

Universidade Federal do Piauí – UFPI  
Pós Graduação em Ciência Animal

Adriane Camila Batista de Sousa

**Ação do Líquido da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale* L.) sobre as diferentes fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis***

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivete Lopes de Mendonça  
Coorientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Fernando Aécio de Amorim Carvalho

TERESINA/PI 2016

Adriane Camila Batista de Sousa

**Ação do Líquido da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale* L.) sobre as diferentes fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal (PPGCA), da Universidade Federal do Piauí (UFPI), como exigência para a obtenção do grau Mestre, na área de Concentração Sanidade e Reprodução Animal, linha de pesquisa Diagnóstico, Epidemiologia, Controle e Terapia de Doenças Animais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivete Lopes de Mendonça  
Coorientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Fernando Aécio de Amorim Carvalho

TERESINA/PI 2016

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Universidade Federal do Piauí – UFPI**  
**Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias**  
**Serviço de Processamento Técnico**

S725a Sousa, Adriane Camila Batista de  
Ação do Líquido da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale L.*) sobre as diferentes fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis*. / Adriane Camila Batista de Sousa - 2016.  
50 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.  
Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivete Lopes de Mendonça.

1. Leishmaniose visceral. 2. Extratos vegetais. 3. Controle vetorial. I. Título

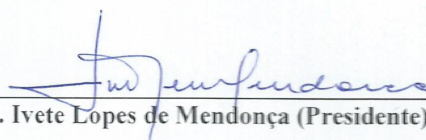
CDD 616.9364

**LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU (*ANACARDIUM OCIDENTALLE* L.) E  
SEU EFEITO SOBRE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE  
*LUTZOMYIA LONGIPALPIS***

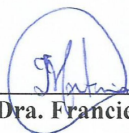
**ADRIANE CAMILA BATISTA DE SOUSA**

**Dissertação aprovada em: 29/08/2016**

**Banca Examinadora:**



**Profa. Dra. Ivete Lopes de Mendonça (Presidente) / DCCV/CCA/UFPI**



**Profa. Dra. Francielle Aline Martins (Externa) / UESPI**



**Profa. Dra. Silvéria Regina de Sousa Lira (Externa) / AESPI**

À todos que contribuíram para o fim dessa etapa, Dedico

## AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos à DEUS, pelo dom da vida e por me dá forças nos momentos que tive vontade de desistir.

Aos meus pais, Adriana Maria Azevedo Batista e Francisco José Rodrigues de Sousa, fica a minha eterna gratidão, por toda abdicção afim de oferecer um estudo melhor aos seus filhos, nada que eu possa fazer irá retribuir o que vocês me proporcionaram, meu infinito agradecimento.

Ao meu irmão Francisco Júnior, que amo incondicionalmente e por quem sempre procuro fazer o melhor.

Aos meus avós, Raimunda Azevedo e Francisco Pereira por toda contribuição em minha vida, sendo meus segundos pais, aos meus primos Francisco Clenio e Carlos Victor e a minha tia Patrícia Maria por toda a ajuda e palavras de incentivo, fica meu agradecimento especial, pois, a seu modo, sempre se orgulharam de mim.

A minha prima Érika Grazielle e seu namorado Cleandro por toda a ajuda quando necessária, e a minha sobrinha amada Ana Vitória, por quem também sempre procuro fazer o melhor e tenho um amor imensurável.

A toda minha família, tias, tios, primos, minha vó Socorro (in memoriam) que moram no Rio de Janeiro, pelo acolhimento e por toda a ajuda oferecida durante o tempo que passei na cidade.

Aos meus grandes amigos Anangela Ravena e Kitawan Tayrone, que me acompanham desde a graduação tornando esta longa jornada mais agradável com a amizade, carinho e por todas as palavras de incentivo. Obrigada pela amizade!

A Simone Mousinho Freire, por sua ajuda desde a graduação, quando foi minha professora, e me mostrou qual o melhor caminho a seguir e hoje ultrapassamos essa relação de professor – aluno para amigas de profissão. Saibas que tenho um carinho enorme por você e a tenho como exemplo em minha vida.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, em especial: Emanuela Ribeiro, Susan Emanuely, Fabrício Barbosa e Gleysson Vieira por terem me proporcionado momentos ímpares, principalmente nas aulas. Obrigada pela amizade sincera.

Aos meus amigos do Laboratório de Sanidade Animal (LASAN): Thiago Saraiva por sempre resolver meus problemas, pelas conversas e conselhos, a Joice Corina por todo o ensinamento na criação e manutenção dos insetos e por sempre está disponível para me ajudar, a Fernanda Rocha pela amizade e ajuda na fase final da dissertação, a Marcielly Batista, Arnon Reis, Tyssia, Iuliana e Juliane pelas conversas e brincadeiras na convivência diária dentro e fora do laboratório tornando os dias mais agradáveis.

Cada um de vocês estão ocupando um lugar especial em meu coração. Sou grata por ter conhecido todos.

Ao médico veterinário Joilson Batista por sempre está disponível para me ajudar e tirar minhas dúvidas não importando a situação.

A professora Dr<sup>a</sup> Francielle Alline Martins, por toda a ajuda realizada no trabalho. Não tenho palavras para agradecer!!!

A médica veterinária Dra. Silvéria Regina de Sousa Lira pelo compartilhamento do seu conhecimento contribuindo de forma significativa para a dissertação e para minha vida profissional.

Ao professor Dr. Fernando Aécio, ao qual, não tenho palavras para agradecer por toda a ajuda concedida a mim, não só no final do Mestrado, mas durante todo o curso, sempre disposto e com paciência. Saiba que eu tenho um carinho enorme pelo senhor e o tenho como um exemplo de profissional e pessoa. Obrigada por tudo!!!

A minha orientadora professora Dr<sup>a</sup> Ivete Lopes de Mendonça pelo aceite da orientação e por todo conhecimento científico ensinado, para que pudesse realizar a minha dissertação proporcionando ensinamentos que serviram e servirão como lição de vida. Obrigada Professora.

A Universidade Federal do Piauí pelo oferecimento do Mestrado e pelas instalações laboratoriais para execução dos experimentos.

A Capes pelo financiamento da minha pós-graduação, com a qual pude realizar viagens para adquirir mais conhecimentos e tive a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas, como Marcos, Sheila e Thiago, as quais estimo um carinho enorme, bem como pesquisadores importantes da área de estudo.

Obrigada a todos !!!

*“Não haverá borboletas se a vida não passar  
por longas e silenciosas metamorfoses”*

Rubem Alves.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Dimorfismo sexual da espécie <i>Lutzomyia longipalpis</i> .....	17
Figura 2 – Fases de desenvolvimento do <i>Lutzomyia longipalpis</i> .....	18
Figura 3 – Principais reservatórios silvestres da Leishmaniose Visceral Humana.....	20
Figura 4 – Principal reservatório da Leishmaniose Visceral Humana encontrado no ambiente urbano .....	21
Figura 5 – Partes constituintes do <i>Anacardium occidentale</i> L. ....	27
Figura 6 – Líquido da Castanha do Caju - <i>Anacardium occidentale</i> L. ....	27

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 – Composição do Líquido da Castanha de Caju (LCC) natural e técnico .....	28
------------------------------------------------------------------------------------	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
2.1 Leishmanioses .....	15
2.2 Vetor .....	16
2.3 Controle da Leishmaniose Visceral Americana.....	19
2.3.1 Controle do Reservatório de LVA.....	20
2.3.2 Controle Vetorial .....	22
2.3.3 Resistências a Inseticidas Químicos .....	23
2.4 Utilização de Extratos Vegetais.....	24
2.4.1 Anacardium occidentale L.....	26
<b>3 CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>AÇÃO DO LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU (ANACARDIUM OCCIDENTALE L.) SOBRE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO LUTZOMYIA LONGIPALPIS. ....</b>	<b>1</b>
<b>REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>31</b>
<b>ANEXO A - Parecer da comissão de ética e experimentação animal.....</b>	<b>39</b>

## RESUMO

SOUSA, A. C. B. **Ação do Líquido da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale* L.) sobre diferentes fases de desenvolvimento de *Lutzomyia longipalpis***. 2016. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

Objetivou-se avaliar a ação do Líquido da Castanha do Caju (LCC) frente as diferentes fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis*. Inicialmente, as castanhas de caju foram coletadas no setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, em seguida, encaminhadas ao Laboratório de Geoquímica para que a extração do LCC em hexano fosse realizada. As concentrações testadas foram preparadas a partir de uma solução estoque (LCC + DMSO / Proporção 1:1) e consistiram em: 50 mg/mL (25% DMSO), 75 mg/mL (18, 75% DMSO) e 100 mg/mL (12, 5% DMSO) e o controle (água destilada + DMSO/ Proporção 1:1). Assim, 1,5 mL de cada concentração foi individualmente espalhada, com o auxílio de um swab estéril, na região ventral de hamsters, previamente anestesiados a partir da associação Ketamina (80 mg/mL) e Xilazina (5 mg/mL). Em seguida, o mesmo, era disposto em gaiolas com formato de cubo e dimensões de 20 cm contendo 20 fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*, de acordo com o tratamento estabelecido, para a realização do repasto sanguíneo, perfazendo 60 min. Decorrido esse tempo, as fêmeas foram acondicionadas em potes para a realização da ovipostura e para o acompanhamento das fases de desenvolvimento. Os potes foram observados até 50 dias após a realização do repasto sanguíneo. Os parâmetros avaliados foram: Índice de repasto alimentar, Índice de postura, Índice de eclosão das larvas, Índice de larvas no instar IV e Índice de insetos adultos. Para o processamento das amostras foi utilizado o Bioestat, versão 5.3 (Ayres et al. 2007) e o teste de Kruskal – Wallis admitindo-se  $p < 0, 05\%$ .

## ABSTRACT

SOUSA, A. C. B. **Net Action cashew (*Anacardium occidentale* L.) on different *Lutzomyia* development phases *longipalpis***. 2016. 53f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

The objective of this study was to evaluate the action of Cashew Nut Liquid (LCC) against the different stages of development of *Lutzomyia longipalpis*. Initially, the cashew nuts were collected in the Agricultural Sciences sector of the Federal University of Piauí, then sent to the Geochemistry Laboratory for the extraction of LCC in hexane. The concentrations tested were prepared from a stock solution (LCC + DMSO / 1: 1 ratio) and consisted of: 50 mg / mL (25% DMSO), 75 mg / mL (18, 75% DMSO), and 100 mg / ML (12.5% DMSO) and the control (distilled water + DMSO / 1: 1 ratio). Thus, 1.5 mL of each concentration was individually scattered with the aid of a sterile swab in the ventral region of hamsters, previously anesthetized from Ketamine (80 mg / mL) and Xylazine (5 mg / mL). Then, it was placed in 20 cm cube-shaped cages containing 20

females of *Lutzomyia longipalpis*, according to established treatment, to perform the blood repellent, for 60 min. After this time, the females were conditioned in pots to perform the oviposture and to follow the stages of development. The pots were observed up to 50 days after the blood repast. The parameters evaluated were: feeding index, posture index, larval hatching index, instar IV larvae index and adult insect index. For the processing of the samples, the Bioestat, version 5.3 (Ayres et al., 2007) and the Kruskal - Wallis test were used, assuming  $p < 0.05\%$ .

## 1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um grupo de doenças reemergente, grave e, apesar dos esforços realizados pelos sistemas de saúde ainda não foi possível obter um controle efetivo da mesma (QUEIROZ et al., 2012). Podem apresentar-se de duas formas: a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e a Leishmaniose Visceral Americana (LVA) (QUINELL e COURTENAY, 2012).

A LVA, acomete as vísceras, podendo ser fatal quando não tratada, ocorre com maior frequência em seis países: Bangladesh, Etiópia, Índia, Nepal, Sudão e Brasil, sendo este, responsável por 90% dos casos notificados, estimando-se 500 mil novos casos anualmente (WHO, 2016). De acordo com o SINAN (2016), na região Nordeste nos últimos 10 anos, 17.627 casos foram notificados. Na cidade de Teresina foram notificados 124 casos em humanos entre os anos de 2013 e 2015, e 237 casos caninos até junho de 2016 (GEZOON, 2016).

A capital Piauiense, Teresina, é o local onde ocorreu a primeira grande epidemia urbana de LV registrada no país durante o período de 1980 a 1986 com registros posteriores nas cidades de Natal e São Luís sendo, desta forma, disseminada para outras regiões do Brasil (WERNECK, 2010).

O agente etiológico da LV é um protozoário tripanossomatídeo da Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, Gênero *Leishmania* e ainda pertencentes aos Subgêneros *Leishmania* e *Viannia*. É um parasito intracelular obrigatório do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM), apresenta forma flagelada ou promastigota encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e a forma com flagelo interno ou amastigota encontrada nos tecidos dos vertebrados (REY, 2011).

No Brasil, a LVA é causada pela *Leishmania infantum chagasi*, que infecta o hospedeiro vertebrado através da picada das fêmeas de insetos dípteros pertencentes à família Psychodidae, a qual tem como principal vetor o *Lutzomyia longipalpis* (MONTEIRO et al., 2005), e o *Lutzomyia cruzi*, incriminado recentemente como vetor no Estado do Mato Grosso do Sul (MISSAWA et al., 2011).

Os principais reservatórios da LVA consistem em: raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris*) encontrados no ambiente silvestre, o cão (*Canis familiares*) e o homem (*Homo sapiens*) no ambiente urbano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A eutanásia do reservatório canino é recomendada quando o mesmo é confirmado parasitologicamente e sorologicamente positivo com a infecção, pois de acordo com a Portaria Interministerial nº 1426/2008 é proibida qualquer forma de tratamento para este animal. No entanto, evidências científicas vêm demonstrando que a eutanásia canina não diminui a prevalência local de leishmaniose (MACHADO; SILVA; VILANI, 2016). Conforme é preconizado pelo Ministério da Saúde, as estratégias de controle voltadas para as Leishmanioses consistem em: diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, eliminação do reservatório canino através da eutanásia, e redução da população de flebotomíneos a partir do uso de inseticidas como a cipermetrina e a deltametrina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

O controle vetorial, cujo objetivo é reduzir ou evitar o contato entre o inseto vetor e a população humana, também não vem apresentando resultados satisfatórios, uma vez que, esses vetores têm adquirido resistência aos piretróides sintéticos utilizados, como: “Deltametrina” e “Cipermetrina”, recomendados para o controle dos flebotomíneos pelo Ministério da Saúde (DINESH et al., 2010).

Diante desse quadro de resistência, pesquisadores focaram seus estudos em ações que os metabólitos secundários das plantas medicinais produzem como uma alternativa ao controle vetorial. Os extratos botânicos são misturas complexas, em que seu fracionamento pode tanto reduzir como aumentar seu efeito, e a ação inseticida ocasionada pelo mesmo, pode ser observada pela avaliação da repelência, inibição da ovipostura, inibição do crescimento, inibição da alimentação, alterações do sistema hormonal, no comportamento sexual e mortalidade na fase adulta ou imatura (GALLO et al., 2002; BARRETO JUNIOR et al., 2005)

Dentre as espécies já estudadas que possam ter ação sobre os flebotomíneos, encontra-se o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), do qual já foram relatados diversos tipos de ações, como: antimicrobiana (PEREIRA et al., 2010; CHABI et al., 2014), antioxidante (DOSS e THANGAVEL, 2011), inseticida (PORTO et al., 2013) antidiabética (UKWENYA et al., 2012), e larvicida (LOMONACO et al., 2009; GUISSONI et al., 2013).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a ação do Líquido da Castanha do Caju (LCC) sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *Lutzomyia longipalpis*.

Esta dissertação apresenta a seguinte estrutura formal: Uma Introdução,

Revisão de Literatura e um Capítulo I contendo o artigo intitulado “Ação do Líquido da Castanha de Caju (*Anacardium occidentale* L.) sobre as diferentes fases de desenvolvimento de *Lutzomyia longipalpis*”, a ser encaminhado para publicação na Revista Ciência Animal Brasileira. O artigo foi estruturado de acordo com as normas técnicas da mesma.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Leishmanioses

Doenças negligenciadas são um grupo de infecções causadas em sua maioria, por protozoários e veiculadas por vetores, cujo o tratamento é precário ou desatualizado (OLIVEIRA; MORAES; MACHADO, 2009).

As leishmanioses estão classificadas no grupo das doenças negligenciadas, sendo disseminadas em 88 países com mais de 350 milhões de pessoas em situação de risco potencial no mundo. São de difícil tratamento e controle, incluindo-as desta forma, entre as seis endemias prioritárias da Organização Mundial de Saúde (DESJEUX, 2004; ARAÚJO, 2011; QUEIROZ et al., 2012).

Conforme a manifestação clínica, podem ser classificadas em: Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), caracterizada por um padrão clínico diferenciado em: cutânea, mucosa e nodular, e em Leishmaniose Visceral Americana (LVA), na qual, o parasito afeta os órgãos do Sistema Fagocítico Mononuclear, ocasionando em um quadro de hiperplasia e hipertrofia dos mesmos, podendo ser fatal quando não tratada assim que diagnosticada (REY, 2011).

Essas protozoonoses têm como agentes etiológicos protozoários flagelados heteroxenos pertencentes a ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*. Sua morfologia é diferenciada em forma flagelada encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e forma com flagelo interno encontrada nos tecidos do hospedeiro vertebrado (NEVES, 2004).

As espécies de protozoários causadoras da LVA, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi* eram tratadas como distintas, porém, a partir de estudos moleculares e bioquímicos realizados, foi concluído que se trata de espécies semelhantes (GONTIJO e MELO, 2004), afirmando que, a *L. infantum* chegou à América do Sul, através de cães infectados vindos do Continente Europeu, durante os



eventos de colonização ocorridos no século XVI (MAURICIO; STOTHARD; MILES, 2000).

A capital Teresina consistiu no local em que ocorreu a primeira grande epidemia urbana registrada no país, no período de 1980 a 1986 (COSTA; PEREIRA; ARAÚJO, 1990). Depois desse evento, foi possível observar a expansão da LV, pois os casos concentrados principalmente na região Nordeste do Brasil passaram a ser notificados com frequência em outras regiões (WERNECK, 2010).

Diante disso, Queiroz et al. (2012) apresentam a informação de que no Brasil esta enfermidade, já se encontrava distribuída nas cinco regiões do País, e ainda não existem estratégias de controle eficiente voltadas para o vetor da doença.

## 2.2 Vetor

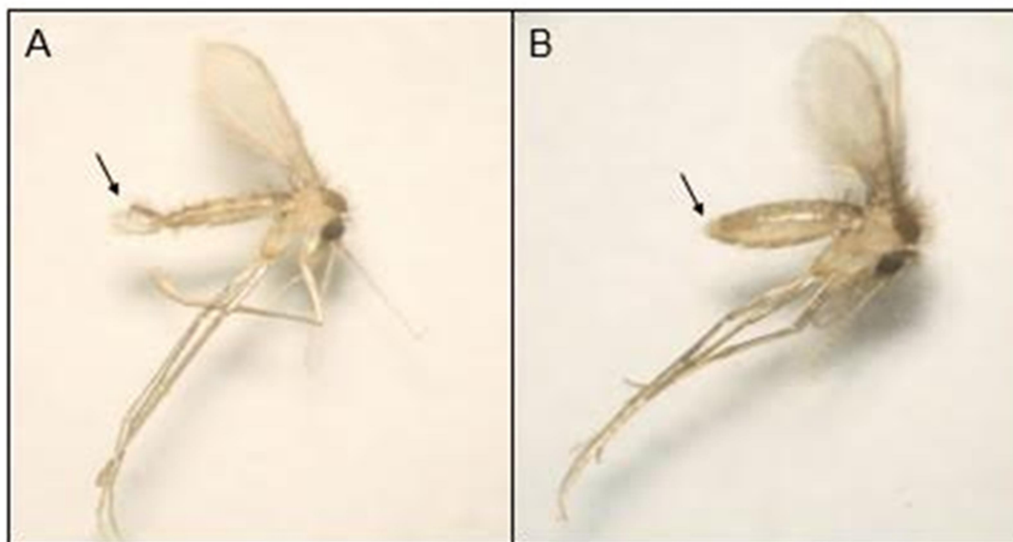
Os flebotomíneos pertencem taxonomicamente à ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, e tem os gêneros, *Phlebotomus* responsável pela transmissão da Leishmaniose Visceral no Velho Mundo e o gênero *Lutzomyia* com a espécie *Lutzomyia longipalpis*, responsável pela transmissão da mesma no Novo Mundo (SHIMABUKURO e GALATI, 2011). Estes dípteros, têm grande importância médica, visto que, são vetores de outras doenças além da LVA, como a Leishmaniose Tegumentar Americana e Bartonelose, além de transmitirem outros tripanossomatídeos e arboviroses (RASSI-JUNIOR; RASSI; REZENDE, 2012).

Caracterizam-se morfológicamente por apresentarem: dimorfismo sexual (Figura 1), de dois a três milímetros de comprimento, apresentarem cor palha ou castanho claro, corpo piloso e delgado. São conhecidos no Brasil, por diversos nomes populares como: “mosquito - palha” (devido a sua coloração amarelada ser semelhante à palha vegetal); “asa - dura” (por suas asas grandes em formato lanceolado que permanecem eretas durante o pouso); “tatuquira” (atribuído ao frequente encontro destes insetos em buracos de tatu) e “pula-pula” (devido ao voo do tipo saltitante), entre outros (DIAS et al., 2007).

As espécies de flebotomíneos foram descritas pela primeira vez nas Américas, em 1907 (BARRETTO, 1943; FORATTINI et al., 1973). Atualmente, a fonte de consulta para a identificação do inseto é baseada em 88 caracteres morfológicos, tendo como

foco as cerdas ao longo do corpo, pois as mesmas consistem em uma característica peculiar da espécie (GALATI, 1997).

**Figura 1 – Dimorfismo sexual da espécie *Lutzomyia longipalpis***



*Lutzomyia longipalpis*. A – Macho B – Fêmea. Setas indicam a diferença sexual dos insetos.

Fonte: Sousa, 2016

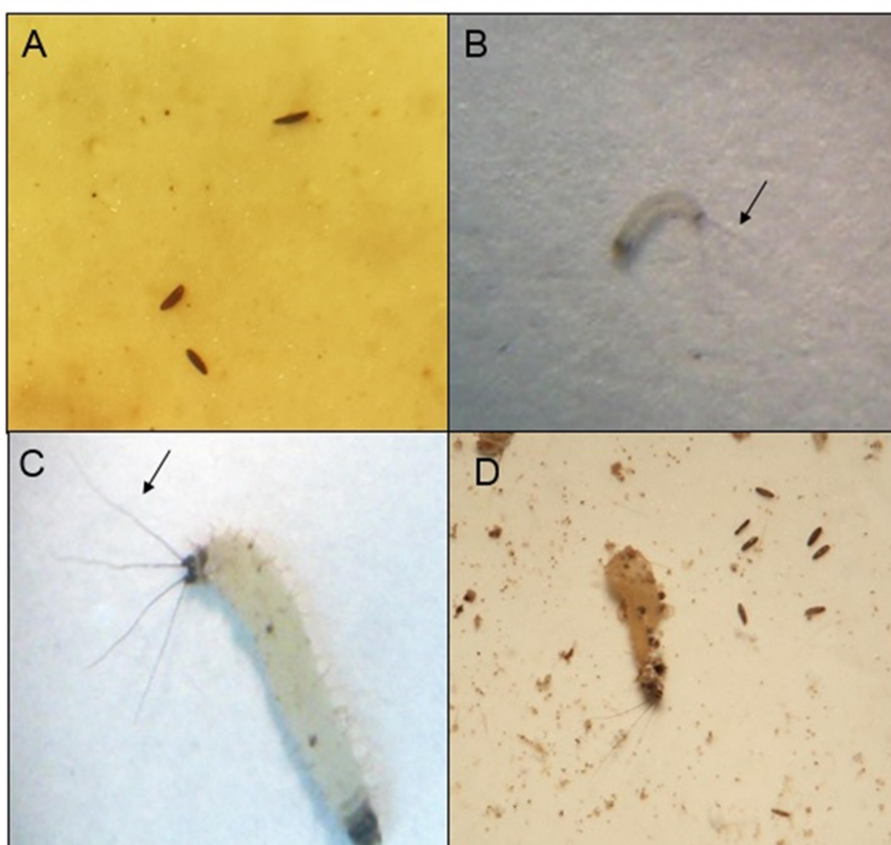
Sabe-se que a espécie *L. longipalpis* é incriminada como vetor da LV nas Américas (Galati, 1997), no entanto, *Lutzomyia cruzi* vem sendo apontada como principal espécie responsável pela transmissão da LV no Estado de Mato Grosso do Sul, já que evidências ecológicas e epidemiológicas registradas nessa área, como: infecção natural do *L. cruzi*, ausência da fêmea de *L. longipalpis* e, confirmações de casos humanos e caninos foram comprovadas (MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; MISSAWA et al., 2011). O ciclo de desenvolvimento desses insetos é completo, sendo portanto, holometábolo, ou seja, passam pelo estágio de ovo, quatro estágios larvais, pupa e adultos. No momento da ovopostura, as fêmeas podem pôr de dois a 80 ovos, os quais, durante essa fase apresentam uma coloração esbranquiçada, adquirindo a coloração acastanhada já no final desta fase, a qual compreende de seis a nove dias (MORALES; BELLO; CARDENAS, 2005) (Figura 2).

As larvas medem menos que 12 mm, apresentam cor clara, aspecto vermiforme, com uma cápsula cefálica escura e esclerotizada. As larvas de primeiro instar caracterizam-se pela presença de um único par de cerdas caudais (Figura 2B), já as

larvas de segundo a quarto instar apresentam-se com dois pares de cerdas caudais (Figura 2C) e, durante este período, utilizam-se de matéria orgânica em decomposição para a sua alimentação. A fase de segundo a quarto instar compreende um período de 15 a 20 dias de duração (YOUNG e DUNCAN, 1994; KILLICK-KENDRICK, 1999).

As pupas (Figura 2D) consistem na última fase de desenvolvimento, totalizando de 10 a 20 dias para sua formação. Caracterizam-se por serem imóveis e se fixarem à um substrato presente no ambiente em que se encontram, a sua coloração varia de esbranquiçada a amarelada e apresentam apenas movimentos de extensão e flexão (FORATTINI, 1973; YOUNG e DUNCAN, 1994). Desta forma, o ciclo de desenvolvimento do vetor, ou seja, o tempo de desenvolvimento que compreende desde o ovo até a fase adulta, pode variar (RANGEL et al., 1986).

**Figura 2 – Fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis***



Fases de desenvolvimento: A – Ovo; B – Larva no instar I com 1 par de cerdas; C – larva no instar IV com 2 pares de cerdas; D – Pupa. A seta mostra as cerdas que caracteriza as fases de desenvolvimento do vetor.

Fonte: Sousa, 2016

O que difere os flebotomíneos de outros insetos dípteros é o local de desenvolvimento das suas formas imaturas. Os flebótomos, caracterizam-se por terem suas fases de desenvolvimento ocorrendo em ambiente terrestre, rico em matéria orgânica, enquanto que, os outros dípteros têm suas formas imaturas desenvolvidas na água (DIAS; GUEDES; SHERLOCK, 2003).

Tanto as fêmeas quanto os machos necessitam de carboidratos para produzirem energia e manter a homeostasia do corpo (AZEVEDO et al., 2011), no entanto, as fêmeas necessitam realizar uma alimentação sanguínea, pois esta, é de fundamental importância para a maturação de seus ovos (MONTEIRO, 2012). Com relação a fonte sanguínea, pesquisadores já identificaram diferentes fontes alimentares, a saber: roedores, gambás, bois, cavalos e principalmente as aves (MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; TANURE et al., 2015).

Poucos são os registros que a literatura reporta quanto aos criadouros naturais dos flebotomíneos, (ALEXANDER e MAROLI, 2003). Os estudos que objetivam focar nas formas imaturas do vetor, são realizados através da formação de colônias em ambiente laboratorial, obtidas a partir de insetos capturados em armadilhas do tipo "Center Disease Control" (CDC) e utilizando hamsters (*Mesocricetus auratus*) como dieta sanguínea para que a fêmea possa realizar a maturação dos ovos e ocorrer a ovopostura (BRAZIL et al., 1997).

Para Bastos (2012), o conhecimento acerca destas formas imaturas é de fundamental importância para o desenvolvimento de medidas de controle focadas nas formas imaturas do vetor.

### **2.3 Controle da Leishmaniose Visceral Americana**

O controle da LVA busca interromper a cadeia de transmissão da doença dentro de uma população. Desta forma, um maior conhecimento sobre o papel específico de cada componente desta cadeia, como: agente etiológico, vetores e reservatórios, é de fundamental importância para que se tenha um controle efetivo da doença (HERMONT, 2008). Todavia, há cada vez mais evidências da importância, em especial, do controle vetorial a fim de reduzir os riscos de transmissão da LVA (PESSOA et al., 2015).

Segundo recomendação da Organização Mundial de Saúde as medidas de controle da LV são voltadas para: atividades de educação em saúde, diagnóstico

precoce dos casos humanos e seu tratamento, a eutanásia dos reservatórios caninos e o controle de vetores a partir da aplicação de inseticidas com ação residual. Como prevenção, o que se recomenda é o uso de medidas de proteção pessoal, saneamento ambiental, uso de telas em canis individuais e coletivos e utilização de coleiras impregnadas com o inseticida “Deltametrina” a 4% em cães (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

### 2.3.1 Controle do Reservatório de LVA

Os principais reservatórios da LVA encontrados no ambiente silvestre são as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) (Figura 3) e no ambiente domiciliar o cão (*Canis familiares*) (Figura 4), este, é apontado como principal reservatório da doença, por isso, quando confirmado positivamente para LVC, deve ocorrer a eutanásia conforme preconize o Ministério da Saúde.

A eutanásia de cães soropositivos é preconizada, no Brasil, desde 1963, conforme o Decreto nº 51.838/1963. No entanto, evidências científicas vêm demonstrando que essa estratégia no controle não está diminuindo a prevalência local dos casos de leishmaniose (MACHADO; SILVA; VILANI, 2016). Sua eficácia tem sido frequentemente questionada, devido às poucas pesquisas sobre a real efetividade deste tipo de controle e ao apelo sentimental atribuído ao cão, uma vez que, o mesmo deixou de exercer o papel de guarda e passou a ser um ente querido da família (COSTA, 2011).

**Figura 3 – Principais reservatórios silvestres da Leishmaniose Visceral Humana**



Reservatórios silvestre. A – Raposa (*Dusicyon vetulus*); B – Marsupial (*Didelphis albiventris*).  
Fonte: Google imagens.

Ao analisar uma região de Belo Horizonte, ARAÚJO (2011), confirmou que há uma relação entre cães positivos e o risco de acometimento por LVA, contrapondo pesquisas de Saraiva et al (2012), que ao estudarem a mesma região identificaram baixa correlação entre ambas infecções (LVC e LVA), concluindo que, a enfermidade não pode ser atribuída apenas pela presença de cães parasitados na área, abrindo assim, mais questionamentos acerca da real efetividade do papel do cão na transmissão e manutenção da doença.

**Figura 4 – Principal reservatório da Leishmaniose Visceral Humana encontrado no ambiente urbano**



Reservatório doméstico. *Canis familiares*.  
Fonte: Google imagens.

Existem medidas de prevenção voltadas para o cão que objetivam diminuir ou evitar que o mesmo seja infectado com a Leishmania, como o uso de coleiras a base de deltametrina 4% que atua como repelente frente aos vetores, ou seja, impede ou dificulta o contato do vetor com o reservatório. No entanto, há estudos que discordam da efetividade destas, uma vez que reportam a curta duração do efeito residual do composto presente na coleira, persistindo por apenas 4 meses sendo, obrigatória a reposição do mesmo em curto período de tempo, ocasionando em um custo elevado pelo proprietário (LIMA, 2015).

É importante ressaltar que, trabalhos recentes vêm apontando os gatos (*Felis*

catu) como possíveis potenciais reservatórios para a LVA dentro do ambiente urbano (SILVA et al., 2008; VIDES et al., 2011; PIRAJÁ et al., 2013). Diante disso, mais pesquisas de atuais e possíveis potenciais reservatórios da LVA são necessárias, objetivando desenvolver alternativas no controle da Leishmaniose.

### 2.3.2 Controle Vetorial

O controle de flebotomíneos iniciou no Brasil de forma inconsciente, quando se utilizou o inseticida Dicloro-Difenil-Tricloro-Etano (DDT) no combate ao vetor da malária, e apenas em 1954, foi introduzido para o controle dos flebotomíneos. O tratamento foi realizado, primeiramente no Estado do Rio de Janeiro, seguido do Ceará e Minas Gerais (DANTAS e BRANDÃO-FILHO, 2006).

O DDT é um composto químico que faz parte do grupo dos organoclorados. Foi sintetizado pela primeira vez em 1874, no entanto, suas propriedades inseticidas foram descobertas apenas em 1939 pelo suíço Paul Muller, o qual, constatou que a formulação em pó do produto não é absorvida pela pele, entretanto, quando diluído se torna tóxico, podendo acumular-se nas glândulas adrenais, nos testículos e na tireóide (CARSON, 1995). No início de sua utilização observou-se ausência de *L. longipalpis* em lugares por até cinco anos, em outros, por apenas oito meses. Todavia, devido a razões de impacto ambiental, uso descontrolado e aparecimento da resistência e tolerância em algumas espécies de flebotomíneos, o mesmo, teve sua utilização proibida na maioria dos países pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2016).

Desta forma, os piretróides, outro grupo de inseticidas passaram a ser utilizados, caracterizados por causarem um menor impacto ambiental apresentando assim, uma baixa toxicidade a mamíferos e alta atividade inseticida, podendo ser eficazes, mesmo em baixas concentrações (ALEXANDER e MAROLI, 2003; BRASIL, 2006; KISHORE et al., 2006).

Entende-se que o método mais eficiente para o controle das doenças causadas por vetores consiste na redução do contato homem-vetor, atividade esta que, depende das características de cada localidade (SHARMA e SINGH, 2008; SALOMÓN et al., 2015), ocasionando desta forma, em um grande desafio para os gestores do Brasil, uma vez que, é um país caracterizado por uma diversidade climática e de biomas (IBGE, 2016).

As ações implementadas que objetivam a erradicação de vetores, ocorre através do controle químico juntamente com estudos epidemiológicos e entomológicos em cada localidade, e os inseticidas recomendados pelo Ministério da Saúde são a “cipermetrina” em sua formulação pó molhável e a “deltametrina”, em suspensão concentrada. Desta forma, assim que ocorre o primeiro registro de um caso autóctone de LV humano, faz-se a investigação entomológica nas áreas afim de conhecer a curva de sazonalidade do vetor, e então ocorre a aplicação do inseticida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

No entanto, pesquisadores vêm observando que vetores de doenças têm apresentado características de resistência frente aos produtos químicos aplicados, ocasionando um efeito residual menor dos mesmos e selecionando geneticamente linhagens cada vez mais resistentes, fazendo com que os produtos aplicados sejam ineficazes (DINESH et al., 2010).

### **2.3.3 Resistências a Inseticidas Químicos**

O processo de resistência é um fenômeno que vem sendo observado como resposta de alguns vetores de importância médica, frente aos inseticidas químicos usualmente aplicados, segundo Paiva (2013), esse fenômeno surge devido a uma modificação genética que pode alterar características fisiológicas, morfológicas ou comportamentais de uma dada população.

Conforme Araújo (2011), os principais tipos de resistência apresentado por estes vetores, são: resistência por penetração reduzida do inseticida; resistência por alteração comportamental; resistência por alteração do sítio-alvo e resistência metabólica. A resistência por penetração reduzida do inseticida caracteriza-se por modificações na cutícula ou no epitélio digestivo do inseto, prevenindo ou retardando a absorção e penetração dos inseticidas pelos mesmos.

A resistência do tipo comportamental consiste em modificação no comportamento do inseto, o qual, passa a evitar o contato com os inseticidas, causando assim, impacto na eficácia do produto (RANSON et al., 2011). Na resistência por alteração do sítio-alvo, existem genes específicos que codificam os sítios-alvo dos inseticidas, tendo como alvo principal o sistema nervoso central dos insetos através da enzima acetilcolinesterase (WU et al., 2011).



Quando se reporta a resistência do tipo metabólica, três grupos de enzimas são responsáveis por tal processo: a glutatona-S-transferases, esterases e oxidases de função mista, todas, conjugam compostos que tornarão o produto químico mais solúvel em água e mais fácil de ser excretado das células (RUSSELL et al., 2011). Atualmente, não existem marcadores que venham ter um diagnóstico dos mecanismos deste tipo de resistência, no entanto, há relatos de mutações pontuais que aumentam a capacidade de uma enzima específica na desintoxicação de um inseticida (LUMJUAN et al., 2011).

É importante ressaltar que o *L. longipalpis* é considerada um complexo de espécies, o que pode dificultar o seu controle (VIGODER, 2007). Denlinger et al. (2016), constataram que as espécies *L. longipalpis* e *Phlebotomus papatasi* foram susceptíveis aos carbamatos testados a uma concentração de 7,0 µg/ml. E no Brasil, mais especificamente na gruta da Lapinha em Minas Gerais, foi comprovada a susceptibilidade de *L. longipalpis* ao inseticida alfa-cipermetrina (PESSOA et al, 2015).

A ampla utilização dos produtos químicos tem provocado prejuízos ambientais, e tem intensificado o processo de magnificação trófica, além do surgimento de populações de vetores resistentes aos produtos químicos utilizados (MAGALHAES, 2015). Desta forma, faz-se necessário a descoberta de novas substâncias que ofereçam maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica, aplicabilidade em programas de controle vetorial e baixo impacto ambiental (MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012).

## **2.4 Utilização de Extratos Vegetais**

Diante do quadro de resistência química adquirida pelos vetores aos inseticidas químicos preconizados pelo Ministério da Saúde, busca-se métodos mais eficazes e seguros para o controle vetorial. Os pesquisadores passaram a focar seus estudos no uso de plantas medicinais, como uma alternativa ao controle químico, uma vez que, as mesmas consistem em fontes naturais de substâncias com ação inseticida, que, são produzidas em resposta a um ataque patogênico (GUISONI et al., 2013). Essa utilização de plantas com propriedades inseticidas, consiste em uma prática antiga, quando as mesmas, foram substituídas por inseticidas sintéticos durante a II Guerra Mundial, os quais mostraram-se mais potentes que os inseticidas naturais (MARANGONI; MOURA; GARCIA, 2012).

Os compostos produzidos a partir do metabolismo das plantas são separados em produtos do metabolismo primário como os glicídios e lipídios que, geralmente, são macromoléculas amplamente produzidas pelos seres vivos, e em produtos do metabolismo secundário, que consistem em micromoléculas como os terpenóides, alcalóides, fenóis, glicosídeos etc. (CHAVES et al., 2010). Os derivados botânicos podem ocasionar diversos efeitos contra os insetos, dentre eles: repelência, inibição da ovopostura e da alimentação e alterações no sistema hormonal podendo interferir nos processos de ecdise e/ou metamorfose. As alterações de repelência e inseticida sobre os vetores ocorrem através de diferentes tipos de mecanismos de reação, a saber: ação tóxica, repelente e/ou alimentar; ação sobre órgãos ou moléculas-alvo e ação por contato ou ingestão (MAGALHÃES, 2015).

Durante a ação tóxica, há uma interferência no processo de transmissão sináptica dos impulsos nervosos dos insetos levando-o a morte por intoxicação. Quanto a ação repelente ou alimentar, os extratos botânicos alteram o comportamento do inseto, fazendo com que este se afaste da planta prevenindo a alimentação e sua ovopostura. Já o mecanismo de ação sobre órgãos ou moléculas-alvo afetam principalmente o sistema neuroendócrino, interferindo nos processos de ecdise (mudas) dos insetos. O mecanismo de ação por contato e/ou a ingestão afeta o sistema nervoso central atingindo a superfície corpórea do inseto levando-o a morte, ou afetam o sistema digestório dos mesmos, quando ingeridas, afetando a formação da camada de quitina do inseto e o processo de ecdise (MAGALHÃES, 2015).

Em ensaios laboratoriais, a ação inseticida pode ser observada pela avaliação da repelência, inibição da ovipostura, inibição do crescimento, inibição da alimentação, alterações do sistema hormonal, no comportamento sexual, mortalidade na fase adulta ou imatura (GALLO et al., 2002).

O Brasil, é de fundamental importância para o descobrimento de novos compostos vegetais, pois é caracterizado por ser um país detentor de grande biodiversidade, com 56 mil espécies de plantas, as quais, constituem fontes de compostos biológicos ativos, e em que muitas sociedades tradicionais o uso destas plantas no tratamento efetivo de enfermidades consiste na única alternativa terapêutica (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2016).

Grande parte dos ativos sintéticos comercializados pela indústrias tem por base substâncias de origem vegetal, como o ácido acetilsalicílico, princípio ativo da Aspirina

e a escopolamina, isolado de Solanaceae, constituindo o princípio ativo do Buscopan, um medicamento analgésico (FELIU, 2011).

Diante disso, observa-se uma variedade de estudos que abordam a atividade inseticida frente a diversos vetores com o objetivo de sanar ou amenizar o processo de resistência que vem sendo verificado (MAGALHÃES, 2015).

Maciel et al. (2009) avaliaram efeitos dos óleos essenciais de *Coriandrum sativum* e *Lippia sidoides*, nas concentrações de 1,2 mg/ml, 5 mg/ml e 80 mg/ml, as quais, mostraram-se eficazes sobre as três fases de desenvolvimento de *L. longipalpis* em laboratório, podendo contribuir desta forma para a redução no uso de inseticidas sintéticos na estratégia de controle do vetor da LVA.

Guissoni et al. (2013) ao avaliarem o Líquido da Castanha do Caju na concentração de 200 ppm, puderam comprovar mortalidade de 100% das larvas de *Aedes aegypti* quando expostas ao mesmo.

Segundo De Andrade et al. (2014) a utilização do nim (*Azadiractha indica*) acrescentado na dieta das larvas de *L. longipalpis* afeta o desenvolvimento deste levando-o a morte e ao não desenvolvimento dos ovos até a fase adulta, indicando que a *Azadiractina indica* é um potente inibidor de crescimento deste vetor.

Esses estudos servem como impulso para a descoberta de mais e novas atividades oriundas do metabolismo secundário de plantas, principalmente daquelas de que já se tem reportado conhecimento medicinal, dentre elas o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.).

#### **2.4.1 *Anacardium occidentale* L.**

A espécie *Anacardium occidentale* L., popularmente conhecida como caju, pertence à família Anacardiaceae, é caracterizada como nativa e de grande dispersão no território brasileiro (MONTANARI, 2010). Consiste em uma árvore de aparência exótica, com troncos tortuosos flores masculinas e hermafroditas e fruto reniforme, seu pedúnculo (caju), é rico em vitamina C, de valor nutricional, e é superdesenvolvido, o que o leva a ser confundido com o fruto quando na verdade, se trata do pseudofruto, cientificamente denominado de pedúnculo floral (MAZZETTO; LOMONOCO; MELO, 2009) (Figura 5).

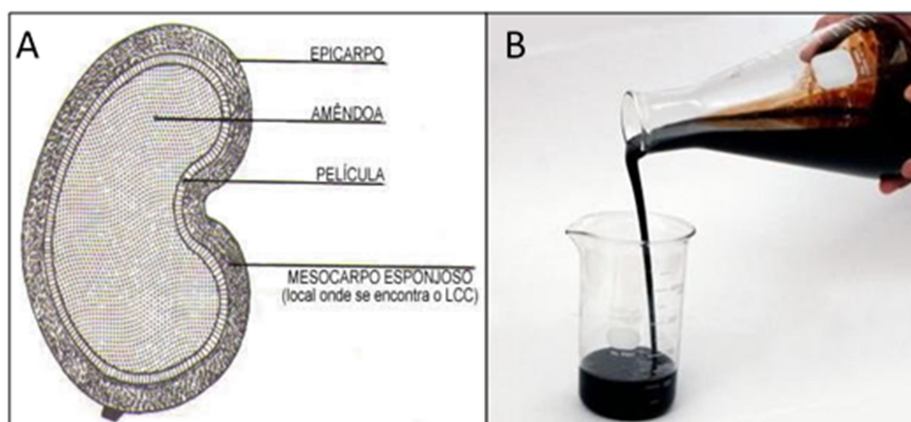
**Figura 5 – Partes constituintes do *Anacardium occidentale* L.**



*Anacardium occidentale*. A – Caule tortuoso B - fruto e pseudo-fruto caju  
Fonte: Google imagens

O fruto do cajueiro, também conhecido como castanha de caju, é um aquênio de comprimento e largura variável, casca coriácea lisa, mesocarpo alveolado, preenchido por um líquido escuro quase preto e inflamável, chamado de Líquido da Castanha do Caju (LCC) ou Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) como é conhecido internacionalmente (MAZZETTO; LOMONOCO; MELO, 2009) (Figura 6). O LCC consiste em uma mistura de meta-alquilfenóis de cadeia longa e insaturada, obtido como subproduto durante o processo de tratamento da castanha de caju. Seus principais constituintes com suas respectivas composições percentuais diferindo do modo de extração submetida estão descritos na Tabela 1 (COSSA, 2015).

**Figura 6 – Líquido da Castanha do Caju - *Anacardium occidentale* L.**



Constituintes do caju. A - castanha evidenciando o local de origem do LCC B - Líquido da Castanha do Caju.

Fonte: Google imagens

O LCC pode ser caracterizado como natural quando é obtido a partir da extração a base de solventes, sendo o hexano principal solvente utilizado, ou, como técnico, obtido quando as castanhas são submetidas a altas temperaturas (acima de 180°C), normalmente ocorre durante o processamento industrial (XAVIER; ARAUJO; MACHADO, 2008).

TABELA 1 – Composição do Líquido da Castanha de Caju (LCC) natural e técnico

LCC	Ácidos anacárdicos	Cardol	Cardanol
Natural	71,7 – 82,0%	13,8 – 20,1%	1,6 – 9,2%
Técnico	1,1 – 1,7%	3,8 – 18,8%	67,8 – 94,6%

Fonte: Cossa, 2015

O uso dos componentes citados na tabela já é reportado na literatura, o cardanol, vem sendo foco de diversas pesquisas, pois são atribuídos a ele algumas vantagens, como: não possuir cheiro agressivo, apresentar baixa volatilidade e apresentar ponto de ebulição mais alto que os demais compostos fenólicos (MAZZETTO; LOMONOCO; MELO, 2009). O ácido anacárdico é detentor de propriedades biológicas que fazem do pseudofruto do caju uma fonte promissora de compostos bioativos, e o seu aproveitamento poderá ser estimulado para diversas pesquisas (ALVES, M.; ALVES, A.; NAVES, 2013). Outro fator preponderante para estudos com o LCC deve-se a sua baixa toxicidade. Em um estudo realizado por Carvalho et al. (2011) puderam constatar ausência de efeitos mutagênicos deste, e uma dose maior que 2.000 mg/kg para ocorrer a toxicidade.

Chaves et al. (2010) isolaram do óleo da amêndoa: ácidos palméticos, palmitoléico, heptadecanóico, esteárico, oléico, linoléico, araquídico e linolênico; como triacilgliceróis, lipídeos fenólicos, tocoferóis, esteróides e triterpenos. Algumas dessas substâncias, como por exemplo o triterpenos, tem ação inseticida comprovada desde 2003 por Viegas-Júnior, evidenciando mais uma vez que os compostos provenientes do metabolismo secundário das plantas são fontes promissoras no combate aos vetores de doenças.

Na Índia, Mukhopadhyay et al. (2010) ao analisarem atividade larvicida em larvas e pupas de *A. aegypti* e *Anopheles subpictus*, concluíram que ambas espécies

de mosquitos apresentaram susceptibilidade ao LCC quando utilizado a uma concentração de 12 ppm e 38 ppm, respectivamente.

Guissoni et al (2013) estudaram o *A.occidentale* como uma alternativa no controle de *A. aegypti* e a sua toxicidade em *Rattus norvegicus*, revelando o grande potencial larvicida do LCC em larvas de *A. aegypti*, concluindo também a ausência de toxicidade do LCC para *R.norvegicus* dentro dos parâmetros analisados.

Porto et al. (2013) ao avaliaram a atividade larvicida do LCC frente ao *A. aegypti*, buscando demonstrar sua eficácia, observaram mortalidade em torno de 70% em uma concentração de apenas 0,1 mg/ml. Já Fauziah; Sudarsono e Mulyaningsih (2014) relataram atividade larvicida do LCC contra larvas de *Culex quinquefasciatus* quando utilizado uma concentração de 10,49 ppm do LCC.

No entanto, poucos são os estudos presentes na literatura que reportam a utilização do LCC em *L. longipalpis*, tanto quanto ao inseto adulto bem como em suas fases de desenvolvimento. Diante do exposto este trabalho visa verificar a ação do LCC nas fases de desenvolvimento do *L. longipalpis* podendo assim, contribuir para o controle da Leishmaniose Visceral focado no vetor.

### 3 CAPÍTULO I

## **AÇÃO DO LÍQUIDO DA CASTANHA DE CAJU (ANACARDIUM OCCIDENTALE L.) SOBRE DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DO LUTZOMYIA LONGIPALPIS.**

### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do Líquido da Castanha do Caju frente as diferentes fases do *Lutzomyia longipalpis*. As castanhas de caju, coletadas no setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, foram encaminhadas ao Laboratório de Geoquímica para que a extração do LCC fosse realizada. As concentrações testadas foram preparadas a partir de uma solução estoque e consistiram em: 50 mg/mL, 75 mg/mL e 100 mg/mL e o controle (água destilada + DMSO/ Proporção 1:1). Assim, 1,5 mL de cada concentração foi individualmente espalhada, na região ventral de hamsters, previamente anestesiados. Em seguida, o mesmo, era disposto em gaiolas contendo 20 fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*, com o tratamento estabelecido, para a realização do repasto sanguíneo, perfazendo 60 min. Decorrido esse tempo, as fêmeas foram acondicionadas em potes para a realização da ovipostura e para o acompanhamento das fases de desenvolvimento. Os potes foram observados até 50 dias após a realização do repasto. Os parâmetros avaliados foram: índice de repasto, índice de postura, índice de eclosão, índice de larvas L-IV e índice de insetos adultos. Para o processamento das amostras foi utilizado o Bioestat, versão 5.3 (Ayres et al. 2007) e o teste de Kruskal – Wallis admitindo-se  $p < 0,05\%$ .

**Palavras-chaves:** Leishmaniose visceral, extratos vegetais e controle vetorial.

## **ACTION OF CAJU CASTANHA FLUID (ANACARDIUM OCCIDENTALE L.) ON DIFFERENT DEVELOPMENT PHASES OF LUTZOMYIA LONGIPALPIS.**

### **Abstract**

This study was to evaluate the action of Cashew Nut Liquid against the different stages of *Lutzomyia longipalpis*. Initially, the cashew nuts were collected in the Agricultural Sciences sector of the Federal University of Piauí, then sent to the Geochemistry Laboratory for the extraction of LCC in hexane. The concentrations tested were prepared from a stock solution and consisted of: 50 mg / mL, 75 mg / mL, and 100 mg / ML and the control (distilled water + DMSO / 1: 1 ratio). Thus, 1.5 mL of each concentration was individually scattered in the ventral region of hamsters, previously anesthetized. Then, it was placed in cages containing 20 females of *Lutzomyia longipalpis*, according to established treatment, to perform the blood repellent, for 60 min. After this time, the females were conditioned in pots to perform the oviposture and to follow the stages of development. The pots were observed up to 50 days after the blood repast. The parameters evaluated were: feeding index, posture index, larval hatching index, L-IV larvae index and adult insect index. For the processing of the samples, the Bioestat, version 5.3 (Ayres et al., 2007) and the Kruskal - Wallis test were used, assuming  $p < 0.05\%$ .

**Key worlds:** Visceral leishmaniasis, plant extracts and vector control.

## Introdução

A Leishmaniose Visceral (LV) caracterizada por acometer as vísceras, como fígado e baço, podendo ser fatal, quando não tratada assim que diagnosticada, está classificada no grupo das “Doenças Negligenciadas”, as quais, a Organização Mundial de Saúde tem como prioridade o seu controle (5;28). A mesma, tem como agente etiológico o protozoário tripanossomatídeo da espécie *Leishmania infantum chagasi*, como principal reservatório no ambiente urbano o cão doméstico - *Canis familiaris* e o homem – *Homo sapiens*, seu principal vetor encontrado em ampla distribuição no Brasil da espécie *Lutzomyia longipalpis* e, a espécie *Lutzomyia cruzi*, incriminada recentemente no Estado do Mato Grosso do Sul (22; 18).

A primeira epidemia urbana de LV registrada no Brasil ocorreu em Teresina entre 1980 a 1986, com registros de casos posteriores nas cidades de Natal e São Luís sendo, desta forma, disseminada para outras regiões do Brasil (30). Dentro do atual cenário, a Leishmaniose Visceral encontra-se distribuída com maior frequência em seis países: Bangladesh, Etiópia, Índia, Sudão do Sul, Sudão e Brasil esse, responsável por 90% dos casos notificados, e mesmo diante dos esforços realizados pelo sistema de saúde que não buscam sua contenção, a mesma, vêm se sobressaindo com crescente distribuição (27;31).

Conforme preconiza o Ministério da Saúde, as medidas de controle voltadas para a LV consistem em: tratamento dos casos humanos com a utilização de antimoniais pentavalentes, atividades de educação e saúde, controle do reservatório através da eutanásia e o controle vetorial a partir da aplicação dos inseticidas “cipermetrina” e “deltametrina” (30). No entanto, observa-se que o controle preconizado pelo Ministério da Saúde não vem apresentando resultados satisfatórios, uma vez que, o *Lutzomyia longipalpis* vem adquirido resistência frente aos produtos químicos aplicados e como consequência, ocasiona um efeito residual menor desses que, acaba por selecionar linhagens geneticamente mais resistentes, além disso, o *Lutzomyia longipalpis* se caracteriza por ser um complexo de espécies, o que pode dificultar o seu controle (29;6).

A resistência química consiste em uma resposta de alguns vetores de importância médica frente aos inseticidas químicos usualmente aplicados, podendo surgir devido a uma modificação genética que altera características fisiológicas, morfológicas ou comportamentais de uma dada população (23).



Diante disso, estudos voltados para elucidar ações dos metabólitos secundários das plantas que possam ter ação sobre vetores de importância médica, passaram a ser foco de diversas pesquisas. Sabe-se que a utilização de compostos resultantes do metabolismo secundário das espécies botânicas para controle de insetos é uma prática antiga, essa atividade inseticida pode ser observada durante ensaios laboratoriais a partir da avaliação de alguns aspectos, como: repelência, inibição da oviposição, inibição da alimentação, alterações morfogenéticas, alterações do sistema hormonal, alterações no comportamento sexual, mortalidade na fase adulta ou imatura, entre outros (10).

Desta forma, os compostos secundários das plantas apresentam-se como uma alternativa promissora no controle vetorial frente aos inseticidas usuais (16). Dentre as inúmeras espécies vegetais já estudadas, o *Anarcadium occidentale* L., popularmente conhecido como caju, tem ampla utilização na medicina popular. Na região Nordeste são reportados alguns efeitos medicinais, como: alívio da dor de dente, combate as inflamações de gengiva e garganta, artrites, bronquites e hemorroidas (9). Pesquisas realizados por (11) já abordam seu uso no controle de vetores, demonstrando o uso do Líquido da Castanha do Caju (LCC) como uma potente alternativa ao controle de *Aedes aegypti*. (8), também relatam a eficácia do LCC na atividade larvicida contra larvas de *Culex quinquefasciatus*.

Sendo assim, o presente estudo objetivou extrair o Líquido da Castanha de Caju e avaliar a sua ação frente as fases de desenvolvimento do *Lutzomyia longipalpis*.

## **Material e Métodos**

Os frutos do *Anarcadium occidentale* L. foram coletados no setor de Pós- Graduação em Ciência Animal, localizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portela, em outubro de 2014. Uma exsicata do espécime coletada (TEPB 674) encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso, UFPI. A obtenção do Líquido da Castanha do Caju (LCC) foi realizada no Laboratório de Geoquímica da Universidade Federal do Piauí seguindo o método descrito por (13) e ocorreu em duas etapas: a primeira consistiu na extração do LCC utilizando-se o solvente hexano e a segunda, na retirada do excesso de hexano. Inicialmente as castanhas foram acondicionadas em nitrogênio líquido, durante 5 minutos e após este

período as mesmas foram trituradas através de batidas com martelo. Em seguida foram levadas para o aparelho Soxhlet (**Nova Instruments, modelo NI1345, Brasil**), no qual o solvente n-hexano foi acrescentado e, então, esperou-se durante 3h até a obtenção do LCC com o solvente concentrado, finalizando a primeira etapa. A segunda etapa consistiu na retirada do excesso do solvente hexano, utilizando-se o rota-evaporador (IKA, modelo RV10, EUA), para que se obtivesse apenas o LCC puro.

Para o preparo das amostras a serem utilizadas nos experimentos, o Líquido da Castanha de Caju foi previamente diluído em “Líquido Dimetilsufóxido” (DMSO) na proporção de 1:1 (v/v) e, em seguida, preparadas três diluições utilizando-se água bidestilada para se obter as concentrações de: 50 mg/mL, 75 mg/mL e 100 mg/mL. Os hamsters (*Mesocricetus auratus*) utilizados no presente estudo foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí, e as fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* provenientes do setor de entomologia do Laboratório de Sanidade Animal na Universidade Federal do Piauí.

O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI e aprovado sob parecer nº 074/14.

Os testes consistiram em 4 tratamentos: controle (água destilada/DMSO), 50 mg/ml, 75mg/ml e 100mg/ml, perfazendo 4 repetições para cada. Assim sendo, a metodologia utilizada no presente trabalho se caracteriza como nova. Para cada repetição foram utilizadas 20 fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* da geração F1, com cinco dias de nascidas. As mesmas foram colocadas em gaiolas em formato de um cubo com dimensões de 20 cm, em seguida, os hamsters foram anestesiados com a associação de Ketamina (150 mg/mL) e Xilazina (10 mg/mL) administrados por via intramuscular (CONCEA, 2016). Ao observar a ausência de reflexos do animal, iniciavam-se os tratamentos: 1,5 mL de água para o grupo controle e 1,5 mL de cada concentração do LCC foram distribuídos com o auxílio de um swab estéril, na região ventral de cada hamster. Em seguida, cada animal foi disposto nas gaiolas contendo as 20 fêmeas de *L. longipalpis*, para a realização do repasto sanguíneo durante 60 minutos. Decorrido o tempo, o hamster foi retirado da gaiola e então se iniciou as observações com relação às fêmeas de *L. longipalpis*. Primeiramente, foram contabilizadas quantas fêmeas referentes ao controle e a cada tratamento estabelecido se ingurgitaram, ou seja, quantas estavam com o abdômen distendido, indicando que realizaram repasto sanguíneo, essas

observações foram realizadas a olho nu, com as fêmeas ainda presentes na gaiola, e utilizando-se o capturador de Castro, em que, ao observar a fêmea com o abdômen distendido era aspirada e contabilizada.

O índice de repasto sanguíneo foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

**Índice de repasto sanguíneo** = (nº de fêmeas ingurgitadas / nº de fêmeas utilizadas) X 100

No momento em que foram aspiradas, com o auxílio do capturador de Castro, as mesmas eram transferidas para potes de plástico com capacidade de 250 ml e abertura no fundo, preenchida com camada de gesso umidificado para realização da ovipostura. Os potes eram observados todos os dias para a verificação da umidade. A contagem do número de ovos ocorreu no 4º dia após a realização do repasto sanguíneo. O índice de ovipostura foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

**Índice de postura** = (nº de ovos / nº de fêmeas ingurgitadas) X 100

Após a contagem do número de ovos, os potes foram observados diariamente para contabilizar o número de larvas eclodidas. A contagem das larvas ocorreu manualmente, com auxílio de um estilete (material adaptado), assim que as larvas eram capturadas com o estilete ocorria à transferência das mesmas para outro pote, sob as mesmas condições do anterior. A contagem da eclosão das larvas deu-se início no 10º dia após o repasto sanguíneo. O índice de eclosão das larvas foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

**Índice de eclosão das larvas** = (nº de larvas no instar I / nº de ovos) X 100

Após a contagem das larvas no instar I, deu-se continuidade a observação dos potes até as larvas atingirem o instar IV de desenvolvimento. Durante esse período, as mesmas eram alimentadas com uma ração (constituída de fezes de coelho e areia vegetal, na proporção de 1:1 (g/g), misturadas, acondicionadas em recipientes de vidro fechados hermeticamente e autoclavados). A contagem das larvas no instar IV ocorreu no 26º dia após o repasto sanguíneo. O índice de larvas no instar IV foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

**Índice de larvas no instar IV** = (nº de larvas IV / nº de eclosão) X 100

Dando prosseguimento ao acompanhamento do ciclo de desenvolvimento das fêmeas de *L. longipalpis*, esperou-se por um período de 10 dias para a finalização da fase de pupa e emergência dos adultos. A contagem do número de adultos ocorreu usando a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de adultos} = (\text{n}^\circ \text{ de adultos} / \text{n}^\circ \text{ de larvas IV}) \times 100$$

A contagem de insetos adultos consistiu na última fase de desenvolvimento avaliada. Os potes em que as fases de desenvolvimento ocorreram foram acompanhados até 50 dias após a realização do repasto sanguíneo. Para a quantificação dos ovos e larvas oriundos das fêmeas submetidas aos tratamentos foi utilizado um Microscópio Estereoscópio Binocular (Marca: **OPTON** Modelo: **TIM-2BR**). Para o processamento das amostras foi utilizado o programa Bioestat, versão 5.3 (Ayres et al. 2007) e o teste de Kruskal – Wallis admitindo-se  $p < 0, 05\%$ .

## Resultados e Discussão

Os resultados do presente estudo revelaram que não houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos nos parâmetros analisados: Índice de Repasto Alimentar, Ovopostura, Eclosão de Larvas, Índice de larvas L-IV e Número de Adultos.

Sabe-se que as fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* necessitam realizar o repasto sanguíneo, pois o sangue é de fundamental importância, uma vez que, possibilita a maturação de seus ovos (19). Neste parâmetro, observou-se que a concentração de 100 mg/mL comportou-se de forma antagônica ao que se esperava, devido à um maior número de fêmeas de *L. longipalpis* realizarem repasto sanguíneo nesta, quando comparado ao número de fêmeas tratadas à concentração de 75 mg/mL, sugerindo-se desta forma que, a concentração de 100 mg/mL tenha atraído as fêmeas de *L. longipalpis*. Extratos que se caracterizam por exercer atratividade frente a vetores já foram elucidados em estudos realizados (14) o qual comprovou a atratividade das substâncias: Nonanol (presente no extrato de Eucalipto), e Heptanol sobre fêmeas de *L. longipalpis* em laboratório, e por (17) os quais também puderam comprovar a atratividade do Nonanol sobre as fêmeas de *Aedes aegypti*.

Com relação ao número de ovos obtidos a partir de fêmeas submetidas à ação do extrato de LCC não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo tratado e controle, como também, não foram observadas diferenças estatísticas na eclosão de larvas e no índice de larvas L-IV. Tais resultados corroboram com os estudos de (15) em que, ao avaliarem o efeito de extratos obtidos de *Azadirachta indica* nas concentrações de 6 mg/ml, 12 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml e 100mg/ml, também não obtiveram significância em seus resultados quanto a ovopostura e ao número de larvas eclodidas de *L. longipalpis*, no entanto, discordam daqueles realizados por (4) em que ao adicionarem *Azadirachta indica* à ração fornecida as larvas de *L. longipalpis* nas concentrações de 0,1 µg/mg, 1,0 µg/mg, e 10 µg/mg, observaram uma pausa durante a fase larval, não sendo possível concluir a fase de desenvolvimento até adulto.

(11) ao testarem o LCC nas concentrações de 6,55 ppm e 10,98 ppm contra larvas de *A. aegypti* constataram uma mortalidade de 100% das mesmas. (25) evidenciaram a atividade inseticida do LCC sobre larvas de *A. aegypti* a uma concentração de 14,5 mg/mL. Da mesma forma, (20) observaram que o LCC apresentou mortalidade larval de *A. aegypti* em concentrações mais baixas (0,0187 mg/mL, 0,095 mg/mL e 0,162 mg/mL) que as concentrações testadas neste estudo.

Quanto ao número de adultos, não foram observadas variações significativas, discordando da literatura em que, trabalhos realizados por (12) confirmaram mortalidade de *Phlebotomus duboscqui* pelos extratos de *Tagetes minuta*, *Polyscias fruticosa* e *Thymus camphoratus* utilizando a concentração de 10 mg/mL. (3) constataram atividade adulticida contra *L. migonei* a uma concentração de 0,01 mg/mL de extratos metanólicos. (7) evidenciaram uma mortalidade de 100% dos adultos de *P. argentipes* quando expostos ao extrato aquoso de *Nicotiana tabacum*.

Vale lembrar que, embora alguns dos autores citados tenham trabalhado com flebotomíneos, é relevante salientar que, os mesmos, realizaram avaliações do efeito direto dos extratos sobre os adultos, enquanto que no presente estudo, a avaliação da ação do LCC sobre adultos é recorrente do processo de repasto sanguíneo realizados pelas fêmeas de *L. longipalpis*.

É importante ressaltar ainda que, poucos são os estudos reportados na literatura a respeito dos produtos botânicos que revelam o seu efeito contra *L. longipalpis* em comparação a outros Dípteros, vetores de doenças, bem como o modo de ação do

extrato do LCC durante suas fases imaturas (21; 24; 26), no entanto, (11) atribuiu ao ácido anarcárdico, um dos constituintes do mesmo, a atividade larvicida observada em seu trabalho.

## Conclusão

Extraíu-se o Líquido da Castanha do Caju (LCC) e avaliou-se o seu efeito no Índice de Repasto Alimentar, na Ovopostura, na Eclosão de Larvas, Índice de larvas L-IV e no Número de Adultos. Os resultados impulsionam a continuidade do estudo, sendo necessário novos experimentos que venham elucidar o potencial dos metabólitos secundários e o respectivo isolamento do princípio ativo e sua ação nas fases de desenvolvimento de vetores, principalmente o *Lutzomyia longipalpis*, e assim poder contribuir como uma alternativa ao controle da Leishmaniose Visceral.

## Referências

1. AYRES, M., AYRES JÚNIOR, M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. 2007. BIOESTAT – BRASIL, CONCEA, DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM ATIVIDADES DE ENSINO OU DE PESQUISA CIENTÍFICA – DBCA, 2016 Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Ong Mamiraua. Belém, PA.
2. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
3. CÁRDENAS, J. et al. Adulticide effect of *Monticalia greenmaniana* (Asteraceae) against *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). *Parasitology Research*, v. 111, n. 2, p. 787-794, 2012.
4. DE ANDRADE C.C.A. et al. Effects of azadirachtin on the biology of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) adult female, the main vector of American visceral leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology*. v, 4 p. 891-5, 2011.
5. DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparitive Immunology Microbiology Infectious Diseases*, v.27, p. 305-318, 2004.

6. DINESH, D.S. et al. Insecticide susceptibility of *Phlebotomus argentipes* in visceral leishmaniasis endemic districts in India and Nepal. PLoS Neglected Tropical Diseases. v. 4, n. 10, p. 859, 2010.
7. DINESH, D.S. et al. The potentiality of botanicals and their products as an alternative to chemical insecticides to sandflies (Diptera: Psychodidae): A review. Journal of vector borne diseases, v. 51, n. 1, p. 1, 2014.
8. 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.
9. FILHO, J.F.S. et al. 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
10. GALLO, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, p. 920, 2002.
11. GUISSONI, A.C.P. et al. Larvicidal activity of *Anacardium occidentale* as an alternative to control *Aedes aegypti* and its toxicity in *Rattus norvegicus*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 363-367, 2013.
12. IRERI, L.N. et al. The potential of the extracts of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae), *Acalypha fruticosa* Forssk (Euphorbiaceae) and *Tarhonanthus camphoratus* L.(Compositae) against *Phlebotomus duboscqi* Neveu Lemaire (Diptera: Psychodidae), the vector for *Leishmania major* Yakimoff and Schokhor. Journal of vector borne diseases, v. 47, n. 3, p. 168, 2010.
13. LEITE, A.S. et al. Evaluation of toxic, cytotoxic, mutagenic, and antimutagenic activities of natural and technical cashew nut shell liquids using the *Allium cepa* and *Artemia salina* bioassays. BioMed Research International, v. 2015, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2015/626835>> Acesso dia: 20/12/2015.
14. MACHADO, V.E. Estabelecimento de colônia de *Lutzomyia (L.) longipalpis* (Diptera:Psychodidae) e testes de túnel de vento para avaliação de substâncias atrativas para flebotomíneos.TCC. (Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.
15. MACIEL, M. V. et al. Insecticidal activity of *Lippia sidoides* and *Coriandrum sativum* oils on the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. Ciência Animal, v. 19, n. 1/2, p. 77-87, 2009.
16. MARANGONI, C.et al. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no

- controle de insetos. Revista de Ciências Ambientais, Rio Grande do Sul, v.6, n.2, 2012.
17. Mathew N, Ayyanar E, Shanmugavelu S, Muthuswamy K: Mosquito attractant blends to trap host seeking *Aedes aegypti*. Parasitol Res 2013, 112(3):1–8
  18. MISSAWA, N. A. et al. Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 44, p. 76-78, janeiro-fevereiro, 2011.
  19. MISSAWA, N.A.; LOROSA, E.S.; DIAS, E.S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.41, n 4, p 365-368, julho-agosto, 2008.
  20. MOTTI, P.R.; DE ANDRADE - PORTO, K.R.; ROEL, A.R. Toxicidade da formulação obtida a partir do líquido da castanha do caju *Anacardium occidentale* L. em *Artemia salina* Leach. Multitemas, n. 47, 2015.
  21. MUKHOPADHYAY, A.K. et al. Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L) on immature stages of two mosquito species. Journal of vector borne diseases, v. 47, n. 4, p. 257, 2010.
  22. NEVES. Parasitologia Humana. 11ª edição. Editora Atheneu, 2004.
  23. PAIVA, M.H.S. Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti*. 2012.128 p. Tese. (Programa em Saúde Pública) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães–CPqAM da Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ/MS, 2013.
  24. PITAROKILI, D. et al. Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek Thymus essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. Parasitology Research. v, 109, p.425–430, 2011.
  25. PORTO K. A. et al. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Revista Brasileira de Biociências. v. 11, n. 4, p. 419-422, out /dez. 2013.
  26. PROPHIRO, J.S. et al. First report on susceptibility of wild *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) using *Carapa guianensis* (Meliaceae) and *Copaifera* sp. (Leguminosae). Parasitology Research. v, 110, p. 699–705, 2012.
  27. QUEIROZ, M.F.M. et al. Of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, v. 45, n. 3, p. 313-317, 2012.
  28. REY, L. Bases da Parasitologia Médica. 3ª edição. Guanabara Koogan, 2011.



29. SHIMABUKURO, P.H.F. et al. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. *Biota Neotropica*, São Paulo, v. 11, n. 1, 2011.
30. WERNECK, G.L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 26, p. 644-645, 2010. Disponível em: < <http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S0034>>. Acesso dia: 20 de outubro de 2014.
31. WHO. World Health Organization. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/publications/en/>> Acesso dia: 15 mar. 2016

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

ALEXANDER, B.; MAROLI, M. Control of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 17, n. 1, p. 1-18, 2003.

ALVES, M.S.O.; ALVES, A.M.; NAVES, M.M.V. Compostos bioativos e atividade antioxidante de pseudofrutos de caju arbóreo do Cerrado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. v, 72, p. 327-31, 2013.

ARAÚJO, V.E.M. **Análise da distribuição espaço temporal da Leishmaniose Visceral e perfil clínico-epidemiológico dos casos e óbitos**, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1994- 2009. 2011. 208 f. Tese (Doutorado) \_ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

AZEVEDO, P.C.B. et al. The effect of fragmentation on phlebotomine communities (Diptera: Psychodidae) in areas of ombrophilous forest in São Luís, state of Maranhão, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 271-277, 2011.

BARRETO - JUNIOR, A.G. et al. Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). **Revista Química Nova**. v. 28, n. 4, p. 719-722, 2005.

BARRETO, M.P. **Observações sobre a biologia, em condições naturais, dos flebotomos do Estado de São Paulo**. 162 págs. Tese. Instituto Oswaldo Cruz. 1943.

BASTOS, T.S.A. **Estudos introdutórios sobre flebotomíneos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

BRASIL. Decreto nº 51.838, de 14 de março de 1963. Baixa Normas Técnicas Especiais para o Combate às Leishmanioses. Diário Oficial da União, Brasília, DF. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1950-1969/D51838](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D51838). Acesso em: 22 de dezembro de 2015.

BRASIL. **Gerência de Zoonoses – Gezoon**. Teresina, PI, 2016.

BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE**. Disponível em: <http://7a12.ibge.gov.br/vamos-conhecer-o-brasil/nosso-territorio/relevo-e-clima> Acesso em: 22 de dezembro de 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de

Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**, Departamento de Vigilância Epidemiológica – 5. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN**. Teresina, PI, 2016.

BRAZIL, R.P. et al. Biology of *Lutzomyia lenti* (Mangabeira) (Diptera: Psychodidae). In: **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 191-193, 1997.

CARSON R. **Primavera Silenciosa**. São Paulo: Gaia; 2010.

CARVALHO, A.L.N. et al. Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anarcadic acids from castew (*Anacardium occidentale* Linn) in mice. **Journal of Ethnopharmacology**.v,135, p 730 – 736, 2011.

CHABI, S. K. et al. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. leaves and barks extracts on pathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, France, 2014.

CHAVES, M. H. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v, 20, p. 106-112, Janeiro/Março. 2010.

COSSA, T. M. **Síntese, caracterização e atividade biológica de ligantes e complexos de cobre (ii) baseados no cardanol para o controle de mosquitos (Diptera - Culicidae)**. 2015. 96f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós - Graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015.

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis, a critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 2, n. 44, p. 232-242, 2011.

COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de Leishmaniose Visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.

DANTAS T. F.; BRANDAO - FILHO, S. P. Visceral Leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DE ANDRADE C. C. A. Effects of Azadirachtin on the biology of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) adult female, the main vector of American Visceral Leishmaniasis. **Journal of Medical Entomology**. v. 4 p. 891-5, 2014.

DENLINGER, D. et al. Diagnostic doses and times for *Phlebotomus papatasi* and *Lutzomyia longipalpis* sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) using the CDC bottle bioassay to assess insecticide resistance. **Parasites & Vectors**, v, 9, p. 212, 2016.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparitive Immunology Microbiology Infectious Diseases**, v. 27, p. 305-318, 2004.

DIAS, E. S. et al. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de Leishmaniose Tegumentar no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 49-52, 2007.

DIAS, L. A. G.; GUEDES, M. L. S.; SHERLOCK, I. A. Horizontal stratification of the sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) in a transitional vegetation between caatinga and tropical rain forest, state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 733-737, 2003.

DINESH, D. S. et al. Insecticide susceptibility of *Phlebotomus argentipes* in Visceral Leishmaniasis endemic districts in India and Nepal. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 10, p. e859, 2010.

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.

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. Lamprocróton (Mull. Arg.) Pax. (Euphorbiaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

FORANTTINI, O. P. et al. Observações sobre a transmissão da Leishmaniose Tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v, 10, p 31-43, 1976.

GALATI, E. A. B. et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de Leishmaniose Visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública** [online].vol, 31, n.4, p.378-390, 1997. ISSN 1518-8787. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101997000400007>>. Acesso em: 12/02/2016.

GALLO, D., O. Nakano, S. S. Neto, R. P. L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. **Entomologia Agrícola**, Piracicaba, FEALQ, p. 920, 2002.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M. N. **Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas.** Revista Brasileira Epidemiologia, Minas Gerais, v. 7, p. 338 – 949, 2004.

GUISSONI, A. C. P. et al. Larvicidal activity of *Anacardium occidentale* as An alternative to control *Aedes aegypti* and its toxicity in *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 15, n. 3, p. 363-367, 2013.

HERMONT, V. J. **Manual Técnico da Leish-Tec® - Vacina Recombinante contra Leishmaniose Visceral Canina.** 1ª ed. Minas Gerais: Hertap Calier Saúde Animal S. A., 2008, 78p. Disponível em: <http://www.hertapecalier.com.br/images/arqConteudo/4900aabb8f1dc.pdf>

KILLICK, K. R. The biology and control of phlebotomine sand flies. **Clinics in Dermatology**, v. 17, p. 279-289, 1999.

KISHORE, K. et al. Vector control in leishmaniasis. **Indian Journal of Medical Research**, p. 467-472, 2006.

LIMA, C. C. M. **Entre a estima pelo animal e o risco à saúde: os saberes e as experiências dos proprietários de cães com leishmaniose.** 2015. 195 p. Dissertação (Mestrado em Sociologia Política) – Programa de Pós- Graduação em Sociologia Política da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

LOMONACO, D. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chemistry**, v.11, p. 31–33, 2009.

LUMJUAN, N. et al. **The role of the Aedes aegypti Epsilon glutathione transferases in conferring resistance to DDT and pyrethroid insecticides.** Insect Biochem. Mol. Biol. v, 41, p, 203 – 209, 2011.

MACHADO, C. J. S.; SILVA, E. G.; VILANI, R. M. O uso de um instrumento de política de saúde pública controverso: a eutanásia de cães contaminados por Leishmaniose no Brasil. **Saúde e Sociedade**, v. 25, n. 1, p. 247-258, 2016.

MACIEL, M. V. et al. Insecticidal activity of *Lippia sidoides* and *Coriandrum sativum* oils on the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Ciência Animal**, v. 19, n. 1/2, p. 77-87, 2009.

MAGALHÃES, M. S. **Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcólico da espécie *Anacardium occidentale* Linneu.** 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) do Programa de pós - graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá- UNIFAP, Macapá, 2015.

MAGALHÃES, M. S. **Avaliação da atividade larvicida do extrato hidroalcólico da espécie *Anacardium occidentale* Linneu.** 2015. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) do Programa de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas

da Universidade Federal do Amapá- UNIFAP, Macapá, 2015.

MARANGONI, C.; MOURA, N. F.; GARCIA, F. R. M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Rio Grande do Sul, v. 6, n. 2, 2012.

MAURICIO, I. L.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 188-189, 2000.

MISSAWA, N. A. et al. Evidência de transmissão de Leishmaniose Visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v, 44, p. 76-78, janeiro - fevereiro, 2011.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de Leishmaniose Visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v, 41, n 4, p 365 - 368, julho - agosto, 2008.

MONTANARI, R. M. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de *Anacardiaceae*, *Siparunaceae* e *Verbenaceae***. 2010. Tese. (Programa de Pós Graduação em Agroquímica) da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

MONTEIRO, C. C. **O papel da microbiota intestinal na competência vetorial do *Lutzomyia longipalpis* para a *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e a transmissão do parasito ao vertebrado pela picada**. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisa René Rachou, Belo Horizonte, 2012.

MONTEIRO, E. M. et al. **Leishmaniose Visceral**: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 38, p. 147-152, 2005.

MORALES, A.; BELLO, F.; CARDENAS, E. Establecimiento, mantenimiento y productividad de una colonia de laboratorio de *Lutzomyia spinicrassa* Morales, Osorno-Mesa, Osorno y Hoyos, 1969 (Diptera: Psychodidae) en Colombia. **Revista Ciências de La Salud**, Bogotá, v. 3, n. 2, p. 129-135, 2005.

MUKHOPADHYAY, A. K. et al. Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L.) on immature stages of two mosquito species. **Journal Vector Borne Diseases**, v. 47, p. 257-260, 2010.

NEVES. **Parasitologia Humana**. 11ª edição. Editora Atheneu, 2004.

OLIVEIRA, C. L.; MORAIS, M. H. F.; MACHADO C. G. L. L. Visceral Leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de

Janeiro, v. 24, p. 2953-58, 2009.

PAIVA, M.H.S. **Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti***. 2012.128 p. Tese. (Programa em Saúde Pública) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães–CPqAM da Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ/MS, 2013.

PEREIRA, A. V. et al. Efeitos antimicrobianos e genéticos de extratos vegetais sobre plasmídios de resistência a antibióticos em microorganismos de origem bovina. **Revista de Biologia e Farmácia**, Paraíba, v. 4, p. 1983-4209, 2010.

PESSOA, G.C.D. et al. Baseline susceptibility to alpha-cypermethrin in *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) from Lapinha Cave (Brazil). **Parasites & Vectors**. v.8, p, 469, 2015. DOI 10.1186/s13071-015-1076-y

PESSOA, G.C.D. et al. Baseline susceptibility to alpha-cypermethrin in *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) from Lapinha Cave (Brazil). **Parasites & Vectors**. v.8, p, 469, 2015. DOI 10.1186/s13071-015-1076-y

PIRAJÁ, G.V. et al. **Leishmaniose felina**: revisão de literatura. *Veterinária e Zootecnia*. v, 20, n. 2, p. 203-216, 2013.

PORTO K. A. et al. Atividade inseticida do Líquido da Castanha de Caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**. v. 11, n. 4, p. 419-422, outubro /dezembro, 2013.

PORTO K.A. et al. Atividade inseticida do líquido da castanha de caju sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**. v. 11, n. 4, p. 419-422, out /dez. 2013.

QUEIROZ, M.F.M. Of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 3, p. 313-317, 2012.

QUEIROZ, M.F.M. Of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 45, n. 3, p. 313-317, 2012.

QUINNELL, R. J, COURTENAY O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral Leishmaniasis. **Parasitology**. v. 136, n.4, p. 1915-34. December, 2009 DOI:10.1017/S0031182009991156.45, n. 3, p. 313-317, 2012.

RANGEL, E. F. Biology of *Lutzomyia intermedia* Lutz and Neiva, 1912 and *Lutzomyia longipalpis* Lutz and Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae), under experimental

conditions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 81, p. 431-438. 1986.

RANSON, et al. Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control. **Trends in Parasitology**, v, 27, p. 91–98, 2011

RASSI - JUNIOR. A.; RASSI A.; REZENDE, J. M. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics**, v, 26, p. 275 – 291, 2012 doi:10.1016/j.idc.2012.03.002.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 3ª edição. Guanabara Koogan, 2011.

RUSSELL, T. L. et al. Increased proportions of outdoor feeding among residual malaria vector populations following increased use of insecticide-treated nets in rural Tanzania. **Malaria Journal**, p, 10 – 80, 2011.

SALOMÓN, J. A. et al. **Disability weights for the Global Burden of Disease 2013 study**. Lancet Global Health. v. 3, novembro, 2015.

SARAIVA, L. et al. Information System and Geographic Information System Tools in the Data Analyses of the Control Program for Visceral Leishmaniasis from 2006 to 2010 in the Sanitary District of Venda Nova, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, v, 2012, n. 2012, 9 p, 2012.

SHARMA, U.; SINGH, S. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. **Journal of Vector Borne Disease**, v.45, p. 255-272, 2008.

SHIMABUKURO, P. H. F.; GALATI, E. A. B. Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 11, n. 1, 2011

SILVA, M. A. et al. The first record of American Visceral Leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, v. 105, n. 1, p. 92-94, 2008.

TANURE, A. et al. Identification of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) blood meals in an endemic Leishmaniasis area in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v, 57, p. 321-324, July - August, 2015.

UKWENYA, V.O. et al. Antihyperglycemic activities of methanolic leaf extract of *Anacardium occidentale* (Linn.) on the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Cell and Animal Biology**, v, 6, n, 11, p. 169 - 174, Jun. 2012.

VIDES, J. P. et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral Leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v, 178 (1-2), p, 22 - 28, 2011.



VIGODER, F. M. **Análise dos sinais acústicos de diferentes populações brasileiras de *Lutzomyia longipalpis* e de *Lutzomyia cruzi***. 2007. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) – Programa de Pós – Graduação em Biologia Parasitária apresentada do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2007.

WERNECK, G. L. Expansão geográfica da Leishmaniose Visceral no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v, 26, p. 644-645, 2010.

WHO. World Health Organization. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/publications/en/> Acesso dia: 15 de março de 2016.

WHO. World Health Organization. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/publications/en/> Acesso dia: 15 de março de 2016.

WU, J. Y.; ANELLI, C. M.; SHEPPARD, W. S. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. **PLoS One**, v, 6, 2011

XAVIER, J. E.; SILVA, F. J. A.; VIEIRA, P. B. Solventes para extração do Líquido da Castanha de Caju (LCC) e compatibilidade ambiental. **Revista Tecnológica**, Fortaleza, v. 29, n. 1, p. 101-109, jun. 2008.

YOUNG, D. G; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Gainesville: Memoirs of the American Entomological Institute**, n. 54, p.887, 1994.

## ANEXO A - Parecer da comissão de ética e experimentação animal



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil; CEP: 64049-550  
Telefone (86) 3215-5734 \_e-mail: ceeapi@ufpi.edu.br



Teresina, 24 de Outubro de 2014.

Ilma.

**Profa. Dra. IVETE LOPES DE MENDONÇA.**  
**Departamento: Clínica e Cirurgia Veterinária/CCA/UFPI.**

Senhor Pesquisador,

Em reunião na presente data (24 de Outubro de 2014), a Comissão de Ética e Experimentação no uso de Animais em Pesquisa, da Universidade Federal do Piauí, analisou e **Aprovou** no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, sob o número **074/14**, o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação do líquido da castanha de caju (LCC) como inseticida frente ao *Lutzomyia longipalpis* adulto e durante as suas fases de desenvolvimento: ovo, larva e pupa**", sob a sua responsabilidade. Informamos que este projeto tem Período de Vigência de Dezembro/ 2014 à Fevereiro/ 2016, e serão usados 12 Hamsters (06 machos e 06 fêmeas). Cabe ao Pesquisador elaborar e apresentar ao CEEA/UFPI, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais – Lei Nº 11.794, 08 de Outubro de 2008).

Atenciosamente,

  
Prof<sup>a</sup>. Ivetes L. de Mendonça  
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI  
- Coordenadora