acesso em 10 de setemb. 2014.