



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



**“ESTUDO DA FOTOINATIVAÇÃO DE LARVAS DE *AEDES AEGYPTI*
(LINNAEUS, 1762) COM FORMULAÇÕES DE CURCUMINA: EFICÁCIA E
SEGURANÇA AMBIENTAL”**

Matheus Garbuio

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA
do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador:

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

Coorientadora:

Dra. Alessandra Ramos Lima

*** bolsista: (CAPES) 88887.662159/2022-00**

**São Carlos - SP
2025**

MATHEUS GARBUIO

“Estudo da fotoinativação de larvas de *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) com formulações de curcumina: eficácia e segurança ambiental”

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTOR em Biotecnologia do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

Orientador:

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

Coorientadora:

Dra. Alessandra Ramos Lima

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato

Instituto de Física (IFSC) - Universidade de São Paulo - USP

Prof. Dr. Paulo Teixeira Lavaca

Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

Prof. Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Profa. Dra. Bruna Bueno Postacchini

Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP

Dra. Livia Mara Alves Figueiredo Godoi

Instituto de Física (IFSC) - Universidade de São Paulo - USP

São Carlos
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado do candidato Matheus Garbuió, realizada em 05/08/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato (USP)

Prof. Dr. Paulo Teixeira Lacava (UFSCar)

Prof. Dr. Anderson Rodrigues Lima Caires (UFMS)

Profa. Dra. Livia Mara Alves Figueiredo Godoi (IFSC/USP)

Profa. Dra. Bruna Bueno Postacchini (UFOP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Dedico este trabalho aos meus pais, que não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. E a mim mesmo, por enfrentar toda essa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais por me ajudar a superar as dificuldades para realizar este sonho, bem como conceder oportunidades de viver experiências.

A minha família, que independe da situação, foi meu suporte. Meus tios e primos muito obrigado. E meu carinho especial aos meus cachorros Oliver e Vinci e minha gata Gaia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e ao corpo docente, pelos ensinamentos e a oportunidade de prosseguir com a minha formação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato por toda orientação, confiança e oportunidade de realizar esta pesquisa.

A minha coorientadora Dra. Alessandra Ramos Lima por todas as reuniões para direcionar o meu trabalho e a todos os conselhos e ensinamentos. Além disso, uma grande amiga, cuja parceria foi um ponto essencial para o desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigado Ale!

Agradeço ao pessoal do Biofotônica Ambiental por todo apoio, e trabalho em conjunto, especialmente, Mariana de Souza. Sua entrada no grupo e nossa amizade foram muito importantes pois me fizeram crescer e amadurecer. Muito obrigado Mari!

A toda a equipe do Laboratório de Biofotônica, pelo suporte, amizade e orientação. Em especial os professores, técnicos e toda a disponibilidade de infraestrutura do IFSC – Instituto de Física de São Carlos.

Às pessoas que, ao longo do projeto, me deram suporte para que eu pudesse evoluir na pesquisa: à Dra. Kamila, além de amiga, por contribuir nas correções e orientações amigas; ao Dr. Lucas, pelas colaborações, parcerias e conversas; a oficina pela ajuda na confecção das gaiolas e em especial ao Gustavo por todo o suporte, auxílio na sala tropical, obrigado pela ajuda.

Ao meu amigo Caio, por demonstrar que as coisas são mais fáceis do que se imagina, por me fazer sorrir nos piores momentos, por sempre estar comigo sempre e por cada role juntos. Muito obrigado Vi!

As minhas amigas Renata e Raissa, a primeira por ser minha ouvinte (que não é fácil haha), minha confidente e ter uma conexão que só a gente entende; e a segunda, pelos rolês, por ter gostos muito parecidos com os meus e estar sempre de prontidão por mim.

A minha amiga Leticia, que mesmo distantes, sempre estamos juntos, seja em uma conversa, uma lembrança, uma ligação. Muito obrigado.

A minhas primas Julia, Leticia e Lenita, a primeira por ser minha irmã da vida, levando para sair, comer e pelas conversas, a segunda pelas conversar, pelos cafés e a cumplicidade e a terceira por me distrair, pelos churrascos e pelas músicas.

As amizades que ao longo dos anos foram se intensificando e hoje posso contar com eles e cada momento junto é muito importante. Muito obrigado Will, Samanta, Luciana, e Maduro meus queridos amigos.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem participar e contribuir na avaliação do meu trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

- Ayrton Senna

RESUMO

A seleção de populações resistentes do vetor *Aedes aegypti* a inseticidas químicos tradicionais tem motivado a busca de técnicas alternativas para atuar no controle da proliferação de mosquitos vetores. A inativação fotodinâmica (IFD) é uma ferramenta promissora contra o vetor *Ae. aegypti*, envolve a combinação de três elementos fundamentais: comprimento de onda específico, molécula fotossensibilizadora (FS) e o oxigênio molecular, que quando associados causam danos irreversíveis ao tecido alvo. A temperatura ambiente é um fator importante na sobrevivência de larvas e mosquitos, pois influencia em sua fisiologia de desenvolvimento, comportamento e na ecologia. Este estudo teve como objetivo, avaliar formulações a base de curcumina para a IFD de larvas do *Ae. aegypti* em condições de laboratório e em campo simulado. A execução foi realizada em etapas: (i) avaliação dos parâmetros do ciclo biológico do *Ae. aegypti* tais como taxa de eclosão e concentração letal (CL) de larvas e mortalidade promovidas por IFD com a curcumina, sob diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), (ii) formulação e caracterização da curcumina microencapsulada por espectroscopia de absorção no ultravioleta visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia confocal e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e ensaios biológicos com as larvas, definição das concentrações letais (CL_{S50;90}) para a ação de IFD em laboratório, (iii) a avaliação do comportamento da ação fotodinâmica em campo simulado, com base nas CLs em laboratório e a persistência da formulação a base de curcumina, e (iv) análises de ecotoxicológicas com organismos não alvo (*Danio rerio*, *Allium cepa*, *Galleria mellonella*). Os valores das CLs foram obtidos por meio de dose-resposta por regressão não linear, para comparações entre grupos ANOVA unidirecional, com teste post-hoc de *Tukey* e o teste t de *Student* foi utilizado com dois grupos de comparação. Os resultados etapa i) indicaram que temperaturas mais elevadas apresentam maior mortalidade das larvas em concentrações mais baixas da formulação de curcumina. As larvas que sobreviveram após a IFD quando comparado com os grupos controle, apresentaram atraso no seu desenvolvimento. A avaliação de sobrevivência dos mosquitos adultos machos e fêmeas para os grupos controle e IFD, apresentou uma redução de longevidade dos mosquitos do grupo IFD em relação ao controle. Na etapa ii) a microcápsula de curcumina apresentou pico de 440 nm, tamanho médio de $11,1 \pm 3,1$ µm e não houve deslocamentos significativos nas posições das bandas características da curcumina e seus excipientes. Além disso, manteve sua eficácia e os resultados em laboratório mostram que as CLs foram de 0,27 mg/L (CL₅₀) e 1,6 mg/L (CL₉₀), respectivamente. Etapa (iii), em campo simulado as concentrações obtidas foram CL₅₀ 2,30 mg/L, e CL₉₀ 8,7 mg/L, respectivamente. Os resultados da avaliação da persistência da microcápsula de curcumina em campo simulado, eficácia de 100% até 20 dias com decaimento da atividade em função do tempo, perdendo completamente sua eficácia depois de 45 dias. Na etapa iv, avaliação de ecotoxicidade não demonstrou toxicidade em organismos não-alvo: *Danio rerio* (100 mg/L), *Allium cepa* (100 mg/L), *Galleria e mellonella* (2000 mg/L). A ação fotodinâmica foi eficaz em ensaios de laboratório e em campo simulado. Portanto, o fotolarvicida a base de curcumina pode ser um potencial para controle integrado do vetor *Ae. aegypti* na fase de larvas e consequentemente na redução da transmissão de arbovírus.

Palavras-chave: Biofotônica ambiental, manejo de vetor, fotossensibilizador, larvicida

ABSTRACT

The selection of resistant populations of the vector *Aedes aegypti* to traditional chemical insecticides has motivated the search for alternative techniques to control the proliferation of vector mosquitoes. Photodynamic inactivation (PDI) is a promising tool against vector *Ae. aegypti*, involving the combination of three elements: specific wavelength, photosensitive molecule (PS) and molecular oxygen, which when associated cause irreversible damage. Ambient temperature is an important factor in the survival of larvae and mosquitoes, as it influences their physiology, behavior and ecology. This study aimed to evaluate curcumin-based formulations for PDI of *Ae. aegypti* larvae under laboratory and simulated field conditions. The implementation was carried out in stages: (i) the biological cycle parameters of *Ae. aegypti*, such as hatching rate and lethal concentration (LC) of larvae and mortality promoted by PDI with curcumin, under different temperatures (20, 25, 30 and 35 °C). (ii) formulation and characterization of microencapsulated curcumin by ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), confocal microscopy, and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and biological assays with larvae. Lethal concentrations (LC₅₀;90) for IFD action in the laboratory were defined. (iii) evaluation of the photodynamic action behavior in a simulated field, based on the LCs determined in the laboratory, evaluated larval mortality and the persistence of the curcumin-based formulation. (iv) ecotoxicological analyses with non-target organisms (*Danio rerio*, *Allium cepa*, and *Galleria mellonella*). The results of step i) indicated that higher temperatures result in higher larval mortality at lower concentrations of the curcumin formulation. The larvae that survived after PDI, when compared to the control groups, showed delayed development. The survival evaluation of adult male and female mosquitoes for the control and PDI groups showed a reduction in the longevity of mosquitoes in the PDI group compared to the control. In step ii), the curcumin microcapsule presented an absorption peak at 440 nm, an average size of $11.1 \pm 3.1 \mu\text{m}$, and there were no significant shifts in the positions of the characteristic bands of curcumin and its excipients. Furthermore, it maintained its efficacy, and laboratory results show that the LCs were 0.27 mg/L (LC₅₀) and 1.6 mg/L (LC₉₀), respectively. Step (iii), in a simulated field, the concentrations obtained were LC₅₀ 2.30 mg/L and LC₉₀ 8.7 mg/L, respectively. The results of the persistence evaluation of the curcumin microcapsule in a simulated field showed 100% efficacy for up to 20 days, with activity declining over time, completely losing its efficacy after 45 days. In stage IV, the ecotoxicity evaluation showed no toxicity to non-target organisms: *Danio rerio* (100 mg/L), *Allium cepa* (100 mg/L) and *Galleria mellonella* (2000 mg/L). The photodynamic action is effective in laboratory and simulated field tests. Therefore, the curcumin-based photolarvicide may be a potential integrated control agent for the *Ae. aegypti* vector in the larval stage and, consequently, for reducing arbovirus transmission.

Keywords: Environmental biophotonics, vector management, photosensitizer, larvicide

Lista de Figuras

Figura 1. Diagrama de Jablonski simplificado mostrando o mecanismo geral de ação do IFD. .	19
Figura 2. Estruturas moleculares gerais de derivados fotossensibilizantes naturais e sintéticos investigadas na inativação fotodinâmica de insetos pragas.....	22
Figura 3. Larvas de <i>Aedes aegypti</i> no 3º estágio A) Sem FS e B) com FS curcumina.	25
Figura 4. Ultraestruturas de larvas de <i>Aedes aegypti</i> em 3º estágio submetidas ao FS curcumina, cortes corados em hematoxilina e eosina (HE): A) Constrição do lúmen, proliferação celular B) Desorganização da cutícula e, C) Formação de vacúolos.	26
Figura 5. Esquema dos eventos que contribuem para o surgimento e expansão das doenças em um cenário de mudanças climáticas.	46
Figura 6. Representação esquemática do mecanismo de ação da IFD em vetores de DTNs, como: dengue, Chikungunya, Zika, febre amarela, doença de Lyme, febre maculosa e doença de Powsan.....	51
Figura 7. Esquema experimental durante todo o desenvolvimento do ciclo de vida o do vetor <i>Ae. aegypti</i> . Seguido do processo de inativação fotodinâmica contra as larvas <i>Ae. aegypti</i> sob quatro diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C).	57
Figura 8. Espectro de absorção normalizado da fonte de luz utilizada nos bioensaios (linha preta) e espectro de absorção da formulação de curcumina (linha vermelha).	59
Figura 9. Porcentagem média de larvas eclodindo nas temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	61
Figura 10. Período médio de desenvolvimento de L1 até a fase de pupa (P) nas diferentes temperaturas: (A) 20 °C, (B) 25 °C, (C) 30 °C e (D) 35 °C. Há dois grupos: controle e IFD, respectivamente. O lado (a) da figura representa o desenvolvimento larval antes da IFD, o lado (b) depois da IFD e a linha tracejada no momento em que ocorreu a IFD. O símbolo (*) indica diferença estatística de médias ($p < 0,05$).	63
Figura 11. Proporção sexual entre machos e fêmeas dos mosquitos adultos emergidos após exposição a diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), grupos: (A) controle e (B) IFD.	65
Figura 12. Taxa de sobrevivência entre mosquitos de adultos machos e fêmeas expostos a diferentes temperaturas: 20 °C (A), 25 °C (B), 30 °C (C) e 35 °C (D), divididos em dois grupos, controle (somente temperatura) e IFD mais temperatura.	67
Figura 13. Peso (mg) de fêmea adulta de <i>Ae. aegypti</i> machos (controle e IFD (não alimentados com sangue)).....	69
Figura 14. Papel da pectina nas formulações de curcumina microencapsuladas. Quando a pectina apresentou maior quantidade que o amido seu efeito se mostrou mais benéfico do que quando sua proporção foi menor.	74
Figura 15. Método para a produção de formulações de curcumina microencapsulada. Etapa 1: homogeneização de amido e D-manitol em água; Etapa 2: adição de curcumina em etanol 99,5%; Etapa 3: secagem da solução pela técnica de secagem por atomização; Etapa 4: compressão das microcápsulas em comprimidos.	77
Figura 16. A) curcumina microencapsulada obtida por secagem por pulverização. B) Pastilha de curcumina obtida por prensagem com força de 4 kN.	77
Figura 17. Curva padrão da curcumina em etanol, com base na absorbância máxima em 450 nm. Inserto: Equação linear da reta ajustada, com respectivo fator de ajuste R^2	79
Figura 18. Perfil de absorção: curcumina em etanol (linha preta); microcápsula de curcumina (linha azul) e pastilha de curcumina microencapsulada (linha vermelha).	81

Figura 19. Imagens microscopia eletrônica de varredura de alta resolução de escala morfológica de 20 μm : (A) curcumina ativa, (B) amido, (C) D-manitol e (D) curcumina microencapsulada.	83
Figura 20. Distribuição do tamanho das micropartículas: (A) amido — tamanho médio de $35 \pm 12,5 \mu\text{m}$ e (B) curcumina microencapsulada — tamanho médio de $11,1 \pm 3,1 \mu\text{m}$.	84
Figura 21. Espectros de FTIR dos materiais encapsulantes, ativos e microcápsulas: (A) amido, (B) D-manitol, (C) curcumina e (D) curcumina microencapsulada.	85
Figura 22. Espectros de FTIR da pectina (A) e da pastilha de curcumina: curcumina, D-manitol, pectina e amido (B).	87
Figura 23. Microscopia confocal de curcumina microencapsulada. (A) Espectros de fluorescência de microcápsulas de curcumina, com o espectro vermelho se referindo à região da superfície da cápsula (maior intensidade de fluorescência) e o espectro azul (menor intensidade de fluorescência) se referindo à região central da cápsula. (B) Imagem de microscopia confocal de curcumina microencapsulada de 100 μm .	88
Figura 24. Perfil de liberação de curcumina do processo de <i>spray drying</i> . O eixo Y representa o logaritmo natural ($\ln$) da concentração (%) de curcumina liberada ao longo do tempo.	90
Figura 25. Curvas de liberação para pastilha de curcumina (curcumina, D-manitol, pectina e amido) em função de pH = 3 (linha preta), pH = 7 (linha vermelha) e pH = 11 (linha azul).	92
Figura 26. Fotodegradação das pastilhas de curcumina microencapsuladas expostas a luzes fluorescentes brancas 18W, intensidade de $0,83 \text{ mW/cm}^2$.	93
Figura 27. Representação dos ensaios de eficácia - recipientes com água destilada e lâmpadas fluorescentes de 18W, irradiância de $0,83 \text{ mW/cm}^2$, dose de luz: $35,85 \text{ J/cm}^2$.	99
Figura 28. Representação das diluições após o final do ensaio de reaplicação de 3 em 3 dias. Diluição 1 apresenta 500 mL da solução final do ensaio de reaplicação a cada 3 dias e 500 mL de água deionizada. Diluição 2 apresenta 500 mL da solução final da diluição da diluição 1 e 500 mL de água deionizada.	102
Figura 29. Atividade residual da pastilha de curcumina por tempo em dias em <i>Ae. aegypti</i> em condições de laboratório.	105
Figura 30. Atividade da microcápsula de curcumina com intervalos de aplicação a cada 3 dias em larvas de <i>Ae. aegypti</i> . Quadrado representa o grupo controle e círculo representa o grupo submetidos a um quarto de pastilha de microcápsula de curcumina.	106
Figura 31. Atividade da microcápsula de curcumina com intervalos de aplicação a cada 15 dias em larvas de <i>Ae. aegypti</i> . Losango representa o grupo controle e triângulo representa o grupo submetidos a um quarto de pastilha de microcápsula de curcumina.	107
Figura 32. Avaliação da carga microbiológica da água dos experimentos de laboratório. C) grupo controle, Per) grupo persistência, Reap 15) grupo de reaplicação a cada 15 dias, Reap 3) grupo de reaplicação de a cada 3 dias.	109
Figura 33. Recipiente de 1L dos testes de laboratório e os valores obtidos pela fibra óptica. $0,73 \text{ mW/cm}^2$: 0 cm, $0,84 \text{ mW/cm}^2$: 2 cm e $0,92 \text{ mW/cm}^2$: 4 cm.	110
Figura 34. Disponibilidade dos sólidos totais nos recipientes experimentos de laboratório com pastilhas de curcumina microencapsulada. A) Persistência, B) Reaplicação a cada 3 dias e C) Reaplicação a cada 15 dias.	111
Figura 35. Atividade da curcumina em larvas de <i>Ae. aegypti</i> por reaplicação a cada 3 dias. A) 1 diluição e B) 2 diluição.	112
Figura 36. Concentração de curcumina dos recipientes dos testes de reaplicação a cada 3 dias ao longo dos dias. As linhas vermelhas indicam a mudança do fim do primeiro teste para a 1 diluição e a do final da 1 diluição e início da 2 diluição.	114

Figura 37. Imagens de microscopia confocal de larvas de <i>Ae. aegypti</i> com 20 min de exposição à formulação da pastilha de curcumina: (A) controle (B) pastilha de curcumina microencapsulada. Barra de escala = 500 µm.	115
Figura 38. Imagens de microscopia confocal de larvas de <i>Ae. aegypti</i> com 20 min de exposição à (A) formulação da pastilha de curcumina e (B) espectro de emissão de curcumina.	116
Figura 39. Visualização dos reservatórios (caixas d'água) de 100 L utilizados nos ensaios de campo simulado.	121
Figura 40. Atividade residual das pastilhas de curcumina microencapsulada em caixas d'água de 100 L expostas à luz solar.	128
Figura 41. Índice de germinação e índice de crescimento do modelo <i>Allium cepa</i> . CN) Controle negativo, CP) Controle positivo, Formulação das microcápsulas de curcumina nas concentrações de 1, 10 e 100 mg/L. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	129
Figura 42. Índice mitótico e índice de alterações celulares do modelo <i>Allium cepa</i> . CN) Controle negativo, CP) Controle positivo, Formulação das microcápsulas de curcumina nas concentrações de 1, 10 e 100 mg/L. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).	130
Figura 43. Curva de sobrevivência de larvas <i>G. mellonella</i> submetidas a microcápsula de curcumina e aos seus excipientes ao longo de 7 dias- análise de Kaplan-Meier. 500, 1000 e 2000 mg/L da microcápsula de curcumina.	132
Figura 44. Atividades que desempenha para o índice de saúde das larvas de <i>G. mellonella</i> . (A) Porcentagem da atividade locomotora. (B) Formação de casulo. (C) Porcentagem de melanização. (D) Índice total de saúde.	133

Lista de tabelas

Tabela 1. Estudos que utilizaram a técnica IFD com vários FS em diferentes vetores de doenças entre os anos de 2020 e 2025.....	52
Tabela 2. Concentração letal (CL _{25;50;90}) da formulação de curcumina em larvas de <i>Aedes aegypti</i> expostas por 24 h em diferentes temperaturas.....	64
Tabela 3. Atividade fotolarvicida de curcumina, microcápsula de curcumina e da pastilha de curcumina em larvas de <i>Ae. aegypti</i> após 24 h.....	103
Tabela 4. Concentrações letais (CL ₅₀ e 90) de curcumina em larvas de <i>Aedes aegypti</i> expostas por 24 h em laboratório.	104
Tabela 5. Valores da intensidade de luz mediante a altura dos recipientes de 1 L dos ensaios laboratoriais de persistência e reaplicação a cada 3 dias e a cada 15 dias.....	110
Tabela 6. Atividade fotolarvicida de pastilha de curcumina em larvas de <i>Ae. aegypti</i> após 24 h em campo simulado.	126

Sumário

1	CAPÍTULO – ESTUDO DA ARTE.....	14
2	CAPÍTULO – REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	INTRODUÇÃO	18
2.2	MECANISMO DE INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA	19
2.3	PRINCIPAIS CLASSES DE FOTOPESTICIDAS UTILIZADOS NA INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA	20
2.4	MECANISMOS DE MORTE CELULAR POR AÇÃO DE INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA CONTRA PRAGAS E INSETOS	24
2.5	AVANÇO RECENTE EM PRAGAS E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES	27
2.5.1	<i>Pragas agrícolas</i>	27
2.5.2	<i>Doenças transmitidas por vetores</i>	32
2.6	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	39
2.7	AVANÇOS DA IFD COM CURCUMINA COMO FOTOLARVICIDA CONTRA LARVAS DE <i>AE. AEGYPTI</i>	39
3	CAPÍTULO – AÇÃO FOTODINÂMICA LARVICIDA: CONTROLE VETORIAL EM CENÁRIOS DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS	42
3.1	INTRODUÇÃO	43
3.2	ECOLOGIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS E MUDANÇAS CLIMÁTICAS	43
3.3	EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO DO MOSQUITO E NA CAPACIDADE DO VETOR	44
3.4	MODELOS DE PREVISÃO	45
3.4.1	<i>Dengue</i>	47
3.4.2	<i>Malária</i>	48
3.4.3	<i>Febre amarela</i>	49
3.5	INFLUÊNCIAS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS NAS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE VETORES E TRANSMISSÃO DE DOENÇAS.....	49
3.6	PROCESSO FOTODINÂMICA COMO FERRAMENTA DE CONTROLE VETORIAL.....	50
3.7	PERSPECTIVAS DA AÇÃO FOTODINÂMICA PARA O CONTROLE VETORIAL EM UM CENÁRIO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS, CONSIDERANDO AS PESQUISAS ATUAIS	52
3.8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
4	CAPÍTULO – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA COMBINADA COM A INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA NO DESENVOLVIMENTO DO <i>Aedes Aegypti</i>	54
4.1	INTRODUÇÃO	55
4.2	OBJETIVOS	56
4.2.1	<i>Objetivo Geral</i>	56
4.2.2	<i>Objetivos Específicos</i>	56
4.3	MATERIAIS E MÉTODOS	57
4.3.1	<i>Experimental</i>	57
4.3.2	<i>Preparo da formulação do FSs</i>	58
4.3.3	<i>Ciclo de vida do vetor Aedes aegypti</i>	58
4.3.4	<i>Bioensaios</i>	59
4.3.5	<i>Parâmetros de desenvolvimento de indivíduos sobreviventes</i>	60
4.3.6	<i>Análises estatísticas</i>	60
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	60
4.4.1	<i>Taxa de eclosão</i>	61
4.4.2	<i>Tempo de desenvolvimento</i>	62
4.4.3	<i>Ensaio larvicidas</i>	64
4.4.4	<i>Análise de proporção sexual</i>	65
4.4.5	<i>Longevidade dos adultos</i>	66
4.4.6	<i>Análise de peso do inseto</i>	69
4.5	CONCLUSÕES	70

5	CAPÍTULO – FORMULAÇÕES DE MICROCÁPSULAS DE CURCUMINA PARA PERSISTÊNCIA PROLONGADA NA INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE LARVAS DE Aedes Aegypti	72
5.1	INTRODUÇÃO	73
5.2	OBJETIVOS	75
5.2.1	Objetivo Geral	75
5.2.2	Objetivos específicos	75
5.3	MATERIAIS E MÉTODOS	75
5.3.1	Produtos químicos	75
5.3.2	Processo de spray drying	76
5.3.3	Caracterização das microcápsulas de curcumina	78
5.3.4	Curva de calibração curcumina	78
5.3.5	Método de extração da curcumina microencapsulada	79
5.3.6	Liberação controlada	80
5.3.7	Ensaio de fotodegradação da curcumina microencapsulada	80
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	81
5.4.1	Espectroscopia UV-Vis	81
5.4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	82
5.4.3	Espectros infravermelhos (FTIR)	84
5.4.4	Microscopia confocal de fluorescência	88
5.4.5	Perfil de liberação da curcumina microencapsulada	89
5.4.6	Liberação em Condição Estática da Pastilha de curcumina	91
5.4.7	Análise de fotoestabilidade das pastilhas de curcumina	93
5.5	CONCLUSÕES PARCIAIS	94
6	CAPÍTULO – EFEITO DA INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA EM LABORATÓRIO DO FOTOLARVICIDA CURCUMINA EM LARVAS DO VETOR Aedes Aegypti.	95
6.1	INTRODUÇÃO	96
6.2	OBJETIVOS	96
6.2.1	Objetivo Geral	96
6.2.2	Objetivos específicos	97
6.3	MATERIAIS E MÉTODOS	97
6.3.1	Produtos químicos	97
6.3.2	Manutenção das larvas	98
6.3.3	Análise de IFD: eficácia larvicida	98
6.3.4	Análises laboratoriais de IFD persistência e reaplicação da curcumina microencapsulada	99
6.3.5	Monitoramento de parâmetros da solução dos recipientes em ensaios de IFD laboratório	100
6.3.6	Microscopia de fluorescência de varredura a laser confocal de larvas de Ae. aegypti	102
6.3.7	Análises estatísticas	103
6.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	103
6.4.1	Análise IFD: Eficácia larvicida laboratorial	103
6.4.2	Avaliação da persistência em laboratório	104
6.4.3	Avaliação dos ensaios de reaplicação da curcumina microencapsulada	105
6.4.4	Monitoramento de parâmetros da solução dos recipientes em ensaios de IFD laboratório	108
6.4.5	Processo de diluições da formulação da curcumina microencapsulada nos recipientes	112
6.4.6	Microscopia Confocal Larvas Ae. aegypti	115
6.5	CONCLUSÕES PARCIAIS	117
7	CAPÍTULO – ENSAIOS DE INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DO FOTOLARVICIDA CURCUMINA EM LARVAS DO VETOR Aedes Aegypti EM AMBIENTES RELEVANTES: CAMPO SIMULADO E ORGANISMOS NÃO-ALVO.	118
7.1	INTRODUÇÃO	119
7.2	OBJETIVOS	120
7.2.1	Objetivo Geral	120

7.2.2	<i>Objetivos específicos</i>	120
7.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	120
7.3.1	<i>Atividade larvica e investigação da persistência em aplicação de campo simulado</i>	120
7.3.2	<i>Análises: Ecotoxicidade</i>	122
7.3.3	<i>Análises estatísticas</i>	126
7.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	126
7.4.1	<i>Análises de campo simulado IFD</i>	126
7.4.2	<i>Atividade larvica e investigação da persistência em aplicação de campo simulado</i>	127
7.4.3	<i>Toxicidade aguda em peixes (Danio rerio)</i>	129
7.4.4	<i>Toxicidade Allium cepa</i>	129
7.4.5	<i>Toxicidade Galleria mellonella</i>	131
7.5	CONCLUSÕES PARCIAIS	134
8	CAPÍTULO – CONCLUSÕES GERAIS	135
8.1	CONCLUSÕES FINAIS.....	136
8.2	PERSPECTIVAS FUTURAS	138
	REFERÊNCIAS	140

1 CAPÍTULO – Estado da Arte

O controle do *Aedes aegypti*, vetor responsável pela transmissão de arboviroses como dengue, Zika e Chikungunya, representa um desafio crescente para a saúde pública global. A ampla disseminação do mosquito, associada à sua capacidade adaptativa e à resistência desenvolvida frente aos inseticidas químicos convencionais, evidencia a limitação das estratégias tradicionais de controle vetorial. Além disso, esses compostos podem atingir a biodiversidade e geram impactos ambientais negativos como: afetar espécies não-alvo, contaminação do solo e da água e bioacumulação em organismos vegetais. E finalmente, o cenário atual de mudanças climáticas tem favorecido a expansão geográfica e temporal do vetor, intensificando a incidência dessas doenças, especialmente em regiões tropicais e subtropicais.

Diante desse contexto, torna-se urgente a busca por alternativas, eficazes e ambientalmente seguras. A inativação fotodinâmica (IFD) surge como uma tecnologia promissora, por associar seletividade, baixa toxicidade residual e potencial de aplicação ambiental. Essa abordagem baseia-se na combinação de três componentes fundamentais: um fotossensibilizador (FS), uma fonte de luz com comprimento de onda adequado e oxigênio molecular, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) que induzem danos letais aos organismos-alvo.

A curcumina, é um curcuminóide extraído dos rizomas de *Curcuma longa*, destaca-se por suas múltiplas atividades biológicas, incluindo ação antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e comprovada atividade larvicida frente a vetores como *Ae. aegypti*. Além disso, apresenta propriedades fotossensibilizantes, que combinada com a luz tem um potencial fotolarvicida por meio da produção de EROs. Entretanto, o uso prático da curcumina enfrenta limitações significativas, especialmente relacionadas à baixa solubilidade em água e à instabilidade frente a condições ambientais adversas, como irradiação, variações de pH e temperatura. Essas características resultam em rápida degradação e redução da eficácia biológica, comprometendo seu potencial como agente de controle de vetores em ambientes naturais.

Nesse contexto, o desenvolvimento de novas formulações, como sistemas de encapsulamento, busca superar essas limitações, proporcionando maior proteção contra degradação, melhorando a dispersão em meios aquosos e liberação controlada do ativo. Essas estratégias não apenas aumentam a eficácia larvicida e fotodinâmica da curcumina, mas também pode reduzir a necessidade de reaplicações e minimizar impactos sobre organismos não-alvo, contribuindo para práticas de manejo mais sustentáveis.

Assim, este estudo investiga a curcumina em suas formas livre, co-cristalizada, microencapsulada e a caracterização dessas formulações, visando otimizar sua estabilidade e solubilidade, garantir maior eficiência com ensaios de condições laboratoriais e de campo simulado e aplicabilidade em condições ambientais com estudos de ecotoxicidade. A estrutura do trabalho está dividida da seguinte forma:

Capítulo 2: Apresenta o referencial teórico onde serão abordados os aspectos e mecanismos da técnica da IFD como uma ferramenta para o controle de larvas de *Ae. aegypti* e outras pragas. A importância da IFD e as pesquisas que relatam o uso dessa técnica no manejo de pragas e insetos vetores serão evidenciadas. Além disso, a última seção abordará os avanços nos últimos anos da IFD com a curcumina como um fotolarvicida

Capítulo 3: Serão discutidas questões relacionadas às mudanças climáticas, incluindo a problemática do aumento na incidência de doenças, a influência desses fatores no ciclo de vida dos vetores e na disseminação de doenças, projeções através de modelos de previsão além do impacto dessas mudanças nos métodos de controle de vetores, incluindo IFD.

Capítulo 4: Avalia a influência da temperatura, uma das variáveis das mudanças climáticas que mais interfere no ciclo de desenvolvimento de vida o *Ae. aegypti* combinando o processo de IFD com o FS curcumina. A formulação co-cristalizada foi utilizada a base de curcumina e D-manitol. E as temperaturas investigadas foram 20, 25, 30 e 35 °C, além de parâmetros do ciclo de vida do *Ae. aegypti* analisados, como a taxa de eclosão, desenvolvimento de larvas, pupas e adultos. Ensaios fotolarvicidas foram realizados para determinar os valores de CLs (CL_{25;50;90}), a razão sexual, longevidade dos mosquitos e seu peso.

Capítulo 5: Detalha o desenvolvimento, caracterização e estabilidade de uma formulação a base de curcumina microencapsulada. Serão utilizadas técnicas de espectroscopia de absorção no ultravioleta visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia confocal e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). O perfil de liberação e a análise de fotoestabilidade, também serão abordados.

Capítulo 6: Apresenta os ensaios laboratoriais da formulação baseada na curcumina microencapsulada para a validação de um fotolarvicida de acordo com as normas da Organização Mundial da Saúde (OMS). Neste âmbito, será apresentada a determinação das concentrações ideais para a aplicação, persistência da formulação em laboratório e a reaplicação da formulação avaliada em condições de laboratório.

Capítulo 7: Aborda o avanço para a segunda etapa de validação das microcápsulas de curcumina como fotolarvicida, seguindo as diretrizes da OMS partindo para o campo simulado, a determinação de concentrações letais e persistência. E a avaliação dos efeitos de ecotoxicidade em organismos não-alvo, como *Danio rerio*, *Allium cepa* e *Galleria mellonella*

Capítulo 8: Apresenta as conclusões gerais e discute perspectivas futuras para o desenvolvimento e aplicação de fotolarvicidas à base de curcumina como alternativa sustentável no controle de vetores.

Dessa forma, espera-se que os resultados obtidos ao longo desta tese contribuam significativamente para o avanço científico na área de controle vetorial, ampliando o conhecimento sobre o uso da IFD utilizando curcumina como FS, demonstrando o potencial de formulações inovadoras para superar suas limitações de solubilidade e estabilidade. Além disso, pretende-se oferecer resultados que favoreçam a validação de fotolarvicidas como alternativa eficaz, e ambientalmente segura frente aos desafios impostos pelos inseticidas convencionais e as mudanças climáticas. Com isso, este trabalho busca colaborar para o desenvolvimento de estratégias mais sustentáveis e integrar ao controle de vetores, alinhadas à saúde pública e conservação da biodiversidade.

2 CAPÍTULO – Referencial Teórico

Uma versão adaptada deste capítulo foi publicada em:
LIMA, Alessandra R. et al. A look at photodynamic inactivation as a tool for pests and vector-borne diseases control. **Laser Physics Letters**, v. 19, n. 2, p. 025601, 2022.
Doi: 10.1088/1612-202X/ac4591

2.1 Introdução

O controle de pragas e doenças transmitidas por vetores (DTV) ainda é um grande desafio para os comitês sanitários, setor econômico e comunidade científica em todo o mundo (Bos, 1992; Van Gompel; Van Bortel, 2008). As pragas causam diminuição na densidade das plantas, crescimento atrofiado, menor capacidade de produção e diminuem o rendimento ou a natureza dos produtos hortícolas (Agarwal; Verma, 2020) resultando em até 40% da perda global de produção agrícola e causando um custo para a economia global de cerca de 220 mil milhões de dólares (FAO, 2019). Por outro lado, as DTVs podem ser infecções como Chikungunya, Dengue, Malária e Zika. As DTVs são caracterizadas pela transmissão de patógenos (parasitas, bactérias ou vírus) entre humanos, ou de animais para humanos por mosquitos, triatomíneos, moscas negras e outros artrópodes (Chan et al., 2020; Eder et al., 2018). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) estas infecções são responsáveis por mais de 17% de todas as doenças infecciosas em todo o mundo, resultando em mais de 700 000 mortes anualmente (WHO, 2020).

A gestão de pragas e DTVs tem desempenhado um papel fundamental no alcance do atual nível do abastecimento alimentar internacional e na diminuição do número de mortes por infecções, respectivamente (Waterfield; Zilberman, 2012). Na era pós-segunda Guerra Mundial, o design, desenvolvimento e a utilização de pesticidas e inseticidas químicos cresceram rapidamente e se tornaram uma metodologia predominante (Özkara; Akyil; Konuk, 2016). No entanto, este tipo de produto possui algumas limitações e desvantagens para a saúde humana e ambiental (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016) como: i) efeitos no desenvolvimento embrionário (Karami-Mohajeri; Abdollahi, 2011), ii) alterações hematológicas e hepáticas (Freire; Koifman; Koifman, 2015); iii) acúmulo de resíduos tóxicos no solo (Aktar; Sengupta; Chowdhury, 2009). Outros métodos para controle de pragas e vetores foram relatados como abordagens biológicas, mecânicas e a adoção de variedades geneticamente modificadas (GM). Ao longo dos anos vêm surgindo novos métodos de controle baseados em tecnologias promissoras como a fotônica, que em uma das suas áreas de atuação contempla a IFD (Bellini; Zeller; Van Bortel, 2014; Dias et al., 2020a; Wisner; Adams, 2003).

O processo de IFD desperta grande atenção devido à sua eficiência e segurança para inativação de pragas e vetores. Esta abordagem é caracterizada pela combinação de um inseticida fotossensibilizante, oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$), e uma fonte de luz, resultando na produção de

espécies reativas de oxigênio (EROs) como ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila ($HO^{\cdot}$) e o oxigênio singlete (1O_2), que podem promover danos oxidativos celulares em pragas e vetores (Detty; Gibson; Wagner, 2004; Huang; Dai; Hamblin, 2010)

2.2 Mecanismo de inativação fotodinâmica

O mecanismo de ação da IFD ocorre por meio de processos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos com base em um fotossensibilizador (FS) produzindo EROs que são capazes de inativar diversos organismos patogênicos, como insetos vetores, pragas, vírus, bactérias e parasitas. A ação da IFD envolve a ação combinada de três componentes fundamentais: i) FS; ii) fonte de luz com comprimento de onda apropriado e iii) oxigênio molecular (3O_2). O mecanismo do IFD pode ser explicado pelo diagrama de Jablonski simplificado (**Figura 1**).

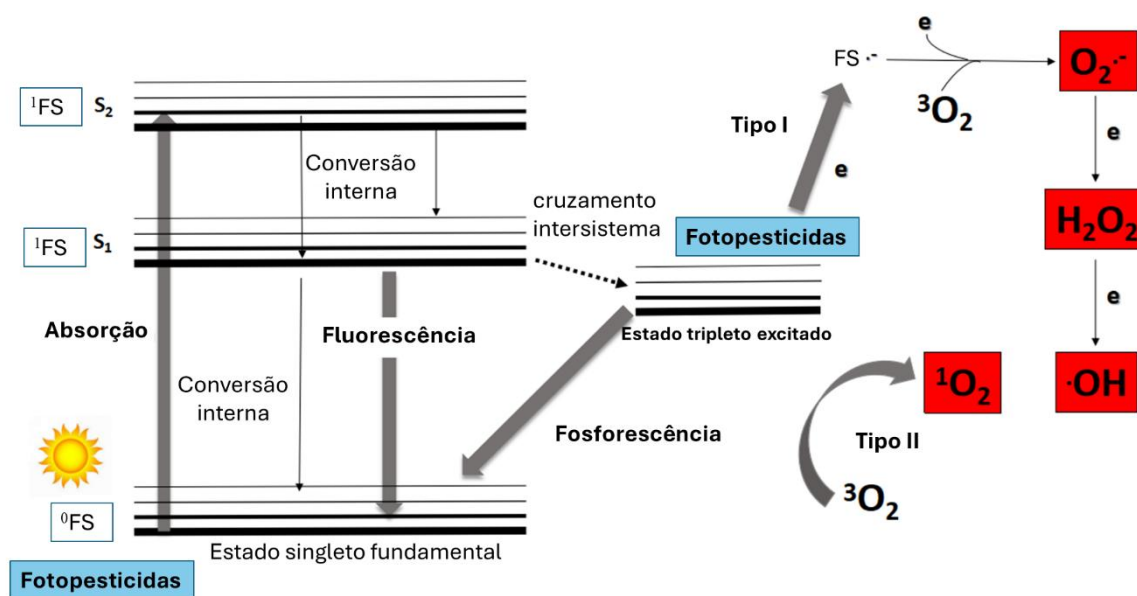


Figura 1. Diagrama de Jablonski simplificado mostrando o mecanismo geral de ação do IFD.

Primeiramente, a absorção de um fóton pelo FS promove sua passagem para um estado de maior energia que pode sofrer reações fotoquímicas e estados eletrônicos: estado fundamental (S_0), estado excitado singlete (S_1) e estado tripleto excitado (T_1). (Ana N. Castano, Tatiana N. Demidova, 2004; Dąbrowski, 2017; Detty; Gibson; Wagner, 2004) (**Figura 1**). Quando um FS absorve fótons com uma energia específica, ocorrem transições eletrônicas dos níveis S_0 para S_1 e

desencadeiam processos não radiativos e radioativos. Os processos não radiativos envolvem relaxamento vibracional (RV), conversão interna (CI), conversão externa (CE) e cruzamento intersistema (CIS), bem como fluorescência e fosforescência, apresentado na **Figura 1** (Ana N. Castano, Tatiana N. Demidova, 2004; Dąbrowski, 2017; Plaetzer et al., 2009).

Em relação ao mecanismo IFD, após a luz ser absorvida pelo FS, ocorre um processo CIS que envolve estados eletrônicos de diferentes multiplicidades de spin ($S_1 \rightarrow T_1$). Este processo pode resultar em emissão de fosforescência ou reações fotoquímicas, nomeado mecanismo tipo I e tipo II (Dąbrowski, 2017; Jori, 1985a). No mecanismo tipo I, o estado T_1 interage diretamente com um substrato, membrana celular ou molécula adjacente e ocorre a transferência de elétrons ou abstração de prótons, estimulando a formação de espécies radicais, que podem reagir com 3O_2 para formar espécies reativas de oxigênio (EROs), por exemplo: H_2O_2 , O_2^- , $\cdot OH$ (Abrahamse; Hamblin, 2016; Dąbrowski, 2017; Detty; Gibson; Wagner, 2004; Plaetzer et al., 2009; Wainwright et al., 2017).

O mecanismo do tipo II é caracterizado pela transferência de energia do estado T_1 da molécula de FS para o 3O_2 , formando o 1O_2 . Os mecanismos Tipo I e Tipo II podem atuar simultaneamente na ação fotodinâmica, oxidando biomoléculas como proteínas, lipídios, aminoácidos (triptofano, tirosina, histidina, metionina, cisteína, cistina), carboidratos e ácido nucléico. Estas reações dependem do tipo de FS, dos seus potenciais de oxidação e da quantidade de oxigênio dissolvido no meio celular (Abrahamse; Hamblin, 2016; Baptista et al., 2017; Detty; Gibson; Wagner, 2004; Midden; Dahl, 1992; Plaetzer et al., 2009). Este processo pode ser utilizado para controle populacional de insetos e pragas, dando origem a um processo fotoinseticida.

2.3 Principais classes de fotopesticidas utilizados na inativação fotodinâmica

Os fotossensibilizantes que atuam como fotopesticidas e fotoinseticidas possuem propriedades fotoquímicas, fotofísicas e fotobiológicas que os qualificam como responsáveis pelo processo IFD (Ana N. Castano, Tatiana N. Demidova, 2004; JORI, 1996; BEN AMOR; JORI, 2000). As propriedades das substâncias classificadas para IFD devem atender a alguns critérios: i) ser quimicamente puras, obter por processos simples de síntese ou extração e estáveis durante o armazenamento; ii) preferencialmente solúvel em água para facilitar a entrada no organismo alvo, ou solúvel numa mistura de solventes aquosos inofensivos; iii) apresentar toxicidade mínima para humanos e animais, ou seja, não deve ser genotóxico ou mutagênico, não gerar novos subprodutos

tóxicos e ser citotóxico apenas na presença de luz; iv) ser retido pelo tecido alvo; v) ter rendimento quântico substancial de produção de tripletos para permitir o evento fotoquímico na geração de EROs após a irradiação e; vi) apresentar alto coeficiente de absorvidade molar para ocorrer ativação em comprimento de onda não ionizante (Ana N. Castano, Tatiana N. Demidova, 2004; Ben Amor; Jori, 2000; Castano A P, Dmidova T N, Hamblin, 2014; Dougherty, 1993).

Os fotopesticida e fotoinseticidas representam uma alternativa promissora aos produtos químicos convencionais usado na demanda de controle de praga e inseto. Os principais FSs (sintéticos ou naturais) mais recentes investigados como fotopesticidas ou fotoinseticida no processo IFD pertencem a diversas estruturas moleculares, como derivados de xanteno (rosa bengala, lactona amarela eosina), porfirinas (hematoporfirina, clorofilina, feoforbídeo, Photogem, porfirina catiônica (C14); tetracloreto de meso-tetra(4-n,n,n-trimetilanilínio) porfina, dicloridrato de ácido meso-tetrafenilporfina dissulfônico), fenotiazinas (azul de metileno, azul de metileno eosina), ftalocianina (amino-ftalocianinas, piridiloxi Si-ftalocianina) e curcumina (**Figura 2**).

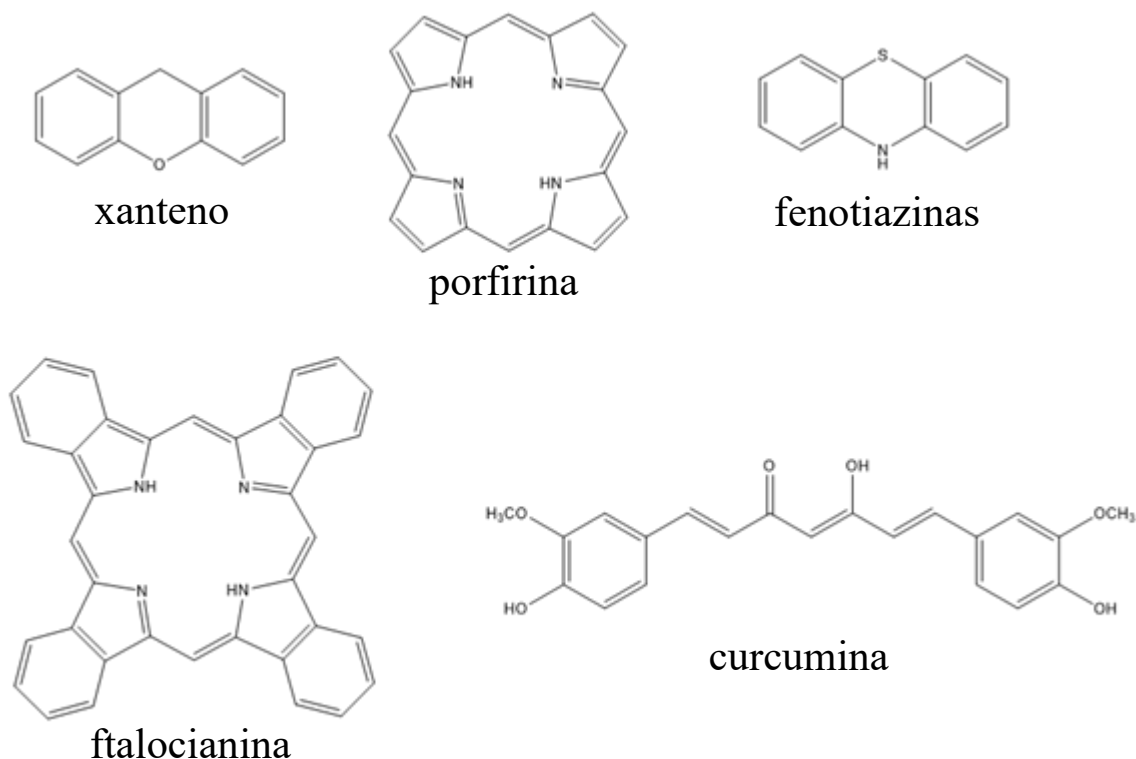


Figura 2. Estruturas moleculares gerais de derivados fotossensibilizantes naturais e sintéticos investigadas na inativação fotodinâmica de insetos pragas.

Os FSs da classe dos xantenos são compostos aniônicos cíclicos com três anéis aromáticos em arranjo linear com um átomo de oxigênio no centro do anel (**Figura 2**) (Schäfer et al., 2000; Tseng; Feenstra; Watson, 1994). Os foto inseticidas/ fotopesticidas desta família foram os primeiros a serem utilizados no controle de pragas. São solúveis em água, apresentam intensas bandas de absorção na região verde do espectro visível, com absorbância máxima entre 480 e 550 nm. Porém, podem ocorrer deslocamentos na posição da banda de absorção para a região vermelha devido ao número de substituintes halogênicos (bromo ou iodo) na estrutura da molécula. Esses substituintes influenciam a eficiência fotodinâmica dos xantenos e aumentam o rendimento de CIS para o estado T_1 , favorecendo a formação de 1O_2 (Stracke; Heupel; Thiel, 1999) que atua no processo de IFD. Existem também processos paralelos envolvendo radicais devido a ligações covalentes entre halogênios e anéis aromáticos.

As fenotiazinas são moléculas catiônicas que possuem estrutura heterocromática tricíclica planar conjugada (**Figura 2**), e conforme as condições do meio podem formar agregados, possuem caráter hidrofílico. As características estruturais dos corantes fenotiazínicos proporcionam capacidade de absorver luz em uma faixa de comprimentos de onda (~250-360 nm; ~430-520)

sendo maiores na região ~600-700 nm. Da classe das fenotiazinas, o fotossensibilizante mais utilizado atualmente nos processos fotodinâmicos é o azul de metileno. Quando absorve energia de uma fonte de luz, ocorre a transferência de energia para O₂ formando EROs, mediado por (¹O₂) que reage oxidando as biomoléculas alvo (Tardivo et al., 2005; Vara et al., 2019; Wainwright; Grice; Pye, 1999).

As porfirinas são compostos que tem a base natural que apresentam uma classe de moléculas que possuem macrociclos de tetrapirrol com conjugação de 18 π elétrons deslocalizados. A estrutura química (**Figura 2**) das porfirinas pode ser modificada em diferentes níveis, incorporando substituintes nas posições periféricas dos anéis pirrólicos (posição beta) ou nos átomos de mesocarbono, os íons metálicos podem ser coordenados ao centro do macrociclo tetrapirrólico e ligantes axiais para o íon metálico (Hiroto; Miyake; Shinokubo, 2017; Kielmann et al., 2017; Rossi et al., 2020). Estas moléculas possuem um intenso espectro de absorção característico de ~400 nm (banda Soret), resultante da transição eletrônica π - π^* do sistema conjugado deslocalizado, e quatro bandas Q de menor intensidade entre as regiões de $\approx$ 500 a 700 nm (Ben Amor; Jori, 2000; Phillip, 1963). As porfirinas são FSs eficientes, produzindo estados tripleto de maior rendimento quântico (0,6), resultando em alta formação de ¹O₂ (Ben Amor; Jori, 2000).

Em relação às ftalocianinas, estes FSs apresentam um caráter aromático (**Figura 2**) que intensifica a absorção na região do infravermelho próximo ($\approx$ 670-780 nm). As ftalocianinas fornecem uma gama de derivados, devido à inclusão de átomos metálicos ou semimetálicos (Al, Ga, Si, Zn) no centro do macrociclo e à funcionalização da cadeia lateral (Van Leeuwen et al., 2014). Este fato contribui para melhorar as propriedades fotofísicas e fotoquímicas em comparação às ftalocianinas originais, produzindo um longo tempo de vida triplo e alto rendimento de formação quântica de espécies ¹O₂ (Van Leeuwen et al., 2014; Yanik et al., 2009), e sua ação como inseticidas e pesticidas fotodinâmicos.

A curcumina tem atraído pesquisadores de diversas áreas da química, física, biologia e medicina, devido às suas propriedades como antimicrobianas, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antioxidantes. Este composto é um derivado da *Curcuma longa* Linn, presente no rizoma de uma planta do gênero *Curcuma*, família *Zingiberaceae* (Sueth-Santiago et al., 2015). Sua estrutura química (**Figura 2**) mostra dois grupos o-metoxifenóis ligados através de bis- α , β -dicetona β -insaturada, que pode induzir tautomerismo ceto-enol (Priyadarsini, 2014). Este fato confere à

molécula propriedades fotofísicas e fotoquímicas interessantes, que podem variar de acordo com o solvente orgânico, absorção máxima entre as regiões de ~420-450 nm, emissão na região ~460-560 nm, rendimento de fluorescência e deslocamento de Stokes (Nardo et al., 2011; Priyadarsini, 2009).

A formação do estado excitado T_1 e 1O_2 pode ser influenciada pela natureza da ligação de hidrogênio e pela polaridade dos solventes. Estas propriedades da curcumina são responsáveis pelos processos de fototoxicidade associados à produção de 1O_2 e EROs (Dias et al., 2020a). A curcumina é altamente hidrofóbica em água, sua solubilidade pode ser melhorada com a adição de polímeros, lipídios, proteínas, ciclodextrinas, solventes orgânicos (metanol, dimetilsulfóxido e etanol) e surfactantes (Priyadarsini, 2009).

Atualmente, os agrotóxicos fotoativáveis têm se destacado no controle de pragas agrícolas e vetores de arboviroses, pois apresentam multiplicidade de bandas de absorção e podem ser ativados pela luz solar natural, luz branca artificial fluorescente e diodo emissor de luz (LED). Também podem ser aplicados em solução aquosa ou formulados com atrativos e suas propriedades fotofísicas e fotossensibilizantes foram avaliadas em vários meios e permaneceram eficazes (Jori, 1985a). A principal vantagem dos compostos fotoativáveis é a toxicidade mínima no escuro para organismos não-alvo. Outro ponto importante que pode ser destacado é que os compostos são fotoinduzidos ao processo de degradação, reduzindo danos e impactos ao meio ambiente (Dias et al., 2020a).

2.4 Mecanismos de morte celular por ação de inativação fotodinâmica contra pragas e insetos

Os mecanismos celulares demonstrados na literatura envolvendo estruturas celulares de insetos vetores e pragas agrícolas, tratados com ação fotodinâmica, podem atuar através de duas vias tipo I e tipo II, gerando EROs e 1O_2 por reação com biomoléculas e O_2 causando fototoxicidade no alvo. A escolha do tipo de fotoinseticida ou fotopesticida é fundamental, uma vez que a estrutura química define os locais onde podem ocorrer danos fotodinâmicos subcelulares e seu desempenho em termos de fototoxicidade (Ben Amor; Jori, 2000; Jori, 1996).

Os principais alvos biológicos do processo de sensibilização fotodinâmica são os aminoácidos triptofano, tirosina, histidina, metionina, cisteína, oleico, linoleico, linolênico,

aracídico, colesterol e guanina. Esses são ácidos que possuem cadeias laterais aromáticas ou contendo enxofre. As ligações duplas carbono-carbono de lipídios insaturados e esteroides, bem como o anel heterocíclico de nucleotídeos de guanina, podem gerar reações de fotossensibilização oxidando uma infinidade de componentes biológicos geralmente ligados às membranas celulares, que revestem o inseto e praga e são essenciais para os processos enzimáticos e vias metabólicas (Ben Amor; Jori, 2000; Mangan; Moreno, 2001). Essas reações são tóxicas e resultam na morte do inseto-praga (Fairbrother et al., 1981).

O mecanismo de ação celular baseado em pesticidas e inseticidas fotoativáveis pode afetar o desenvolvimento do inseto-praga desde as larvas, pupas até a fase adulta com alterações nas anormalidades morfológicas e fisiológicas (Mezzacappa et al., 2021; Pimprikar; Norment; Heitz, 1979). O exemplo selecionado, mostra que o produto inseticida pode se acumular no intestino da larva de *Ae. aegypti*, levando a fotodanos nos intestinos anterior, médio e posterior quando iluminados. Nesse sentido, as **Figuras 3A e 3B** mostram larvas de *Ae. aegypti* (3º estágio) na ausência e presença de curcumina como fotoinseticida, respectivamente. Estes são os principais locais afetados pelo processo de fotossensibilização dentro do intestino da larva (Salama, 2014; Venturini et al., 2020).

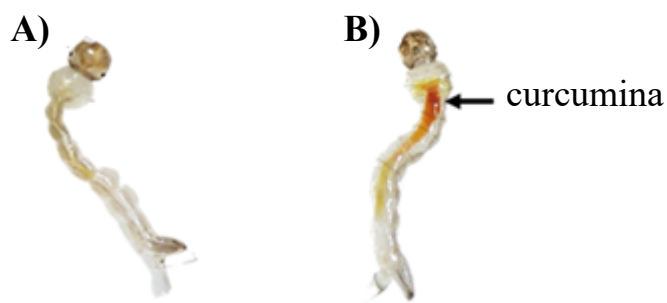


Figura 3. Larvas de *Aedes aegypti* no 3º estágio A) Sem FS e B) com FS curcumina.

O fotodano ocorre na parte ultraestrutural que gera alterações no tubo digestivo, como acúmulo de vacúolos nas células epiteliais, alterações nos túbulos de Malpighi, tecido adiposo afetando a bainha neuromuscular, aumento da produção de vesículas secretoras, mitocôndrias de formato irregular, constrição do lúmen (descolamento celular) e desorganização da cutícula, levando à larva ou inseto a morte (Ben Amor et al., 1998; Robinson, 1983; Salama, 2014; Venturini et al., 2020). Este mecanismo de fotossensibilização pode ocorrer através do apoptose autofágico

(Liang et al., 2016). As imagens ultraestruturais representam algumas modificações (**Figura 4**) podendo ser alterações na constrição do lúmen, proliferação celular, desorganização da cutícula e formação de vacúolos que podem ser causadas pelo processo fotodinâmico em larvas de 3º estágio do vetor *Ae. aegypti* quando expostas ao FS curcumina (Venturini et al., 2020).

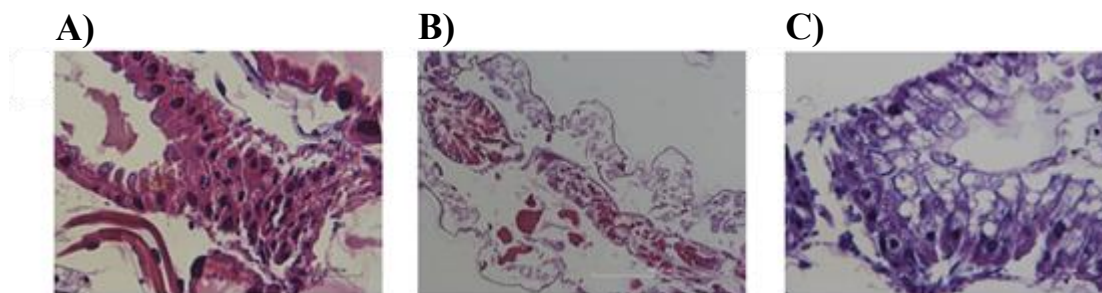


Figura 4. Ultraestruturas de larvas de *Aedes aegypti* em 3º estágio submetidas ao FS curcumina, cortes corados em hematoxilina e eosina (HE): A) Constrição do lúmen, proliferação celular B) Desorganização da cutícula e, C) Formação de vacúolos.

Os fotopesticidas também afetam a permeabilidade da membrana, o que influencia os níveis de potássio presentes na hemolinfa, resultando em volume reduzido, permitindo que os fluidos hemocelular preencham o canal alimentar do inseto (Weaver; Butler; Yoho, 1976). As membranas celulares podem ser deterioradas pela ação oxidativa multi-sítio do processo IFD (Fairbrother et al., 1981), ação leva a um menor risco de seleção de resistência em insetos-praga (Amor; Bortolotto; Jori, 2000).

Nas células de ovário de insetos, a fotossensibilização induzida mostrou diminuição da viabilidade celular, alterando o ciclo celular e a apoptose, aumentando o nível de formação de EROs intracelular e a produção de malonaldeído (MDA). Além de causar uma diminuição nas atividades da peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) peroxidase (POD) relacionadas ao estresse oxidativo das IFD (Huang et al., 2017). Nas células, o foto inseticida pode estar localizado principalmente na região dos lisossomos (Liang et al., 2016).

Em geral, larvas de insetos-praga de primeiro *instar* são mais suscetíveis à ação fotodinâmica do que larvas de 4º *instar* (Pimprikar; Norment; Heitz, 1979). O tratamento com fotopesticidas pode alterar o processo de ecdise, que permanece ligado ao exoesqueleto, retardando o desenvolvimento do ciclo de vida do inseto, além de afetar a formação de quitina na fase pupal, não completando a metamorfose (Mezzacappo et al., 2021; Pimprikar; Norment; Heitz, 1979). Os

insetos adultos resultantes do processo tratado com IFD revelaram alterações nas proporções sexuais, redução na longevidade, no tamanho das asas de fêmeas e machos (Mezzacappo et al., 2021). Fêmeas adultas são afetadas com uma redução no número de ovos depositados e têm pouca viabilidade. Ovos que são submetidos à fotossensibilização têm menor probabilidade de eclodir e larvas completam o ciclo de vida até a fase adulta do inseto (Ben Amor; Jori, 2000). Nos insetos adultos alimentados com fotopesticidas, as fêmeas apresentaram maior quantidade em seus corpos do que os machos, resultando em morte mais rápida pelo processo de IFD (Lukšienė et al., 2007).

2.5 Avanço recente em Pragas e Doenças Transmitidas por Vetores

As estratégias de controle de pragas agrícolas e insetos vetores são baseadas nas fases adulta e larval. O controle químico é o principal meio utilizado pelos programas convencionais de manejo de pragas e vetores, consistindo na utilização de compostos de origem orgânica ou inorgânica (inseticidas, fungicidas, pesticidas, acaricidas) para reduzir a população-alvo invasora (Lorenzo; Vidal; Zarbin, 2014; Pimentel, 2009). O uso extensivo de produtos químicos tem levado à seleção de organismos resistentes à maioria das classes de compostos utilizados pelos programas de controle (Labbé et al., 2011; Pimentel, 2009; Wainwright, 2017). Além da contaminação do meio ambiente e risco à saúde humana devido ao uso excessivo. O processo de IFD surge como uma ferramenta promissora que pode ser aplicada para reduzir pragas, vetores e infestações ambientalmente seguras (Wainwright, 2017).

2.5.1 Pragas agrícolas

As pragas agrícolas representam um desafio significativo para a produção agrícola em todo o mundo. Aqui estão alguns dos problemas mais comuns associados às pragas agrícolas: (i) Perda de produção: as pragas podem destruir uma grande parte das colheitas, reduzindo significativamente a produção agrícola e qualidade reduzida: danos causados pelas pragas podem comprometer a qualidade dos produtos, tornando-os menos desejáveis para o consumo ou venda, (ii) Danos a espécies não-alvo: Pesticidas podem afetar organismos benéficos, como polinizadores e predadores naturais das pragas e a contaminação do solo e da água: o uso excessivo de pesticidas pode levar à contaminação do solo e dos recursos hídricos, impactando a biodiversidade e a saúde

humana, (iii) Desenvolvimento de Resistência: O uso repetitivo e inadequado de pesticidas pode levar ao desenvolvimento de resistência em populações de pragas, tornando os tratamentos menos eficazes e custo aumentado: a resistência pode exigir o uso de pesticidas mais caros ou em quantidades maiores para obter o mesmo nível de controle.

A aplicação de diversos compostos fotossensibilizantes tem sido demonstrada para o controle de pragas. Para descrever a eficiência do processo de IFD, parâmetros como FS, solvente, concentração, tempo de incubação, fonte de luz, dose e qual praga-alvo são apresentados os próximos parágrafos.

Em 1998, Amor e coautores (Ben Amor et al., 1998) avaliaram a eficiência da hematoporfirina IX (HpIX) como inseticida fotoativável contra *Ceratitis capitata* (mosca do Mediterrâneo) e *Bactrocera oleae* (mosca da azeitona). Os insetos foram alimentados com uma isca proteica contendo quantidades micromolares de HpIX (8 $\mu\text{mol/mL}$) e irradiados com uma lâmpada halógena na fluência de 1220 e 2080 $\mu\text{E s l m}^{-2}$ para *C. capitata* e *B. oleae*, respectivamente. Os resultados mostraram que o HpIX causou 100% de mortalidade durante a exposição de 1 h à luz. Segundo os autores, a mosca *B. oleae* é menos fotossensível que a *C. capitata*.

Beni e colaboradores (Berni; Rabossi; Quesada-Allué, 2003) avaliou a atividade fotosinseticida da floroxina B, pertencente à classe dos xantenos, na forma imatura da mosca-das-frutas do Mediterrâneo *C. capitata*. Neste estudo, a solução fotossensibilizante foi preparada com ração larval à base de cenoura (25,0 g) misturada com 9 mL de suco de laranja padronizado contendo florinona B na faixa de concentração de 0,1-10 mM. Insetos que foram mantidos no escuro na presença de floroxina B apresentaram toxicidade na mudança do exoesqueleto (ecdise) para adultos, cuja concentração letal (CL) foi CL_{50} 11,03 mM. A exposição de larvas de *C. capitata* à luz foi realizada com lâmpadas fluorescentes a 47 μmol de fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ por 8 h. Os resultados mostraram que a luz potencializou a toxicidade da floroxina B em larvas de *C. capitata* com CL_{50} 0,45 mM.

Em 2016, Fracarolli e colaboradores (Fracarolli et al., 2016) investigaram a eficiência de várias furocumarinas e cumarinas naturais como FS para inativar o fungo fitopatogênico *Colletotrichum acutatum*, presente em folhas da planta *Citrus sinensis*, com exposição a luz solar in vitro. Os compostos utilizados foram: 8-metoxipsoraleno, furocumarinas (8-MOP), 2-cromeno-2-ona-cumarinas (cumarina), 7-hidroxycumarina, isopforminelina (5,8-dimetoxipsoraleno) e uma

mistura 3:1 de 7-metoxicumarina e citropreno (5,7-dimetoxicumarina). Extratos brutos de óleo de casca de limão tahiti e óleo essencial de toranja vermelha e branca também foram avaliados. Os FSs foram avaliados na concentração de 50 μM , misturas e extratos de 12,5 mg/L em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1%, utilizando um tempo de incubação de 30 min e expostos à radiação por 1 hora. Os efeitos da IFD foram analisados nas folhas da planta hospedeira *Citrus sinensis*. Os autores identificaram que o FS 8-MOP apresentou maior eficácia, eliminando 100% dos conídios, as misturas de cumarinas e isopimpinellina tiveram uma taxa de mortalidade de 99% e 64% dos conídios, respectivamente. O processo de IFD com os extratos mostrou taxas de mortalidade de 20% a 70% de conídios, sendo o extrato de limão Tahiti o mais eficiente. Após o tratamento com IFD, os compostos ou extratos sensibilizantes não foram observados danos as folhas de laranja doce.

Em 2018, Martins e coautores (Martins et al., 2018) relataram o uso de FS derivado de porfirinas tricacionais (TriPy+-Me-) e irradiação luminosa para fotoinativação de *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* (Psa) *in vitro* e *ex vivo* em folhas de kiwi naturais e artificialmente contaminadas. O estudo *in vitro* avaliou porfirina preparada em DMSO e diluída em solução salina tamponada com fosfato (PBS) concentração de 5,0 μM e irradiação de luz branca artificial 4 mW cm^{-2} . Os testes foram realizados com fotossensibilizador 50 μM em folhas de kiwi contaminadas artificialmente (*ex vivo*), sob diferentes condições de irradiação de luz branca artificial (4 mW. cm^{-2}), luz solar (23 e 60 mW. cm^{-2}) e inoculação. As folhas naturais de Kiwi contaminadas por Psa foram avaliadas sob irradiação solar (23 e 60 mW cm^{-2}) e concentração de 50 μM do FS. Os autores observaram *in vitro* que o fotossensibilizador na concentração de 5 μM reduziu 7,4 log com IFD após 60 min de irradiação. Os testes *ex vivo* com folhas contaminadas artificialmente tiveram uma inativação de 2,8 e 4,5 log com luz artificial e luz solar, após 90 min, respectivamente. O processo IFD em folhas naturalmente contaminadas apresentou potencial de redução de 2,3 log após 90 min de irradiação solar.

Jiang e coautores (Jiang et al., 2020) avaliaram a eficiência do 2,6-diiodo-1,3,5,7-tetrametil-8-(ácido P-benzóico)-4,4'-difluoroboradiazaindaceno (DIBDP) e sua associação com adjuvantes para formar complexo FS (FSC) prevenindo a degradação com radiação e inativando *Xanthomonas citri* subsp. *citri* cepa (*Xcc* 29-1) que causa cancro cítrico. O efeito antimicrobiano da DIBDP foi avaliado em PBS na faixa de concentração entre 10-4,5-10-9,5 μM irradiada com uma potência do simulador solar de 80 mW. cm^{-2} por 1 minuto. O valor da concentração inibitória mínima (CIM)

para a FSC foi medido na faixa de concentração de 0,12-124 $\mu\text{g/mL}$ e iluminado com um simulador solar a 4,8 J cm^{-2} . Neste estudo, os autores observaram que a concentração inibitória (CI_{50}) para FSC foi de 0,26 μM , 7,3 vezes menor que 1,9 μM para DIBDP isoladamente, mostrando aumento da atividade antimicrobiana na presença do agente adjuvante. Em comparação com os sais de cobre no controle preventivo bacteriano convencional, a FSC apresentou CIM de 7,75 $\mu\text{g/mL}$, valor 64 vezes menor que o do cobre (CIM 500 $\mu\text{g/mL}$) e baixa toxicidade para as folhas hospedeiras.

Ambrosini e coautores (Ambrosini et al., 2020) descreveram o uso de porfirina (5,10,15,20-(tetra-4-sulfonatofenil)tetra-amônio porfirina (TPPS) em estratégias de controle contra *Botrytis cinerea*. O crescimento do micélio de *B. cinerea* foi avaliado com TPPS na faixa de concentração de 0,5-3,5 μM preparado em água destilada e irradiado com luz branca (densidade de fluxo de fótons 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Na epiderme de folhas destacadas de três variedades de uva com dois meses de idade (Chardonnay, Merlot e Sauvignon), discos de micélio infectados com *B. cinerea* foram adicionados na parte superior e expostos a uma concentração de 12,5-50 μM por 72 h de luz branca. Finalmente, as folhas das videiras com 2 meses de idade foram infectadas com micélio de *B. cinerea* com 4 dias de idade, pré-incubados ou não com TPPS. Os autores observaram que o TPPS tinha concentração fungicida mínima (CFM) de 1,5 μM e a luz inibiu completamente o crescimento micelial de *B. cinerea*. Nos três nas variedades de uvas avaliadas com TPPS, o crescimento micelial, pré-tratado com 12,5 μM de TPPS, não foi completamente inibido. Contudo, após um pré-tratamento de 50 μM de TPPS, o crescimento do micélio foi completamente inibido na superfície da folha. O micélio pré-tratado não foi capaz de infectar as folhas destacadas das três variedades de uva após 72 h de crescimento, ao contrário do micélio não tratado. Estes resultados sugerem que o IFD tem um forte potencial para ser utilizado no controle do micélio de *B. cinerea*, uma vez que não apresentou alterações fenotípicas na videira.

Ahmed e seus coautores (Ahmed et al., 2024) avaliaram os efeitos de dois FSs: clorofilina de magnésio e cobre (Mg-Chl e Cu-Chl) sozinhos e dois nanomateriais de grafeno e prata (G_0 e Ag) sobre seus FSs (Mg-Chl / G_0 , Mg-Chl /Ag, Cu-Chl/ G_0 , e Cu-Chl /Ag) no controle da *Tuta absoluta* em tomateiro em dois períodos. As concentrações testadas de FS e os nanocompósitos foram 10^{-3} (100 ml/L), 10^{-4} (10 ml/L) e 10^{-5} (1 ml/L), fonte de luz: luz solar e os estudos realizados para avaliar o crescimento, a produtividade e a qualidade das plantas de tomateiro. A concentração mais alta apresentou as melhores taxas de crescimento com 72,79 e 70,52% na 1ª temporada e 77,95 e 60,08% na 2ª temporada, aumentando gradativamente com o número de dias após a

pulverização e atingir 100% após sete dias de aplicação. Também mostram que os FSs com nanomateriais apresentaram melhor rendimento na produtividade dos tomates: Mg-Chl foi de 28,67 toneladas/alimento, Cu-Chl 24,8 toneladas/alimento, nanoprata (Ag) sobre Mg-Chl alcançou rendimento de tomate 35,18 toneladas/alimentado e nano óxido de grafeno (Go) 32,95 toneladas/alimento.

Long e seus colaboradores (Long et al., 2024) descreveram o uso da riboflavina no controle do *Botrytis cinerea* (conhecido popularmente como mofo cinzento). A pesquisa investigou a IFD em kiwis pós-colheita a 25°C por 8 dias e a relação ao estresse oxidativo, energia, ácido jasmônico e açúcares (ensaios bioquímicos). A melhor concentração utilizada foi 0,5 mmol/L por 10 mins e a fonte de luz foi de LED azul – dose de luz 300 J/cm². Os resultados mostraram que a riboflavina reduziu o mofo cinzento, morfologimante falando e os ensaios bioquímicos, obtiveram uma melhora energética e oxidativa.

Fellner e seus colaboradores (Fellner et al., 2024) apresentam a *Drosophila melanogaster* como organismo modelo para avaliar a eficácia da IFD com clorofilina (Chl) como FS. A clorofilina, aprovada como aditivo alimentar (E140), foi testada por duas vias: ingestão (com 3% de sacarose ou morangos) e aplicação tópica (*spray*), seguida de exposição à luz LED (395 nm) ou luz solar. Quando alimentadas com 5 mM de Chl e submetidas a 78,9 J/cm² após 8h de incubação, mais de 99% das moscas ficaram moribundas. Com o dobro da exposição luminosa (157,8 J/cm²), 1 mM de Chl atingiu 88% de moribundidade. Em morangos, 5 mM de Chl causaram 71% de moribundidade. No método de *spray*, 5 mM de Chl geraram 79,5% de moribundidade com LED e mais de 95% com luz solar (532 J/cm²) e incubação escura de 14 h. Os resultados destacam que a administração oral de Chl é mais eficaz que a aplicação tópica, e que maiores exposições à luz permitem o uso de concentrações menores.

Neste trabalho, os insetos *Lasioderma serricorne* e *Oryzaephilus surinamensis* foram tratados com nanopartículas de sílica decoradas com rosa bengala (SNP-RB), um potente FS, por Attia e seus colaboradores (Attia; Rizk; Radwan, 2024). As concentrações utilizadas variaram de 6,25 a 30 mg de alimento. A letalidade foi expressa por CL₅₀: 5,14 mg para *L. serricorne* e 9,79 mg para *O. surinamensis*, sendo SNP-RB mais tóxico que a rosa bengala livre (RB) e que as nanopartículas sem corante. A exposição solar por 2-3 h foi essencial para ativar o FS. O estudo também analisou a composição elementar dos insetos tratados, revelando mudanças minerais

associadas à exposição. A tecnologia SNP-RB se mostrou promissora para controle eficiente e seguro de pragas de grãos armazenados.

El-Shennawy e seus colaboradores (El-Shennawy et al., 2024) utilizaram os compostos fotossensibilizadores Rosa Bengala, Rodamina B e Azul de Metileno para o manejo sustentável e ecologicamente correto de pragas do algodão, principalmente as larvas de segundo ínstar de *Earias insulana*. Os resultados indicaram alta eficácia do Rosa Bengala quando avaliado em $1,24 \times 10^{-5} \text{M}$ e $1,26 \times 10^{-4} \text{M}$ (CL_{50} e CL_{90}), respectivamente, seguido por outros compostos. Rosa Bengala, Rodamina B e Azul de Metileno obtiveram o maior LT_{50} em 2 h nas concentrações de $3 \times 10^{-5} \text{M}$. Enquanto os valores de LT_{50} foram 0,30, 0,55 e 1:45 h em $1 \times 10^{-4} \text{M}$, Rosa Bengala foi altamente eficaz contra larvas de *E. insulana* em comparação com Azul de Metileno e Rodamina B.

Fellner e seus colaboradores (Fellner et al., 2025) também abordaram o uso da clorofilina de sódio e magnésio (Chl, E140) como fotoinseticida contra *Drosophila suzukii*. A exposição à luz após ingestão de 5 mM de Chl resultou em 98,4% de moscas moribundas com $78,9 \text{ J/cm}^2$. Ensaaios com menor concentração (0,5 mM) ainda resultaram em 90,1% de moribundidade com $315,6 \text{ J/cm}^2$. A exposição à luz solar também foi eficaz (92,5% com 1 mM de Chl). O estudo confirma que a clorofilina é acumulada no intestino dos insetos.

2.5.2 Doenças transmitidas por vetores

O uso de IFD para o controle de insetos vetores e arboviroses transmitidas tem sido amplamente relatado na literatura. Com o objetivo de descrever a eficiência do processo de IFD com parâmetros como FSs, solvente, concentração, tempo de incubação, fonte de luz, dose e qual inseto alvo são apresentados os próximos parágrafos.

Em 1999, Schagen e coautores (Schagen et al., 1999) descreveram a eficiência do azul de metileno (AM), rosa bengala (RB), uroporfirina (UP) e ftalocianina tetrassulfonato de alumínio (AlPcS4) na inativação de adenovírus com expressão gênica da luciferase vagalume. Neste estudo, os FSs foram preparados em PBS na faixa de concentração de 1-1,3 mM e, em seguida, submetidos à irradiação com luz branca (106 mW/cm^2) por 30 min. Os autores observaram que o AM apresentou melhor ação fotodinâmica reduzindo até 7 $\log_{10}$ de adenovírus na concentração de 50 μM . Os autores concluíram que a IFD é eficiente na inativação de vetores de adenovírus em amostras biológicas e que a inativação depende do fotossensibilizador, concentração e iluminação.

Salama (Salama, 2014) avaliaram o efeito fotodinâmico em larvas de *Culex pipiens*, vetor da filariose, em laboratório e campo, com diferentes concentrações de hematoporfirinas IX (HP) e irradiado por 30 min com um simulador solar de 400 Wm^{-2} . A concentração de $5 \times 10^{-4} \text{ mL}$ produziu 100% de mortalidade de *C. larvas de pipiens*. Os autores realizaram análise ultraestrutural das larvas após tratamento com o processo de IFD. Na análise dos resultados foram observadas alterações na cutícula lamelar, endo, exocuticular. Eles descobriram que as células epidérmicas abaixo da cutícula estavam distorcidas. As mitocôndrias apresentavam irregularidades. Havia evacuação visível no corpo gorduroso sob o tegumento. As células musculares apresentavam sarcômeros degenerados com lacunas e vacúolos. Discos Z irregularmente formados e distorcidos. As células do intestino médio apresentavam vacúolos citoplasmáticos e o corpo de Golgi fragmentado em pequenos corpos. Segundo os autores, esses resultados confirmam a eficiência da HP como fotoinseticida.

Em 2008, Awad e coautores (Awad; El-Tayeb; Abd El-Aziz, 2008) investigaram a ação fotodinâmica da fórmula da HP e de uma formulação de hematoporfirina (HPF) sobre cepas de campo de *C. pipiens* em um experimento de semi-campo. A faixa de concentração foi para HP (1×10^{-4} a 1×10^{-6}) e HPF (1×10^{-5} e $1 \times 10^{-6} \text{ M}$) em recipientes com água para os ensaios fotodinâmicos. A HPF foi preparada misturando-se 2,5 mg de HP em pó e 1 kg de açúcar. A luz solar natural foi utilizada para realizar a irradiação do ensaio fotodinâmico. As concentrações de $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ HPF e $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ HP apresentaram taxas de sobrevivência larval semelhantes (80, 60 e 0,8%,) em 1, 3 e 5 dias de aplicação, respectivamente. A concentração de HP presente na HPF 10^{-6} M apresentou redução na sobrevivência larval de 100, 26,6 e 7,3%, após 1, 3 e 5 dias em ambiente aberto, respectivamente. Os autores relatam que a adição de açúcar estimulou a nutrição, aumentando a eficácia do processo de IFD.

Wohllebe e coautores (Wohllebe et al., 2009) relataram a avaliação de derivados de clorofila, clorofilina e feoforbido para controle populacional de *Culex sp.* As larvas foram incubadas em soluções aquosas de clorofilina e feoforbido, ambas na concentração de 15 mg/L por 12 h. Após a incubação, a irradiação foi realizada por 3-4 h com luz solar artificial simulada (lâmpada de mercúrio 0383) na intensidade (PAR: $149,66 \text{ W/m}^2$, UV-A $32,67 \text{ W/m}^2$ e UV -B $0,77 \text{ W/m}^2$). Os resultados mostraram que clorofilina e feoforbido apresentaram mortalidade larval de *Culex sp.*, com CL_{50} , 6,88 e 8,44 mg/L, respectivamente.

Em 2011, Lucatoni e coautores (Lucatoni et al., 2011) avaliaram o potencial da porfirina meso-substituída meso-tri (N-metilpiridil), meso-mono (N-tetradecil piridil) porfirina (C14) como larvicida fotoativável contra o vetor *Ae. aegypti*. A porfirina C14 foi solubilizada em água para obtenção de soluções-estoque nas concentrações de 50–500 μM . A porfirina C14 foi formulada em pellets de ração animal e avaliada quanto à adsorção, eficiência e persistência de fotossinseticidas. Larvas expostas à porfirina foram irradiadas com luz visível (400-800 nm) a uma taxa de fluência de 1,0 a 4,0 mW.cm^{-2} usando lâmpadas fluorescentes. Os autores observaram que a molécula C14 exerce atividade fotossensibilizadora sobre as larvas de *Ae. aegypti*. Em intervalos de irradiação de 1 e 12 h, a uma intensidade luminosa de 4,0 mW cm^{-2} , 50-100 vezes menor que a da luz solar, foram obtidos valores de CL_{50} na faixa de 0,1 μM e 0,5 μM , respectivamente. Segundo os autores, o C14 é facilmente adsorvido em material orgânico (pellet) e, eliminando larvas de forma eficiente, permaneceu ativo cerca de 14 dias após sua dispersão em água.

Fabris e coautores (Fabris et al., 2012) investigaram a eficácia da porfirina C12 na ação fotodinâmica contra *Anopheles gambiae* s.s. e *Anopheles arabiensis*, vetores transmissores da malária. Para potencializar o efeito fotolarvicida e a ingestão de fotossensibilizadores pelas larvas, duas formulações foram adotadas: (I) Eudragit® (copolímero responsável pela liberação do fármaco), formando um complexo com a porfirina C12-Eudragit® (EU-C12), (II) Friskies® (ração comercial para gatos), constituindo um complexo porfirínico C12-Friskies® (CF-C12). Essas formulações atuam como carreadores de porfirina C12. Soluções aquosas de complexos C12 (50 μM) foram administradas às larvas, as quais foram expostas à luz solar (30-110 mW.cm^{-2}) por 0,5 a 3 h. Os autores encontraram mortalidade superior a 90% para *A. Gâmbia* S.s. e *A. Arabiensis*. Por sua vez, quando a EU-C12 estava disponível juntamente com os recursos alimentares naturais, nenhuma mortalidade larval foi observada, enquanto 100% de mortalidade foi observada no meio contendo CF-C12. Estes resultados indicam a importância da palatabilidade no desenvolvimento de substâncias fotolarvicidas.

Em 2017, Souza e coautores (De Souza L M et al., 2017) avaliaram a eficiência fotolarvicida do Photogem® (PG), um derivado da hematoporfirina, em larvas de 2º e 3º ínstar de *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) sob iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes e luz solar. Os autores observaram taxas de mortalidade de 71, 91 e 100% para o PG em meio aquoso nas concentrações de 20, 40 e 80 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, incubado por 12 h e exposto ao sol na faixa de intensidade de 30 a 60 mW.cm^{-2} . Após 30 min de luz solar, a mortalidade atingiu 100%

para todas as concentrações de PG investigadas. A mortalidade foi entre 64, 100 e 100% após 48 h de exposição à iluminação artificial na faixa de intensidade entre 1,2 e 2,3 mW cm⁻² para as concentrações investigadas de 20, 40 e 80 µg/mL, respectivamente.

Em 2018, Neris e coautores (Neris et al., 2018) investigaram a ação fotodinâmica dos derivados da porfirina Heme, Co-protoporfirina IX (CoPPIX) e Sn-protoporfirina IX (SnPPIX) sobre os vírus Chikungunya (CHIKV), Zika vírus (ZIKV), vírus Mayaro (MAYV), vírus Sindbis (SINV) e vírus da estomatite vesicular (VSV). As porfirinas foram preparadas em solução estoque de 50 mM em DMSO 0,6% e pré-incubadas por 1 h nas diferentes classes de arbovírus CHIKV, MAYV, SINV, VSV e nas cepas brasileira e africana do ZIKV (ZIKV^{BR} e ZIKV⁷⁶⁶), respectivamente. O processo de IFD nos diversos vírus foi realizado sob iluminação com lâmpada fluorescente de 30 W, intensidade luminosa de 500 lux por 10 min e incubação a 37 °C por 1 h. Os autores observaram que não houve diferença nas amostras tratadas com CoPPIX ou heme sem iluminação e com luz, indicando que seus efeitos são independentes do processo de IFD. A porfirina heme apresentou excelente inativação para MAYV, ZIKV^{BR}, ZIKV⁷⁶⁶, mas não foi capaz de inativar SINV e VSV, mostrando seletividade para arbovírus. As concentrações inibitórias (CI₅₀) de CoPPIX e SnPPIX, na ausência de luz, foram semelhantes na faixa de 2,44-10,68 µM para arbovírus, respectivamente. Em contraste, a porfirina SnPPIX foi mais eficiente na redução do número de partículas infecciosas após IFD para ZIKV^{BR}, ZIKV⁷⁶⁶, CHIKV, MAYV, SINV, VSV (CI₅₀: 0,16; 0,12; 0,26; 0,09; 0,33; 0,23 µM) em comparação com o controle não iluminado (CI₅₀: 5,98; 7,78; 4,86; 5,99; 2,44; 8,86 µM), respectivamente. A exposição à luz promove aumento da atividade das IFD. Segundo os autores, CoPPIX e SnPPIX mostraram amplo potencial para inativar vírus importantes relacionados às áreas veterinária e médica.

Lima e coautores (Lima et al., 2018b) avaliaram a eosina azul de metileno (EAM) como um FS para ação fotolarvicida em populações de *Ae. aegypti*. Os testes fotolarvicidas foram realizados com larvas de 3º estágio nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 50,0 e 100,0 µg/mL. As larvas foram expostas à luz branca de um sistema RGB de diodo emissor de luz (LED) nas doses de 24,3; 48,6 e 97,2 J/cm² por 15, 30 e 60 min, respectivamente. A ação da luz solar com intensidade de 20 mW.cm⁻² no processo fotolarvicida também foi investigada. Os autores identificaram 100% de mortalidade larval após aproximadamente 40 min de irradiação solar, na concentração de 0,5 µg/mL EAM. Quando a irradiação foi realizada com luz artificial, a mortalidade larval variou com a dose e concentração de EAM na faixa de 80-100%. Segundo os

autores, os dados revelaram que a faixa ótima de concentração de EAM permaneceu entre 5,0 e 50,0 µg/mL, dependendo da dose de iluminação.

Dimmer e coautores (Dimmer et al., 2019) descreveram o uso de derivados naturais da antraquinona (AQs) como FS no processo de IFD contra a leishmaniose cutânea parasita vetor de doenças transmitidas por insetos. Neste trabalho os autores avaliaram diferentes QAs soranjidiol (Sor) 5-clorosoranjidiol (5-ClSor), bi-antraquinonas (biAQs), bisoranjidiol (Bisor), 7-clorobisoranjidiol (7-ClBisor) e Litionina (Lyc) preparados em PBS e DMSO 1% na concentração de 2,5 µM, incubados durante e irradiados com LED azul (410 ± 10 nm) nas doses de energia de 9; 18; 27 e 36 J/cm² de irradiância: 50 mW/cm²) contra uma *cepa de Leishmaniose amazense* que expressou o gene da luciferase (La-LUC). Os autores observaram que os AQs no escuro não tiveram efeito significativo sobre a viabilidade celular (VC). O tratamento somente com luz (410 nm) gerou uma redução de 20% no VC, devido aos cromóforos endógenos presentes nas células. O processo de IFD como 7-ClBisor e Lyc não expressou redução significativa no VC. Enquanto com Sor, 5-ClSor ou Bisor mostraram uma diminuição significativa acima de 90% na viabilidade parasitária, dependendo da dose de energia. A dose letal (DL₅₀) de luz para reduzir a carga parasitária associada aos AQs fotoativos 5-ClSor, Bisor e Sorram foi de 13,8; 15,2; e 16,3 J/cm².

Em 2019, Shiao e coautores (Shiao et al., 2019) avaliaram FSs derivados de ftalocianina em *Ae. aegypti* (IPhCl: cloreto de ftalocianina de alumínio, PC1-2: aminoftalocianinas; PC3-4: ftalocianinas Zn(II)-substituídas por trietilenoglicol, PC3 .4-3.7: Anilinium Zn-ftalocianinas, PC14: Piridiloxi Si-ftalocianina e cinco derivados porfirínicos como (BPDZM: M-Benziporfodimeteno, NCPS: *meso* tetrakis(p-sulfonato-fenil)N-porfirina tetrassódica. TPPS4: Meso-tetra(4) -sulfonato-fenil)porfinaTetrassódico, TMAP: meso-tetra(4-n,n,n-trimetilanilínio)tetracloreto de porfina, TPPS2: *ácido* meso-tetrafenilporfinadissulfônico diidrocoride), além de dois FSs do grupo da fluoresceína halogenada (cianossina e rosa bengala) solubilizados em diferentes solventes, água, metanol ou DMSO. Larvas foram expostas durante a noite em concentrações graduadas de 0,1-50 µM dos FSs. Os autores observaram que os FSs avaliados, as ftalocianinas PC1, PC3-4 e PC14 e os derivados de TPPS2 e TMAP apresentaram ação no controle fotodinâmico das larvas. Os valores de concentração efetiva (CE₅₀) PC1, PC3.4, PC14, TPPS2 e TMAP diminuem as concentrações nanomolares, variando de 200 a 450 nM, sendo 4 a 10 vezes menores do que os verificados para rosa bengala (1,9 µM) e 65-150 vezes mais efetivos

que cianosina (30 μ M). Para larvas de 2º *instar*, indicaram o potencial dos FS sem relação aos corantes clássicos de fluoresceína.

Em 2019, De Souza e coautores (De Souza L M, Inada N M, Venturini F P, Carmona-Vargas C C, Pratavieira S, de Oliveira K T, 2019) relataram a atividade fotolarvícida da curcumina como uma alternativa promissora para o controle de *Ae. aegypti*. Os autores avaliaram a curcumina em três formulações diferentes: cúrcuma natural (NT), curcumina sintética (SC) preparada em estoque, em 1% de DMSO e 99% de etanol, respectivamente, e curcumina sintética formulada com sacarose (SCS). Soluções aquosas de curcuminóides na faixa de concentração de 5 a 25 mg/L e dois tipos diferentes de carreadores de curcuminóides (ração para animais de estimação e sacarose) foram usados. As larvas foram expostas à radiação solar com intensidade variando de 30 a 60 mW.cm⁻². Os autores observaram que as soluções de curcuminóides induziram atividade fotolarvícida após 30 min de irradiação, com valores de CL₅₀ de 20,0; 11,6 e 2,2 mg/L para NT, SC e SCS, respectivamente.

No ano de 2020, De Souza e coautores (De Souza L M, Venturini F P, Inada N M, Iermak I, Garbuio M, Mezzacappo N F, 2020) investigaram a atividade fotolarvícida e ovícida da curcumina na presença de sacarose (SC) e D-manitol (DMC). Neste estudo foram preparadas misturas físicas das formulações em água destilada na faixa de concentração de 0,005-0,45 mg/L. A irradiação foi realizada com luz solar direta (1360 $\pm$ 400 lux) e indireta (1000 $\pm$ 70 lux). A mortalidade larval foi avaliada durante a exposição solar de 8 h e após 24 h de exposição. Os autores identificaram que tanto o SC quanto o DMC apresentam alto potencial fotolarvícida e a toxicidade foi proporcional às concentrações dos larvicidas (dependendo da dose) e ao intervalo de exposição à luz solar. A formulação DMC apresentou a maior mortalidade larval, com valores de CL_{50-24h} entre 0,01 mg/L (luz solar direta) e 0,02 mg/L (luz solar indireta). A redução na taxa de eclosão dos ovos foi de 10% para 100 mg/L de DMC. Segundo os autores, os resultados indicam que a curcumina em formulações de açúcar é altamente eficiente e uma alternativa promissora para o controle da população larval do *Ae. aegypti*.

Em 2021 Mezzacappo e co-authoures (Mezzacappo et al., 2021) relatou o uso de curcumina com D-manitol (DMC) no desenvolvimento de *Ae. aegypti* em condições subletais, observando mudanças significativas, tais como: variação na razão sexual e longevidade reduzida. Neste estudo, *Ae. aegypti* foram expostas à três condições: i) Larvas de primeiro e terceiro estágios (L1 ou L3) imersas em diferentes concentrações de DMC na faixa de 0,01-2,5 mg/L, irradiadas com lâmpadas

fluorescentes brancas (18 W), com irradiância média de $0,5 \text{ mW/cm}^2$, ii) Na condição de semi-campo, as larvas foram tratadas em concentração entre 0,01-0,16 mg/L; sob condição de luz solar natural direta e indireta e de campo, iii) Em campo, larvas de populações naturais de *Ae. aegypti* foram expostos na faixa de 0,04; 0,18 e 1,22 mg/L.

Os autores observaram a mortalidade de larvas de primeiro (L1) e terceiro estágio (L3) com valores de CL_{50} de 0,122 e 0,088 mg/L, respectivamente. Segundo os autores, em semi-campo, há uma tendência de maior eficácia da DMC na luz solar direta ($CL_{50-24h} = 0,04 \text{ mg/L}$), seguida pela indireta ($CL_{50-24h} = 0,11 \text{ mg/L}$), embora não tenha havido diferenças estatísticas. A iluminância foi de 10 a 20 vezes maior sob luz solar direta, registrando uma iluminância máxima de 118-200 lux. O processo de IFD em populações silvestres no campo apresentou 71,3% de mortalidade após 48 h.

Silva e coautores (Silva et al., 2021) avaliaram a atividade fotolarvicida de dois derivados meso-tetra (n-piridil) porfirina (n = 3 ou 4), os isômeros meso-tetra(platinados) 3-PtTPyP e 4-PtTPyP). Neste estudo, as larvas foram incubadas por 2 h em derivados porfirínicos preparados em solução aquosa e DMSO 1% na faixa de concentração de 1,2-12 ppm. O processo de irradiação foi realizado com LEDs operando a 450, 525 e 625 nm com uma dose de energia de $55,0 \text{ J cm}^{-2}$ e luz branca resultante da combinação dessas fontes na dose de $162,1 \text{ J cm}^{-2}$. Os autores observaram que o isômero 3-PtTPyP induziu um aumento na mortalidade larval sob iluminação, enquanto o isômero 4-PtTPyP foi inativo. Os valores estão em 48 h (CL_{50-48h}), de 0,6 (525 nm), 1,7 (450 nm) e 3,5 ppm (625 nm). A luz branca e a fonte de iluminação de 525 nm atuaram de forma efetiva na atividade larvicida para 3-PtTPyP, devido às propriedades ópticas em ambiente aquoso, contribuindo para maior toxicidade contra *Ae. aegypti*. De acordo com a característica desejável 3-PtTPyP para controle vetorial, é eficaz em baixas concentrações sob luz branca e tem boa compatibilidade ambiental.

Meier e Hillyer (Meier; Hillyer, 2024) avaliaram o AM e a rosa bengala (RB) como fotolarvicidas para *Ae. aegypti* e *Anopheles gambiae*. As concentrações utilizadas foram para AM: 1 μm , 2 μm , 5 μm , 10 μm e 20 μm respectivamente. Já para o FS e RB a 2 μm , 5 μm , 10 μm , 20 μm , 50 μm e 100 μm , respectivamente. A fonte luz utilizada foi LED nos tempos de 20 min - 2h. Os resultados indicam que quando os FSs foram incubados no escuro por 2 h antes do ensaio, apresentaram maior toxicidade e que o AM é 10 vezes mais tóxico do que a RB. A hipótese levantada foi baseada em imagens de microscopia que sugerem a localização dos FSs, enquanto a

RB se mantém apenas no intestino, o AM se dispersa para dentro das células chegando na hemocele.

Rady e seus colaboradores (Rady et al., 2025) avaliaram a eficácia larvícida e a genotoxicidade da clorofilina contra larvas de *Ae. aegypti*. Em testes laboratoriais, a CL_{50} foi de 0,47 ppm, enquanto em condições campo simulado foi de 93,3 ppm. A clorofilina demonstrou maior eficácia comparada a outros agentes como feoforbida e *Bacillus sphaericus*. A análise por RAPD-PCR mostrou baixa genotoxicidade da clorofilina (índice de similaridade de 0,8 com controles saudáveis), sugerindo sua segurança genética. A análise histopatológica revelou danos significativos nos tecidos intestinais e musculares das larvas, evidenciando seu modo de ação como toxina entérica fotossensível.

2.6 Conclusão e perspectivas futuras

A IFD é uma abordagem eficaz e ecologicamente correta, que possui grande relevância para o controle de pragas agrícolas e insetos vetores, resultando em um enorme impacto social e ambiental. Este método oferece uma perspectiva considerável para integrar programas de controle de pragas e vetores em todo o mundo, devido à sua baixa persistência sob luz, baixo custo, menor efeito residual quando comparado aos larvicidas convencionais e baixa possibilidade de selecionar organismos resistentes. A ação fotodinâmica tem sido demonstrada em uma ampla família de aplicações utilizando diferentes parâmetros como apresentado neste artigo de revisão. Além disso, esta metodologia eficiente tem possibilitado a redução de diversos tipos de pragas agrícolas (e.g.: *C. capitata*, *B. oleae*, *C. acutatum*; *Psa*, *Xcc 29-1* e *B. cinerea*), vírus (i.e.: adenovírus do gene da luciferase Firefly, CHIKV, ZIKV, MAYV e Sindbis vírus SINV) que transmitem arbovírus, e insetos vetores (*C. pipien*, *Ae. aegypti*, *A. gambiae s.s.* e *A. arabiensis*). Em termos de tendências, espera-se que o desenvolvimento de fotopesticidas e fotoinseticidas novos e não tóxicos e suas aplicações combinadas com IFD possam ser a próxima geração de produtos para o controle de pragas e insetos vetores.

2.7 Avanços da IFD com curcumina como fotolarvícida contra larvas de *Ae. aegypti*

A crescente resistência de *Ae. aegypti* a inseticidas tradicionais e os riscos ambientais associados ao uso indiscriminado desses compostos têm impulsionado a busca por alternativas sustentáveis de controle vetorial. Nesse contexto, a IFD tem se destacado como uma abordagem inovadora. A curcumina, pigmento natural extraído da *Curcuma longa*, tem sido amplamente investigada como FS eficaz e seguro para uso ambiental.

O estudo pioneiro de Souza et al. (2019) avaliou a atividade fotolarvicida de curcuminoides naturais e sintéticos, incluindo curcumina pura e formulada com sacarose. Sob irradiação solar, todas as formulações apresentaram alta taxa de mortalidade larval, sendo a curcumina com sacarose a mais eficaz ($CL_{50} = 2,2$ mg/L). Além da ação letal rápida, observou-se fotodegradação completa dos compostos em poucas h, sugerindo segurança ambiental e reduzido potencial de bioacumulação (De Souza et al., 2019).

Avançando nesse campo, Souza et al. (2020) incorporaram a curcumina a dois veículos—sacarose (SC) e D-manitol (DMC) buscando melhorar solubilidade, palatabilidade e absorção pelas larvas. A formulação DMC destacou-se com CL_{50-24h} de 0,01–0,02 mg/L e apresentou significativa atividade ovicida. Usando espectroscopia Raman, demonstrou-se que o DMC atravessa a membrana peritrófica e causa danos irreversíveis ao epitélio intestinal larval (De Souza et al., 2020).

Em continuidade, Venturini et al. (2020) aprofundaram a análise toxicológica da curcumina com D-manitol. Ensaio com *Daphnia magna* e *Danio rerio* demonstraram ausência de toxicidade aguda nas concentrações utilizadas para controle larval. Em larvas de *Aedes*, observou-se estresse oxidativo evidenciado por alterações em glutatona reduzida e níveis proteicos, além de extensas lesões intestinais. Esses dados confirmam a eficácia da curcumina em condições controladas e a segurança de sua aplicação ambiental (Venturini et al., 2020).

Posteriormente, Mezzacappo et al. (2021) investigaram os efeitos subletais da exposição larval à curcumina e D-manitol. Além de provocar atraso no desenvolvimento e redução da longevidade, a formulação alterou a razão sexual da população adulta emergente, favorecendo o nascimento de machos (um aspecto vantajoso para o controle populacional). Ensaio de campo com populações selvagens mostraram 71,3% de mortalidade em 48 h, reforçando o potencial da técnica (Mezzacappo et al., 2021).

Lima et al. (2022), demonstraram que a formulação com curcumina e sacarose foi testada em ambiente externo. Confirmou-se eficácia larvicida ($TL_{50} = 3$ dias com 4,6 mg/L), ausência de

toxicidade na ausência de luz e nenhum efeito adverso do veículo (sacarose). Os resultados mostraram os subprodutos da fotodegradação da curcumina (194, 278 e 370 nm), que não apresentaram toxicidade significativa a *Daphnia*, peixes e algas, fortalecendo os argumentos de segurança ambiental para a aplicação da técnica em larga escala (Lima et al., 2022c).

Mais recentemente, Garbuio et al. (2022) testaram formulações sólidas com diferentes proporções de curcumina e D-manitol (CCD 1 a 4). A formulação CCD 3 (50:50) obteve melhor resultado ($CL_{50-24h} = 0,01$ mg/L) e manteve atividade residual por até 14 dias em ensaio de campo, sem causar crescimento microbiano anormal na água. Além disso, CCD 3 demonstrou fotodegradação de 50% em 24 h e ausência de toxicidade em *Danio rerio*, mesmo com exposição de 96 h a 100 mg/L (Garbuio et al., 2022).

Esses estudos demonstram uma evolução consistente na pesquisa com curcumina aplicada ao controle de *Ae. aegypti*. A transição de soluções simples para formulações sólidas, a ampliação de testes laboratoriais para ensaios em campo e a análise integrada de eficácia e toxicidade fazem da curcumina promissora para políticas públicas de controle vetorial ambientalmente seguras e tecnologicamente viáveis.

3 CAPÍTULO – Ação fotodinâmica larvicida: controle vetorial em cenários de mudanças climáticas

3.1 Introdução

As mudanças climáticas representam um dos maiores desafios do século 21, impactando os ecossistemas, a saúde humana e o equilíbrio ambiental. A mudança na cobertura vegetal é causada tanto pelas mudanças climáticas quanto pelas atividades humanas diretas de uso da terra e urbanização. Além disso, associações geográficas e interanuais entre clima e doenças, juntamente com evidências históricas e experimentais, indicam que o clima e outros vários fatores, podem afetar a propagação de doenças infecciosas (Annelies Wilder-Smith, 2019).

A previsão global de aumento da distribuição e prevalência de doenças infecciosas associadas às mudanças climáticas aponta para uma crise emergente no mundo. Segundo Taylor (Taylor, 2024), no Brasil foram registrados 512.000 casos de Dengue até março de 2024, três vezes maior que os registros do ano anterior devido ao aumento das temperaturas globais e as fortes chuvas nos países tropicais

O tema vem chamando cada vez mais a atenção de profissionais de saúde e cientistas, principalmente no que diz respeito aos arbovírus transmitidos pelos vetores (Rocklöv; Tozan, 2019) que são responsáveis por várias doenças tropicais negligenciadas (DTNs) (Rocklöv; Tozan, 2019). Além disso, outra questão relevante é a seleção de populações de mosquitos resistentes aos controles convencionais. A ação fotodinâmica é uma ferramenta promissora com potencial para o controle de vetores, e com fotolarvicidas pode contribuir para a diminuição na proliferação de larvas de vetores mesmo com os desafios associados à crise climática.

3.2 Ecologia de doenças infecciosas e mudanças climáticas

A cada década, ocorrem mudanças na abundância e dispersão dos mosquitos em direção aos polos, longe da linha do Equador (Raul R. Braga, 2024). A compreender a relação entre ecologia de doenças infecciosas e mudanças climáticas são pontos fundamentais no controle de vetores. As mudanças climáticas podem influenciar na distribuição e intensidade de propagação de vários arbovírus, no caso de vetores, afetando tanto os humanos quanto à ecologia (RAUL R. BRAGA, 2024; TAYLOR, 2024). Os fatores como temperatura e precipitação, umidade podem ampliar o alcance geográfico dos mosquitos que são responsáveis por transmitir arbovírus como Dengue, Chikungunya, Febre amarela, Malária e Zika (CLARKE et al., 2024).

As alterações nos habitats dos vetores naturais, levam a mudanças de sazonalidade e nos padrões de transmissão. Os surtos podem ocorrer em diferentes épocas do ano. Nos últimos anos em regiões tropicais e subtropicais o aumento da temperatura, níveis de precipitação têm prologado o período de transmissão de DTVs permitindo que surtos ocorram em estações do ano diferente, no caso inverno (Freeman et al., 2018; Taylor, 2024).

As mudanças climáticas alteraram a distribuição das espécies (altitude e latitude) e o clima encontrado pode alterar o fenótipo, por exemplo, no caso das flores, época e o tempo de floração no ciclo de vida (PARMESAN & YOHE, 2003). Além disso, outros fatores podem afetar diretamente ou indiretamente os vetores de doenças como: i) alteração do habitat (destruição, fragmentação, efeito de borda), introdução de espécies invasoras, aumento das fronteiras agrícolas; ii) as viagens e migração das espécies como insetos e humanos; iii) a resistência a drogas e pesticidas, iv) densidade populacional, serviços de saúde, distribuição de riqueza e educação, que estão em constante mudança e podem afetar o surgimento de doenças, bem como a taxa de transmissão de vírus (Dye, 2014; Freeman et al., 2018; Parmesan; Yohe, 2003; Pedro do Valle Varela et al., 2024).

No caso das DTNs, o clima pode afetar a gravidade da doença, por exemplo, quando a temperatura e a umidade aumentam, cresce a transmissão da malária ou da dengue, e há maiores chances de se ter epidemia (Kharwadkar; Herath, 2024; Paz-Bailey et al., 2024). Os efeitos das mudanças climáticas sobre doenças infecciosas dizem respeito à tolerância térmica de insetos vetores podem ser afetada, como na situação dos mosquitos (Andriamifidy et al., 2019; Smith et al., 2012).

3.3 Efeitos no desenvolvimento do mosquito e na capacidade do vetor

As alterações fisiológicas conhecidas e moduladas pela temperatura podem acelerar as reações bioquímicas (catabolismo e anabolismo) de vetores que gastam energia, permitindo maior atividade, crescimento, desenvolvimento e reprodução. Em temperaturas mais altas geralmente aceleram seu desenvolvimento, permitindo que completem seu ciclo de vida mais rapidamente. Além disso, podem levar ao aumento das taxas de alimentação sanguínea, ciclos gonotróficos mais curtos (tempo entre as refeições sanguíneas), aumento da produção de ovos (embriogênese) a partir da diapausa dos ovos (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). Consequentemente, isto pode

contribuir para maiores densidades populacionais e maior risco de transmissão de doenças (Rocklöv; Tozan, 2019).

Embora todas as espécies tenham limites de temperatura inferior e superior, os organismos podem frequentemente lidar com variações substanciais no clima. A faixa de temperatura ideal para os mosquitos *Ae. aegypti*, por exemplo, prospera em regiões tropicais e subtropicais do globo, e sua temperatura ideal de desenvolvimento varia de 25 a 30 °C (Naish et al., 2014; Rocklöv; Tozan, 2019). O efeito da temperatura pode influenciar significativamente o número de refeições de sangue, afetando a taxa de sobrevivência do vetor e a probabilidade de que ele se infecte e seja capaz de transmitir a dengue e outras arboviroses como a Zika, Chikungunya e febre amarela (Fujibe, 2009; Garbuio et al., 2024).

3.4 Modelos de previsão

Os modelos de previsão climática desempenham um papel fundamental na compreensão das possíveis alterações do clima no futuro e de como essas alterações podem influenciar na ecologia e na sociedade humana. Esses modelos utilizam simulações baseadas em dados físico-químicos e biológicos dos cenários ao longo do tempo. No contexto das arboviroses, esses modelos são especialmente relevantes, pois permitem antecipar como as mudanças climáticas podem influenciar a distribuição geográfica, o tamanho populacional e o comportamento dos insetos vetores. A comunidade científica tem dedicado esforços significativos para prever impactos das mudanças climáticas na transmissão de arboviroses, como dengue, Zika e Chikungunya.

A **Figura 5** mostra um esquema de principais eventos que contribuem para o aumento da incidência e da distribuição global doenças, incluindo: urbanização acelerada, ausência de saneamento básico, crescimento populacional, uso de compostos químicos, estratégias ineficazes, desmatamento, aumento da variabilidade climática e maior da frequência e intensidades de eventos climáticos extremos.

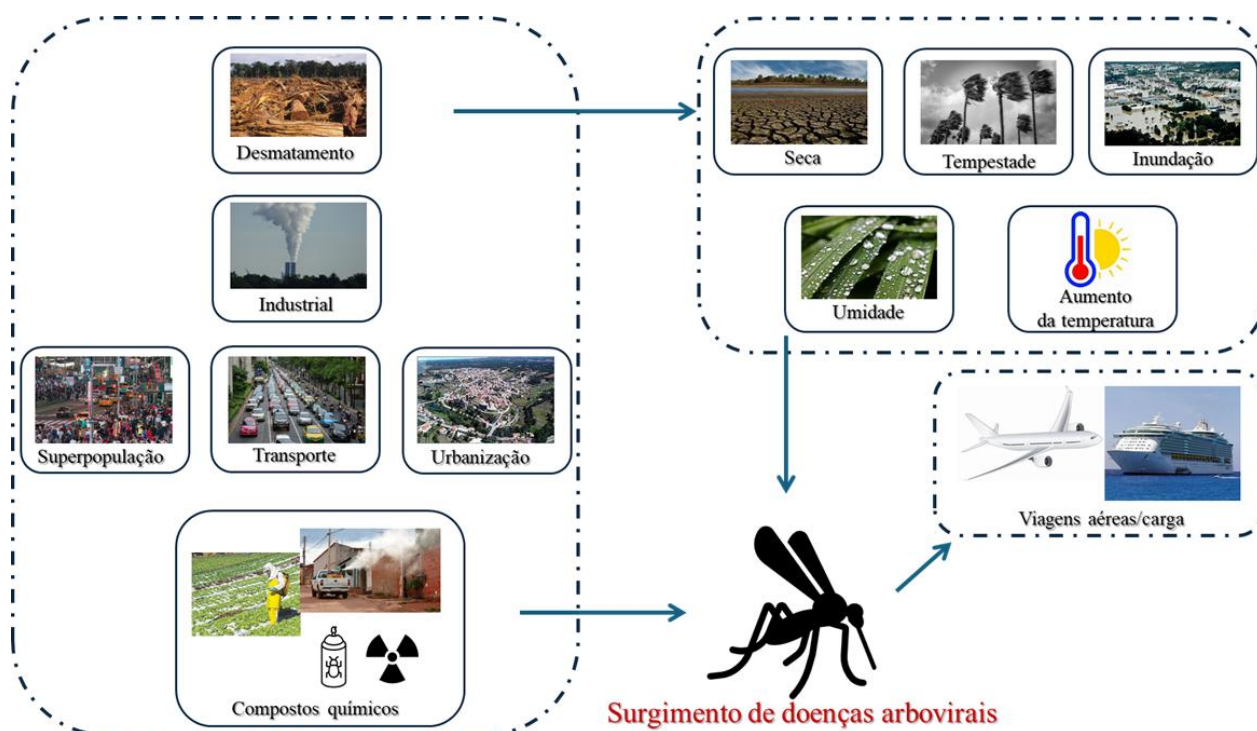


Figura 5. Esquema dos eventos que contribuem para o surgimento e expansão das doenças em um cenário de mudanças climáticas.

As várias questões metodológicas importantes, como a temperatura, umidade relativa e níveis de precipitação podem impactar significativamente a sociedade. Essas variáveis geralmente são abordadas por meio de modelagem quantitativa. A temperatura, em particular, está relacionada ao ciclo de vida do inseto. Esses modelos climáticos utilizam dados de temperatura para prever alterações na distribuição geográfica desses vetores. Durante períodos de temperaturas mais elevadas, observa-se um aumento na atividade de mosquito vetores, facilitando a transmissão de arbovírus, especialmente no caso do *Ae. aegypti*. Os níveis de precipitação influenciam diretamente na disponibilidade de habitats adequados para a reprodução dos vetores. Assim, os modelos podem prever mudanças nos padrões de precipitação, podendo afetar o ciclo de reprodução desses insetos.

Os vetores de arbovírus causadores de doenças infecciosas são, em sua maioria, insetos hematófagos e estão entre as principais preocupações associadas às mudanças climáticas. A dengue é uma das arbovírus mais estudadas nesse contexto, como foco dos efeitos das alterações na sua transmissão.

A dengue estava restrita principalmente a áreas tropicais e subtropicais, mas hoje seu impacto se espalhou rapidamente por todo o mundo, devido a eventos de mudanças climáticas (Karunaratne; Surendran, 2022). Por isso, a criação de um sistema de previsão precisa e antecipada da taxa de incidência do vetor *Ae. aegypti* e casos prováveis de dengue tem atraído crescente atenção dos pesquisadores. Os fatores preditivos que são incluídos podem ser: fatores meteorológicos, dados históricos de dengue, fatores ambientais, fatores socioeconômicos e dados de vigilância de vetores (Wu et al., 2018; Zhao et al., 2020). De acordo com Fang e colaboradores os fatores mais relatados são dados meteorológicos que corresponde a 95,65% das pesquisas e incorporaram temperatura, precipitação e umidade relativa em seus modelos de previsão de aprendizado de máquina (Fang; Hu; Pan, 2024).

Hales e colaboradores desenvolveram um modelo empírico ajustando a regressão logística e modelaram o surto de dengue (presença/ausência) considerando dados de base climática para os períodos de 1961-1990 (Hales et al., 2002). Esse modelo, fez projeções climáticas para 2085, no qual previram uma extensão da dengue. Em ambos os estudos, as projeções climáticas foram baseadas em funções de resposta históricas à exposição de variáveis climáticas e à incidência de dengue.

No contexto das doenças infecciosas, a notificação e o monitoramento dos casos são essenciais para a detecção precoce de surtos e a implementação de medidas de controle eficazes. A notificação adequada permite a coleta de dados confiáveis, essenciais para estudos epidemiológicos que analisam padrões de transmissão, fatores de risco e a eficácia das intervenções. Dessa forma, a notificação de doenças infecciosas torna-se um pilar essencial da saúde pública, contribuindo para a proteção coletiva e orientando a formulação de estratégias para o controle da disseminação de doenças.

3.4.1 Dengue

A incidência de dengue em Bangladesh em 2023 quebrou recordes de 22 anos, sinalizando uma grave crise de saúde pública. O aumento significativo nos casos confirmados de dengue implica que o vírus está se espalhando de forma mais vigorosa e rápida do que na história recente. A incidência de dengue começou a aumentar significativamente a partir de maio, com 1.036 casos, e durante os meses de verão, atingindo um pico alarmante de 71.976 casos (Islam et al., 2024).

Esse aumento notável nos casos de dengue é preocupante e levanta a possibilidade de um surto grave. Um modelo que explora os padrões e comportamentos da dengue em Bangladesh fez a previsão de aumento de 25% nos casos de dengue em 2024 em comparação com 2023, destacando a urgência de intervenções eficazes para conter a disseminação do vírus (Islam et al., 2024).

Em 2024, cerca de 90 países relataram transmissão ativa de dengue, com as Américas atingindo um recorde histórico de mais de 11 milhões de casos, um aumento exponencial nas últimas décadas (Venkatesan, 2024). Um surto global da doença foi relatado em 2023, com mais de 5 milhões de casos e 5.000 mortes. No entanto, esses números foram superados em 2024: até agosto, mais de 12 milhões de casos e 8.000 mortes foram registrados em todo o mundo. A maioria das infecções ocorreu na Região das Américas, onde, de acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde, mais de 11,5 milhões de casos suspeitos, resultando em uma incidência cumulativa de 1.206 casos por 100.000 habitantes (“Dengue worldwide overview”, 2025).

3.4.2 Malária

Os mosquitos *Anopheles gambiae* e *Anopheles arabiensis* são os vetores mais recorrentes da malária em várias regiões da África Subsaariana e apresentam uma relação entre condições ambientais específicas, como a temperatura (Afrane; Githeko; Yan, 2012; Oladipo et al., 2022). Em 2006, nas regiões de transição na África Oriental, ocorreu o aumento na temperatura em aproximadamente 0,5 ° C na última metade do século 20 (AFRANE, 2006; Afrane; Githeko; Yan, 2012; Pascual et al., 2006). Essa mudança no clima levou à proliferação das populações de mosquitos do gênero *Anopheles* e o aumento na distribuição geográfica em lugar que esses organismos não existiam mais. Esse comportamento foi reatado em regiões do Quênia (Omumbo et al., 2011).

Desde os anos 2000, a malária é uma doença que continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em países em desenvolvimento na África, como Uganda, representando 40% dos pacientes ambulatoriais, 18% de todas as internações hospitalares e aproximadamente 20% das mortes (Pascual et al., 2006).

Em 2021, foram registrados mais de 241 milhões de casos e mais de 600.000 mortes, uma doença endêmica, pois afeta 95% do território (Oladipo et al., 2022). As previsões em regiões africanas mostram que tanto as temperaturas mínimas quanto as máximas e a umidade específica

serão maiores em 2036-2065, mostrando uma projeção de taxas mais altas no número de casos de malária (Sadoine et al., 2024).

3.4.3 Febre amarela

A febre amarela apresenta disponibilidade de uma vacina segura contra ela desde 1936 (Monath; Vasconcelos, 2015), no entanto, relatos de surtos recentes em países como Angola, República Democrática do Congo e Brasil demonstram que o vírus da febre amarela continua sendo uma ameaça significativa à saúde pública. Esse vírus, pertencente à família *Flaviviridae* (gênero *flavivírus*), é transmitido por mosquitos dos gêneros *Haemagogus*, *Sabethes* e *Aedes* (Monath, 2001; Silva et al., 2020). Atualmente, a febre amarela tem afetado principalmente o subcontinente africano, com Gana registrando o maior número de casos confirmados (37,7%). Mais recentemente, Angola enfrentou um surto da doença, com letalidade entre 10% e 13%, além de relatos de casos importados na República Democrática do Congo.

No Brasil, o surto de 2016-2018 foi o maior das últimas décadas, resultando em 2.166 casos e 751 mortes, com uma taxa de letalidade de 35%, especialmente na região Sudeste. Minas Gerais foi o estado mais afetado, concentrando 45% dos casos, totalizando 1.002 registros e 340 mortes (Lindsey et al., 2022).

3.5 Influências das mudanças climáticas nas estratégias de controle de vetores e transmissão de doenças

Novos esforços de prevenção e controle são necessários para combater as possíveis consequências das mudanças climáticas na distribuição geográfica e na incidência das arboviroses como dengue, febre amarela, malária, Zika, incluindo novas ferramentas e tecnologia que possam somar aos métodos de controle convencionais dos isentos vetores (Kharwadkar; Herath, 2024). Além de investimentos em vacinas que possam abranger o número máximo de arbovírus. Atualmente há vacina disponível somente para a infecção de dengue. As autoridades de saúde do Brasil estão apressando o fornecimento limitado de uma vacina recentemente aprovada enquanto lutam para conter um aumento sem precedentes da dengue (Taylor, 2024).

As principais estratégias para o sucesso do controle vetorial: pulverização ou aplicação de inseticidas, monitoramento e vigilância de infecções, vêm enfrentando problemas de efetividade, pois se esses métodos de controle convencionais não forem bem utilizados de forma correta e bem-sucedida, podem implicar no ciclo de transmissão (Muturi; Alto, 2011).

Esses inseticidas agem no sistema nervoso e enzimático dos insetos e têm sido amplamente utilizados em programas de controle químico para reduzir a incidência de doenças transmitidas por vetores (Braga; Valle, 2007). No entanto, o uso intensivo desses produtos exerce uma pressão seletiva que leva ao desenvolvimento de resistência em populações de mosquitos. Os principais fatores que contribuem para essa resistência incluem o uso de concentrações mais elevadas na tentativa de recuperar a eficácia do produto, o que, por sua vez, resulta em um aumento na frequência de aplicação. Nesses casos, a substituição do inseticida torna-se necessária, embora essas práticas tenham consequências ambientais negativas (Herath et al., 2024; Suman et al., 2013).

Os parâmetros investigados estão ligados aos organismos-alvo e aos compostos utilizados para controlar os vetores. Os organismos podem ser afetados em sua fisiologia e ecologia e os compostos podem sofrer alterações dependendo de sua composição química e intervenções abióticas (pH, temperatura, oxigenação, níveis de outros compostos, entre outros) e intervenções bióticas diante das mudanças climáticas (Anoopkumar; Aneesh, 2022).

3.6 Processo fotodinâmica como ferramenta de controle vetorial

O processo de IFD surge como uma abordagem promissora, oferecendo possibilidades no controle de DTVs. Essa técnica envolve a ação combinada de três componentes fundamentais: FS, comprimento de onda específico da luz e oxigênio molecular, gerando espécies oxidativas reativas capazes de induzir a morte de organismos, como bactérias, fungos, vírus, células cancerígenas, parasitas, insetos e pragas. (Dondji et al., 2005; Lima et al., 2022a, 2018c). No contexto do controle vetorial, desempenha um papel importante, especialmente relacionado à saúde pública (transmissão de doenças, como: dengue, malária) e agricultura (pragas agrícolas) (Lima, Dias, et al., 2022).

A IFD tem sido explorada como uma abordagem alternativa para controle de vetores transmissores de doenças, usando FSs específicos que visam as estruturas vitais dos insetos, levando à morte. Os mais recentes são derivados de xanteno, algumas porfirinas, fenotiazinas e

curcumina. Esses compostos possuem bandas de absorção e podem ser ativados pela luz solar natural, luz artificial branca e diodo emissor de luz (LED) (Jori, 1985; Lima, Dias, et al., 2022). A aplicação pode ser em solução aquosa ou formulados em atrativos. A **Figura 6** representa um esquema do mecanismo de ação da IFD em vetores.

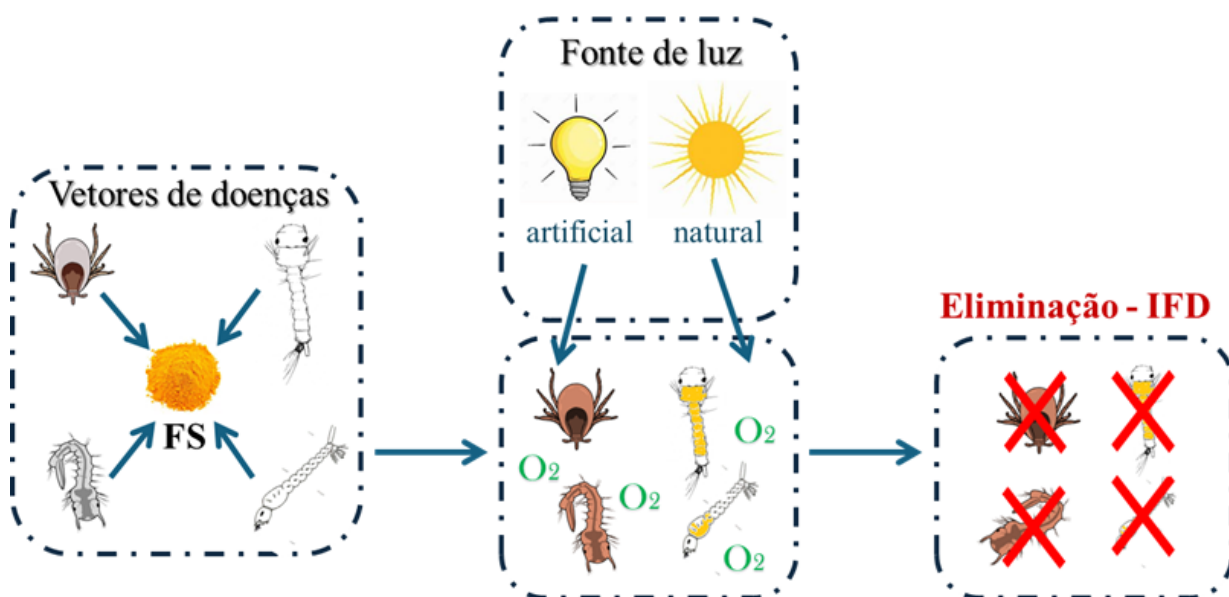


Figura 6. Representação esquemática do mecanismo de ação da IFD em vetores de DTNs, como: dengue, Chikungunya, Zika, febre amarela, doença de Lyme, febre maculosa e doença de Powsan.

Ao contrário dos inseticidas convencionais, que geralmente contêm produtos químicos persistentes e tóxicos para organismos não-alvo, a IFD oferece uma alternativa mais seletiva e ecológica (Lima et al., 2022; Venturini et al., 2020). Os inseticidas químicos podem levar ao desenvolvimento da resistência aos vetores (seleção de populações resistentes), além de contaminar terra, água e afetar a biodiversidade (Aktar; Sengupta; Chowdhury, 2009; BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, 2007; Eder et al., 2018; Raul R. Braga, 2024). Além de permanecer no ambiente por períodos prolongados e causar efeitos colaterais adversos na fauna e na flora.

Outra vantagem do IFD é que o FS gera fotodegradação e seus fotoprodutos também não são tóxicos, tornando-se ambientalmente seguros e reduzindo os impactos negativos a longo prazo, garantindo um uso mais sustentável (Garbuio et al., 2022; Lima et al., 2022c; Mezzacappo et al., 2021). A **Tabela 1** apresenta estudos que usaram a técnica de IFD com vários FS em diferentes vetores de doenças nos últimos 5 anos.

Tabela 1. Estudos que utilizaram a técnica IFD com vários FS em diferentes vetores de doenças entre os anos de 2020 e 2025.

FS	Fonte de luz	Escala de experimentos	Espécies	Referencias
DMC (curcumina)	Luz solar	Laboratório e campo simulado	<i>Aedes aegypti</i>	(De Souza et al., 2020)
DMC (curcumina)	Lâmpadas fluorescentes	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i>	(Mezzacappo et al., 2021)
meso-tetra (n-piridil) porfirina (3-PtTPyP)	LEDs	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i>	(Silva et al., 2021)
derivados de nafto[1,8-ef]isoindol-7,8,10 (9H)-triona e oxoisoaporfina	LEDs e luz solar	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i>	(Xu; Feng; Shao, 2021)
Riboflavina	LEDs	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i>	(Lima et al., 2022a)
clorofilina, equinocromo, azul de metileno, ftalocianina, rodamina 6G, riboflavina, safranina e foxima	Luz solar	Laboratório	<i>Hyalomma dromedarii</i>	(Mohammed et al., 2022)
CCD1, CCD2, CCD3 and CCD4 (curcumina)	Lâmpadas fluorescentes e luz solar	Laboratório e campo simulado	<i>Aedes aegypti</i>	(Garbuio et al., 2022)
Azul de metileno e rosa bengala	LED	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i> e <i>Anopheles gambiae</i>	(Meier; Hillyer, 2024)
Porfirinas	Luz solar	Laboratório	<i>Rhipicephalus microplus</i>	(Gomes et al., 2024)
CCD3 (curcumina)	Lâmpadas fluorescentes	Laboratório	<i>Aedes aegypti</i>	(Garbuio et al., 2024)

3.7 Perspectivas da ação fotodinâmica para o controle vetorial em um cenário de mudanças climáticas, considerando as pesquisas atuais

A inter-relação dos impactos das mudanças climáticas na economia e nas medidas de controle do DTVs precisa ser investigada mais a fundo. Há também a necessidade de monitoramento de longo prazo da atividade do vetor e das doenças que eles transmitem, a fim de melhor detectar e atribuir os efeitos das mudanças climáticas no surgimento e reemergência do DTVs. Isso pode ser alcançado financiando observatórios de saúde e melhorando os sistemas de vigilância de doenças em todo o mundo.

Nas últimas décadas, o desenvolvimento da medicina moderna e o desenvolvimento socioeconômico trouxeram alternativas para medidas mais eficazes de intervenção e controle de vetores (Lozano et al., 2012). No entanto, melhorias em escala global mascaram grandes mudanças que ocorrem em nível regional. A frequência de estudos acadêmicos que fazem referência à ligação

entre doença e clima quase dobrou (Altizer et al., 2013; Fang; Hu; Pan, 2024). No entanto, o fator mudança climática não é muito abordado envolvendo alternativas de controle.

Estudos envolvendo inseticidas, inibidores de crescimento e mudanças de temperatura destacam a relação entre o tempo de exposição e sua eficiência. A temperatura influencia diretamente nos resultados, pois pode alterar a concentração de aplicação ou tempo de reaplicação e no caso dos inibidores de crescimento, composto que atua no metabolismo das larvas (distúrbios endócrinos) é possível encontrar problemas também (Moura et al., 2021). No processo de IFD, a temperatura pode influenciar na solubilidade do FS e sua disponibilidade no ambiente (Garbuio et al., 2024; Jagannathan; Abraham; Poddar, 2012).

3.8 Considerações finais

Para aprimorar a tomada de decisões em saúde pública, é essencial mapear os padrões espaciais e temporais de transmissão de doenças transmitidas por vetores e correlacioná-los com dados históricos sobre mudanças climáticas e transformações socioecológicas. Isso permitirá projeções mais precisas de riscos futuros e subsidiará estratégias preventivas mais eficazes.

Evidências científicas já demonstram que as mudanças climáticas impactaram significativamente os sistemas patógeno-vetor-hospedeiro, especialmente em regiões em transição climática. Surtos mais graves de DTNs, impulsionados pela expansão de vetores e dos patógenos que eles transmitem, confirmam previsões anteriores de especialistas. Diante desse cenário, governos e instituições de saúde devem integrar as ações de controle de vetores às previsões climáticas, adotando abordagens mais sustentáveis e eficazes.

A implementação de técnicas inovadoras, como a IFD, deve ser priorizada para otimizar o manejo de vetores. Além disso, a alternância entre diferentes estratégias de controle, incluindo o uso criterioso de inseticidas e métodos biológicos, deve conter o avanço da resistência. A falta de ações coordenadas pode agravar o impacto das mudanças climáticas e comprometer a eficácia dos tratamentos e medidas de controle a longo prazo. Portanto, as políticas públicas devem garantir o investimento em pesquisa, fortalecer a vigilância epidemiológica e estabelecer planos de resposta rápida para surtos emergentes. A adoção de estratégias dinâmicas e baseadas em evidências será crucial para minimizar os impactos da dengue e de outras DTNs no futuro.

4 **CAPÍTULO – Influência da temperatura combinada com a inativação fotodinâmica no desenvolvimento do *Aedes aegypti***

Uma versão adaptada deste capítulo foi publicada em:
GARBUIO, Matheus et al. Influence of temperature combined with photodynamic inactivation on the development of *Aedes aegypti*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 45, p. 103977, 2024.

Doi: 10.1016/j.pdpdt.2024.103977

4.1 Introdução

O *Ae. aegypti* atua como vetor responsável pela transmissão de diversos vírus que podem causar doenças humanas, entre elas: dengue, Chikungunya e Zika, que é listado como uma doença tropical negligenciada e um grande problema de saúde pública (Annelies Wilder-Smith, 2019; Magalhães et al., 2023; “Neglected tropical diseases”, 2023; Parveen et al., 2023). A disseminação desses arbovírus apresenta caráter multivariável, mas a urbanização tem favorecido um cenário com diferentes condições, como micro habitats para os estágios imaturos e o crescimento da população humana, possibilidades de transmissão do vírus (DONDJI et al., 2005; RYAN et al., 2019).

Uma das abordagens mais utilizadas para eliminar o *Ae. aegypti* depende geralmente do controle químico (inseticidas) e sua ação varia de acordo com a substância ativa que afeta tanto a fase imatura quanto a adulta. A aplicação por longos períodos tem provocado uma seleção de populações resistentes (BRAGA, IMA APARECIDA; VALLE, 2007; LUNA et al., 2004; MACORIS, M. DE L.; MARTINS, A. J.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; LIMA, J. B. P.; VALLE, 2018). Portanto, é importante buscar métodos alternativos de controle vetorial, contando com diferentes mecanismos, para evitar o processo de resistência.

Nesse sentido, a IFD mostra-se como uma alternativa promissora no controle de doenças transmitidas por vetores (Lima et al., 2022b) particularmente contra *Ae. aegypti* (DONDJI et al., 2005; LIMA et al., 2018, 2022b). O potencial do uso de FSs sob luz visível para o controle da população de larvas foi demonstrado por pesquisas anteriores (De Souza et al., 2019; Garbuio et al., 2022) utilizando curcumina, um corante extraído das raízes de *Curcuma longa*, comumente conhecido como cúrcuma.

A temperatura é um dos fatores abióticos mais importantes para a sobrevivência dos insetos, pois influencia a fisiologia, o comportamento, a ecologia e sua distribuição. Os mosquitos são organismos ectodérmicos, ou seja, possuem temperaturas internas que dependem de condições externas (FARNESI et al., 2009; REINHOLD; LAZZARI; LAHONDÈRE, 2018). Devido às mudanças sazonais e variações térmicas, os mosquitos podem enfrentar dessecação, alterações metabólicas e até mesmo mobilidade prejudicada. No entanto, ao longo do tempo evolutivo, esses insetos desenvolveram estratégias para lidar com variações térmicas e evitar o estresse térmico. Quer sintetizem proteínas de choque térmico, termo regulem ou ajustem a sua atividade

comportamental, os mosquitos são capazes de manter a integridade celular para otimizar a sua aptidão e sobrevivência (REINHOLD; LAZZARI; LAHONDÈRE, 2018; SALINAS; FERIA-ARROYO; VITEK, 2021). Apesar desses mecanismos, a temperatura influencia no tempo de exposição e eficiência de tratamentos químicos convencionais em geral e inseticidas (MOURA et al., 2021; SAMMARRO SILVA et al., 2022). Dado que a temperatura é um fator abiótico chave para a sobrevivência e desenvolvimento dos insetos, é importante avaliar se ela afeta o desempenho da IFD.

Neste capítulo o objetivo do estudo foi avaliar os impactos de diferentes temperaturas no processo de IFD realizadas em doses subletais de uma formulação a base de curcumina e luz visível. O efeito dos danos causados pela IFD no ciclo de vida do inseto vetor *Ae. aegypti*, considerando o desenvolvimento larval, proporção sexual entre machos e fêmeas, longevidade de adultos e peso.

4.2 Objetivos

4.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C) no processo de IFD de larvar do vetor *Ae. aegypti* em doses subletais de uma formulação co-cristalizada a base de curcumina e luz visível.

4.2.2 Objetivos Específicos

Determinar a porcentagem da eclosão das larvas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller; nas diferentes temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C;

Determinar o tempo do desenvolvimento larval do vetor *Ae. aegypti* antes e após o processo de IFD nas diferentes temperaturas;

Determinar as $CL_{25,50,90-24h}$ da formulação de curcumina através de ensaios de IFD em larvas de *Ae. aegypti* em diferentes temperaturas;

Analisar a proporção sexual dos mosquitos machos e fêmeas submetidos a IFD e grupo controle nas temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C;

Analisar o perfil da taxa de longevidade dos mosquitos machos e fêmeas divididos em grupo controle e os submetidos à IFD nas diferentes temperaturas;

Determinar o peso corporal dos mosquitos machos e fêmeas do *Ae. aegypti* para os grupos controle e IFD para as diferentes temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C.

4.3 Materiais e Métodos

4.3.1 Experimental

A **Figura 7** apresenta um diagrama simplificado do esquema experimental realizado no presente estudo. Detalhes são fornecidos posteriormente para bioensaios e cada um dos parâmetros analisados através do desenvolvimento de larvas e mosquitos.

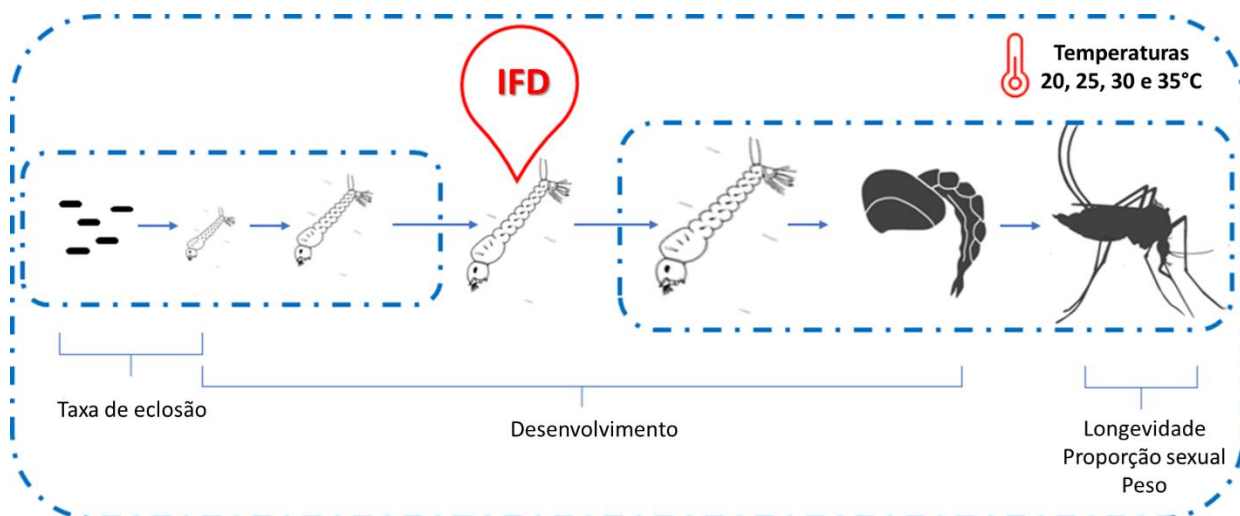


Figura 7. Esquema experimental durante todo o desenvolvimento do ciclo de vida do vetor *Ae. aegypti* (ovo, L1: larva estágio 1, L2: larva estágio 2, L3: larva estágio 3, L4: larva estágio 4, pupa e mosquito). Seguindo do processo de inativação fotodinâmica contra as larvas *Ae. aegypti* sob quatro diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C).

4.3.2 Preparo da formulação do FSs

O D-manitol foi obtido da Sigma-Aldrich. A curcumina foi sintetizada de acordo com a literatura (Carmona-Vargas et al., 2017), fornecida pelo Laboratório de Química Bioorgânica – Universidade Federal de São Carlos – UFSCar (São Carlos, SP – Brasil).

As formulações com D-manitol e curcumina (50:50 p/p) foram preparadas de acordo com o protocolo (Garbuio et al., 2022). Em um Becker de vidro, a curcumina foi solubilizada em álcool etílico (99,5%) e foram mantidos sob agitação magnética a 80 °C. Após a dissolução da curcumina, em outro recipiente adicionou-se o D-manitol solubilizado em água destilada, temperatura ambiente. Posteriormente adicionado no Becker da curcumina e mantido sob agitação a 100 °C por 1 h. Após evaporação dos solventes (2 h de termoagitação), o sólido formado foi removido do Becker e acondicionado em frasco o qual foi mantido para secagem sob alto vácuo (5 mmHg) por 12 h adicionais.

4.3.3 Ciclo de vida do vetor *Aedes aegypti*

A linhagem de mosquitos da cepa *Rockefeller*, uma cepa de referência suscetível a inseticidas, foi utilizados em todos os ensaios biológicos. As larvas foram eclodidas em água sem cloro e mantidos em incubadora sob condições controladas para cada grupo experimental (20, 25, 30 e 35 °C) sob fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro com 60±5% de umidade. A viabilidade dos ovos foi calculada pela proporção percentual de ovos (previamente preservados em papel de filtro seco) eclodidos após imersão em água sem cloro. Os cálculos foram realizados considerando 500 ovos para cada condição experimental.

O tempo total de desenvolvimento do ciclo de vida foi verificado para cada indivíduo, contabilizando o número de dias entre a imersão do ovo na água e a emergência do adulto (Paris; David; Despres, 2011). A **Figura 7** mostra, um bloco que compreendeu o primeiro (L1), o segundo (L2) e o terceiro estágio (L3), bem como o quarto estágio (L4) e o estágio de pupa (P). Isso porque quando as larvas atingiram L3, foram submetidas à IFD sob as diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), portanto alguns dos parâmetros de desenvolvimento refere-se a organismos sobreviventes, conforme descrito nas próximas seções.

4.3.4 Bioensaios

A atividade fotolarvicida foi avaliada de acordo Garbuio (Garbuio et al., 2022), com os protocolos padrão, adaptados da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005). Os ensaios foram realizados com 20 a 25 larvas cada, em 150 mL de água destilada (grupo controle) e contendo formulações de curcumina (grupo IFD). As concentrações avaliadas da formulação a base de curcumina foram: 0,00156; 0,00313; 0,00625; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,4 e 0,8 mg/L. Posteriormente as larvas com o FS foram expostas a luz fluorescente ($0,83 \text{ mW/cm}^2$), dose de luz $35,86 \text{ J/cm}^2$ (Figura 8).

A Figura 8 representa o espectro de irradiância da lâmpada fluorescente obtida usando o software *Ocean View* e coletada por uma fibra óptica, sobreposto a banda de absorção da curcumina.

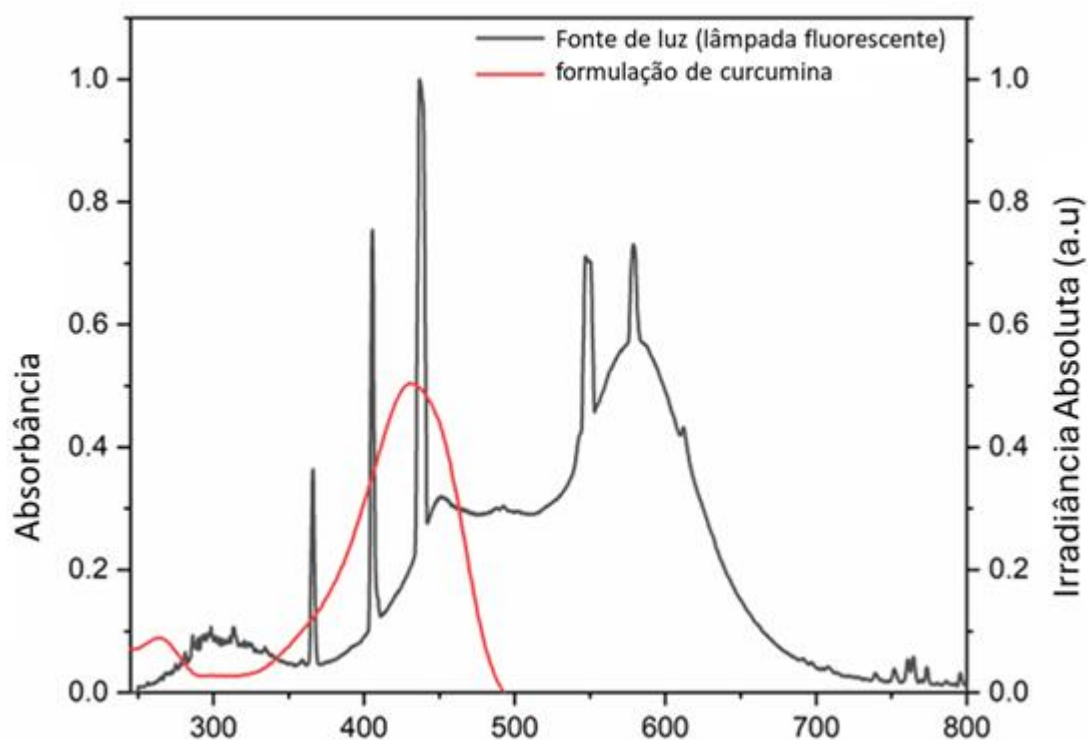


Figura 8. Espectro de absorção normalizado da fonte de luz utilizada nos bioensaios (linha preta) e espectro de absorção da formulação de curcumina (linha vermelha).

A mortalidade larval (%) foi registrada 24 h após a IFD (três repetições genuínas para cada grupo experimental, realizadas em ocasiões diferentes e em triplicatas para cada concentração).

Após os ensaios fotolarvicidas, as larvas sobreviventes foram devolvidas às bandejas limpas com água deionizada divididas em dois grupos: controle e IFD para dar continuidade ao desenvolvimento do ciclo de vida. Na fase de pupa, os grupos foram colocados em gaiolas de criação plásticas com tela medindo 30x30x30 cm para a emergência dos mosquitos. Os adultos foram mantidos a 20, 25, 30 e 35 °C e 60±5% de umidade relativa sob fotoperíodo de 12:12 h.

4.3.5 Parâmetros de desenvolvimento de indivíduos sobreviventes

O sexo de cada indivíduo foi determinado após a emergência dos adultos nas gaiolas de criação. O número de machos e fêmeas em diferentes temperaturas foi avaliado levando à proporção sexual. O peso dos indivíduos considerou 40 indivíduos (20 machos e 20 fêmeas) de cada grupo experimental. Esta análise contou com ponderação direta em escala analítica. A nutrição foi realizada pela adição de mel como fonte de carboidrato, pois a ingestão é a principal fonte nutricional (metabolismo energético) e seu acúmulo (glicogênio e triglicerídeos) pode determinar um potencial na atividade e longevidade dos mosquitos (Consoli; Oliveira, 2011; Nayar; Sauerman, 1973).

A sobrevivência dos adultos foi medida em número de dias entre a emergência dos adultos e a morte. A longevidade dos adultos foi avaliada, comparando com base no sexo e nas temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C respectivamente.

4.3.6 Análises estatísticas

Os valores das concentrações letais ($CL_{25;50;90}$) foram obtidos por meio de dose-resposta por regressão não linear, calculada por meio do software Origin 2020. Para comparações entre grupos (taxa de eclosão e longevidade de adultos), ANOVA unidirecional, com teste *post-hoc* de Tukey. O teste t de *Student* foi utilizado com dois grupos de comparação (tempo de desenvolvimento, proporção sexual e peso). Todos os testes estatísticos foram aplicados considerando intervalo de confiança de 95%.

4.4 Resultados e Discussões

4.4.1 Taxa de eclosão

Após 48 h de imersão dos ovos em água sem cloro, foi calculada a porcentagem de viabilidade. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) na viabilidade de *Ae. aegypti* eclodiram em diferentes temperaturas, conforme mostra a **Figura 9**.

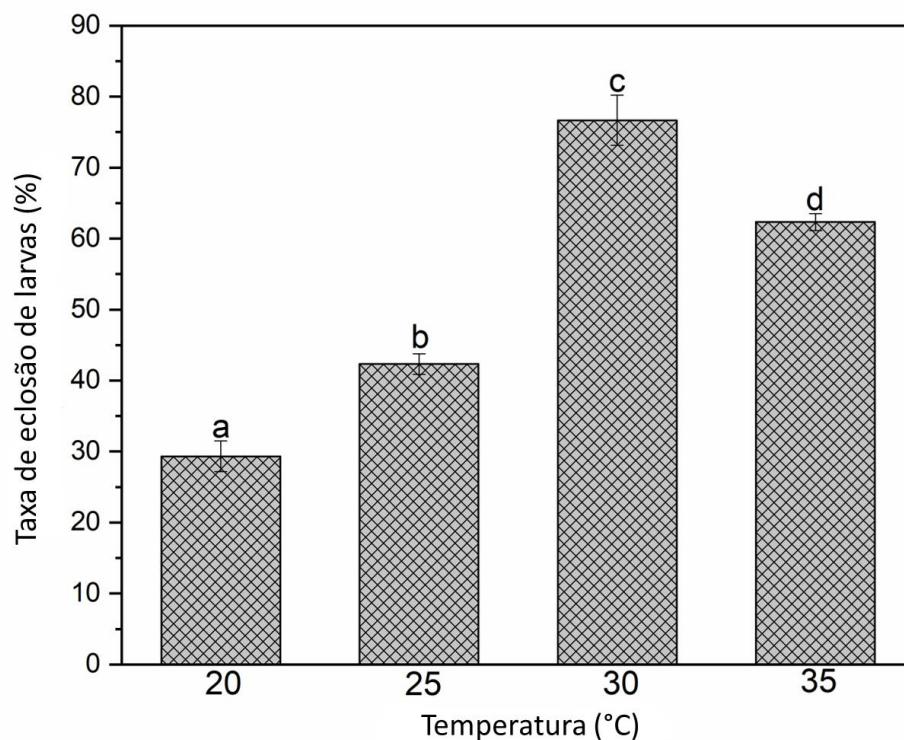


Figura 9. Porcentagem média de larvas eclodindo nas temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os dados mostram que a maior taxa de eclosão de ovos para *Ae. aegypti* foi obtida a 30 °C (~78%) na faixa de temperaturas avaliadas, o que é consistente com a informação de que esta espécie é mais adaptada e possui ciclo de vida presente entre temperaturas de 26 – 30 °C. Este resultado está de acordo com o relato da espécie, que está adaptada a climas tropicais e subtropicais (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

A temperatura pode afetar a dinâmica populacional como: o desenvolvimento, a densidade e a dispersão dos mosquitos, além da embriogênese e da diapausa dos ovos (Carrington et al., 2013; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). De acordo com a literatura científica (Calado; Navarro da

Silva, 2002), cepas de *Ae. albopictus*, uma espécie de mosquito que possui o mesmo gênero do *Ae. aegypti*, semelhanças na morfologia e no ciclo evolutivo, a viabilidade dos ovos foi maior em temperaturas mais baixas (15-25 °C) (regiões de clima temperado e subtropical), pois a espécie possui capacidade de desenvolvimento nestas condições. Löwenberg Neto (2018) e Navarro-Silva (2004) mostram que quando as fêmeas são criadas sob um regime térmico de 20 – 27 °C elas têm melhores ciclos gonadotróficos, aumentando a postura e a produção de ovos viáveis (NETO; MÁRIO A. NAVARRO-SILVA, 2004; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

O estudo de Farnesi variou a temperatura entre 12-36 °C e avaliou a eclosão de *Ae. aegypti* e a viabilidade dos ovos, resultando em um limite máximo de temperatura de 35 °C e uma temperatura mínima inferior de 12 °C (Farnesi et al., 2009). Edillo demonstrou que a localização dos ovos com diferentes latitudes, amplitudes e clima influenciou na taxa de eclosão dos ovos (Edillo et al., 2022). Beserra e colaboradores, verificaram que a faixa de temperatura entre 22 °C e 30 °C é mais favorável para a fecundidade dos mosquitos adultos, consequentemente para viabilidade dos ovos (Beserra et al., 2006).

4.4.2 Tempo de desenvolvimento

Os resultados indicaram atraso no desenvolvimento das larvas que sobreviveram após a IFD quando comparadas às larvas dos grupos controle para as temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C, respectivamente, apresentado na **Figura 10**.

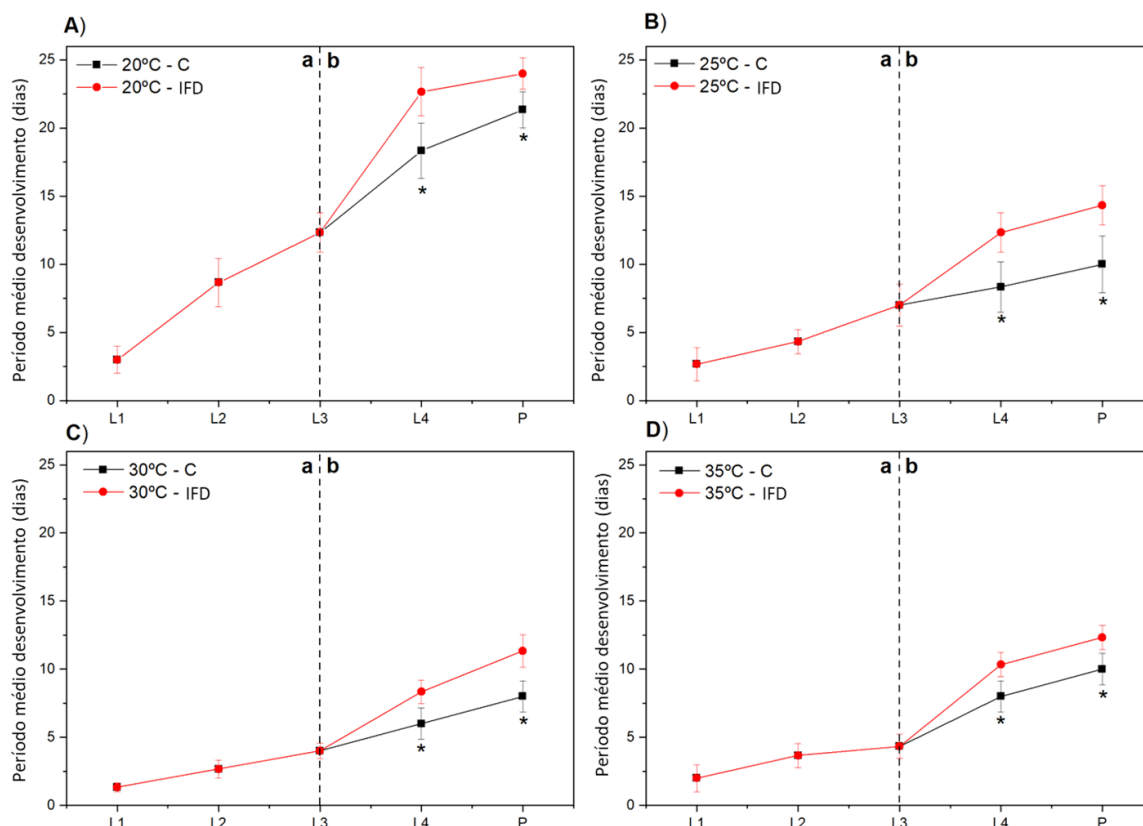


Figura 10. Período médio de desenvolvimento de L1 até a fase de pupa (P) nas diferentes temperaturas: (A) 20 °C, (B) 25 °C, (C) 30 °C e (D) 35 °C. Há dois grupos: controle e IFD, respectivamente. O lado (a) do gráfico representa o desenvolvimento larval antes da IFD, o lado (b) depois da IFD e a linha tracejada no momento em que ocorreu a IFD. O símbolo (*) indica diferença estatística de médias ($p < 0,05$).

A **Figura 10A** mostra o desenvolvimento de larvas submetidas a uma temperatura constante de 20 °C. Os resultados mostraram desenvolvimento larval em $21,3 \pm 1$ dias para controle e 24 ± 1 dias para IFD. A 25 °C 10 ± 2 dias para controle e $14,3 \pm 1$ dias para IFD (**Figura 10B**). Na **Figura 10C** (temperatura de 30 °C) os resultados mostram um desenvolvimento de 9 ± 1 dias para o controle e $11,3 \pm 0,9$ para o IFD. E para a temperatura mais alta (35 °C), 10 ± 1 dias (controle) e $12,3 \pm 0,9$ (IFD) (**Figura 10D**). Todas as temperaturas avaliadas apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle após IFD ($p < 0,05$).

As consequências no desenvolvimento podem estar nos danos causados pela curcumina, pois após a IFD, ela gera estresse oxidativo, danificando as células epiteliais do intestino médio das larvas (De Souza et al., 2019; MACORIS, M. de L.; MARTINS, A. J.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; LIMA, J. B. P.; VALLE, 2018). Além disso, esses danos sugerem uma diminuição na capacidade de absorção de nutrientes do intestino médio, que é o principal órgão das larvas para

digestão e absorção de nutrientes (Raya et al., 2009). Esse atraso dificulta o próximo estágio de metamorfose, fato corroborado por resultados encontrados em pesquisas semelhantes de IFD (BM Hasspieler, JT Arnason, 1988; Mezzacappo et al., 2021).

4.4.3 Ensaios larvicidas

Os resultados dos valores de concentração letal (CLs) da ação fotodinâmica e a mortalidade larval para as diferentes temperaturas 20, 25 30 e 35 °C após 24 h de exposição e 12h de irradiação, e são apresentados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Concentração letal (CL_{25;50;90}) da formulação de curcumina em larvas de *Aedes aegypti* expostas por 24 h em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	CL _{25-24h} (mg/L) (LIC-LSC)	CL _{50-24h} (mg/L) (LIC-LSC)	CL _{90-24h} (mg/L) (LIC-LSC)
20	0.008 (0.007-0.009)	0.044 (0.017-0.112)	0.720 (0.647-0.905)
25	0.006 (0.004-0.007)	0.027 (0.021-0.035)	0.431 (0.322-0.653)
30	0.005 (0.004-0.006)	0.019 (0.016-0.023)	0.224 (0.173-0.318)
35	0.004 (0.003-0.006)	0.013 (0.010-0.016)	0.099 (0.074-0.140)

CL, concentração letal; LIC, limite inferior de confiança de 95%; LSC, limite superior de confiança de 95%.

A **Tabela 2** foi estruturada com o objetivo de contribuir para estudos futuros com os valores de CL_{25-24h} para estudos de dose subletal, CL_{50-24h} para comparações e CL_{90-24h} para testes de semi-campo ou de campo simulado. De acordo com os resultados, seguindo ordem crescente em função da temperatura, a CL_{50-24h} foi de 0,044 (20 °C), 0,027 (25 °C), 0,019 (30 °C) e 0,013 (35 °C), respectivamente.

Os resultados mostram que o aumento da temperatura favoreceu o processo de IFD. A hipótese é que a temperatura pode ter influenciado a solubilidade da curcumina e a disponibilidade de FS para interagir com meio celular, conforme sugerido pelos resultados de letalidade larval. Segundo Jagannathan (Jagannathan; Abraham; Poddar, 2012), à medida que a temperatura aumenta entre 25 e 95 °C, as ligações de hidrogênio intramoleculares tornam-se mais livres, expondo as regiões polares, levando à dissolução e disponibilidade da curcumina no meio.

Outro fator que deve ser levado em consideração é o metabolismo das larvas, em que temperaturas inferiores a 22 °C podem levar à diapausa e conseqüentemente menor mobilidade e

busca por alimento (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). Esses fatores corroboram os resultados encontrados no presente estudo, onde temperaturas mais baixas apresentaram maiores concentrações de CL₅₀. Quanto às temperaturas mais elevadas, deve-se notar que a transmissão máxima de Dengue, Chikungunya e Zika varia de 26 a 29 °C, com base em modelos mecanísticos relatados (Mordecai et al., 2017). Isso chama a atenção para a atuação do IFD nesse intervalo, mostrando uma perspectiva promissora, para cenários em que mudanças de temperatura podem favorecer a transmissão de arbovírus (Mordecai et al., 2020). A eficiência melhorada do IFD a 30 °C é um método que talvez pudesse ser compensatório em tal cenário.

4.4.4 Análise de proporção sexual

Os resultados da **Figura 11** mostram a proporção sexual entre macho e fêmeas dos mosquitos adultos nos dois grupos: controle e IFD, em diferentes temperaturas, 20, 25 30 e 35 °C respectivamente.

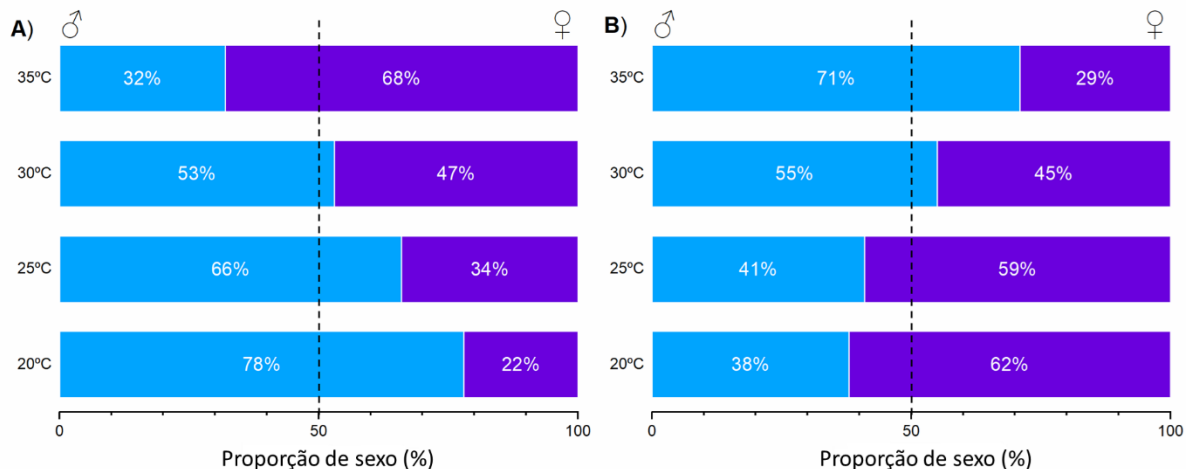


Figura 11. Proporção sexual entre machos e fêmeas dos mosquitos adultos emergidos após exposição a diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35 °C), grupos: (A) controle e (B) IFD.

Isso pode estar associado a mudanças ambientais, como estresse nutricional ou térmico. Na **Figura 11A**, é mostrada a proporção sexual entre machos e fêmeas para o controle em função da temperatura. A proporção de fêmeas fica entre 22 e 34% para temperaturas de 20 e 25 °C, respectivamente. Para temperaturas de 30 e 35°C houve aumento na proporção de fêmeas variando

entre 47 e 68%, respectivamente. Altas temperaturas (26-35 °C) favorecem a alimentação das larvas (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). De acordo com Steinwascher, as larvas estão sempre competindo por comida e as fêmeas são geralmente dominantes sobre os machos (Steinwascher, 2018).

Na **Figura 11B**, combinando a IFD e temperatura, a proporção sexual foi inversamente proporcional ao grupo controle. As larvas de *Ae. aegypti* que receberam esse tratamento fotolarvicida e temperatura apresentaram maior proporção de machos, aumentando gradativamente em 38, 41, 51 e 78% em função do aumento de temperatura de 20, 25, 30 e 35 °C, respectivamente. Sugerimos que com o domínio das fêmeas na dieta, as partículas de curcumina ficaram retidas em maior quantidade no tecido celular e no intestino médio, possivelmente por mais tempo em comparação aos machos, e conseqüentemente as fêmeas são mais suscetíveis aos danos causados pelo processo IFD. Outros estudos também observaram que na fase L3, aplicando a técnica IFD para controle de larvas, as fêmeas retêm uma quantidade de alimento para o desenvolvimento e completa metamorfose (Mezzacappo et al., 2021; Steinwascher, 2018).

4.4.5 Longevidade dos adultos

A resultados mostrado na **Figura 12** são o perfil da taxa de longevidade dos mosquitos machos e fêmeas divididos em grupo controle e que foram submetidos à IFD em quatro temperaturas diferentes (20, 25, 30 e 35 °C). Os adultos mortos foram excluídos da análise porque representam entre 1-2% da população total.

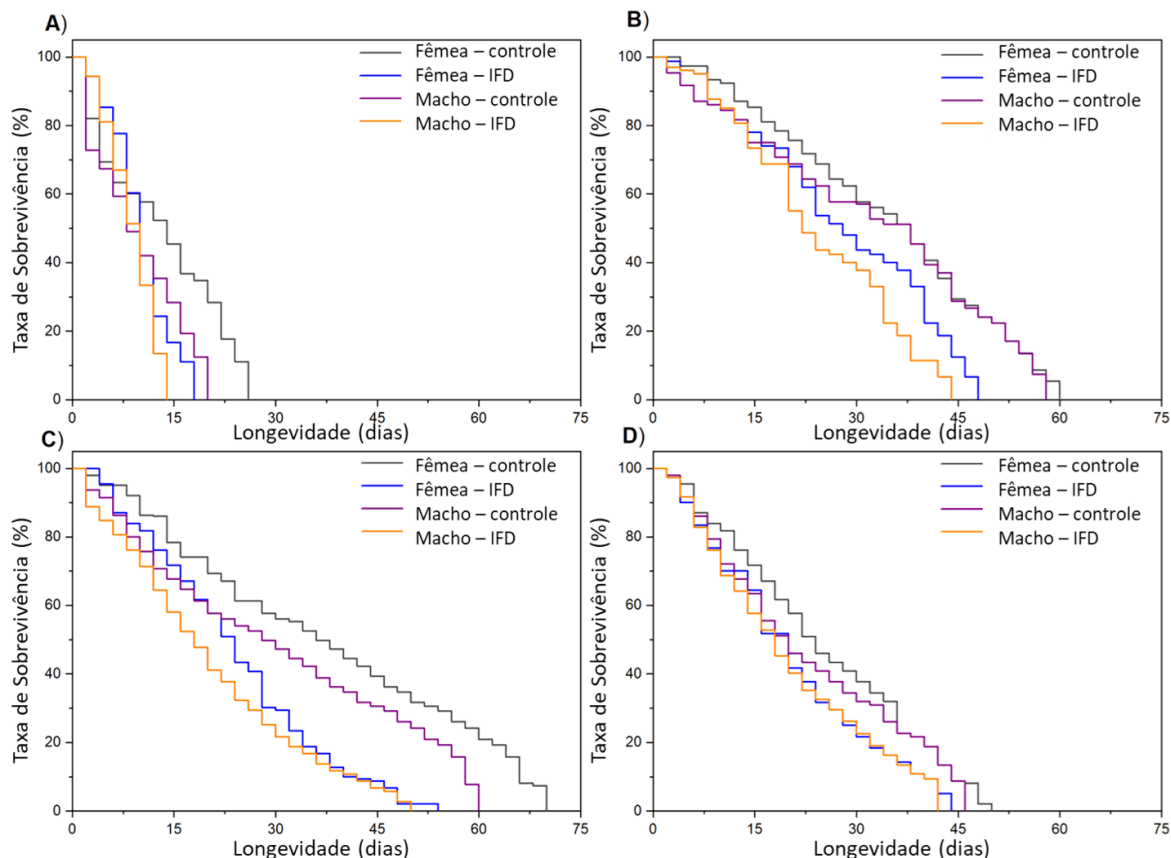


Figura 12. Taxa de sobrevivência entre mosquitos de adultos machos e fêmeas expostos a diferentes temperaturas: 20 °C (A), 25 °C (B), 30 °C (C) e 35 °C (D), divididos em dois grupos, controle (somente temperatura) e IFD mais temperatura.

A 20 °C, as fêmeas dos mosquitos sobreviveram 26 dias no grupo controle e 18 no grupo IFD, os machos sobreviveram apenas 20 dias no grupo controle e 14 IFD (**Figura 12A**). Na **Figura 12B** 60 e 48 dias para fêmeas a 25 °C nos grupos controle e IFD, respectivamente, e machos 58 dias (controle) e 44 (IFD). 30 °C foi a temperatura em que os mosquitos apresentaram maior sobrevivência em relação às demais temperaturas (**Figura 12C**), as fêmeas sobreviveram 70 dias no grupo controle e 54 no grupo IFD e os machos 60 dias (controle) e 50 (IFD). E na **Figura 12D**, representando a temperatura mais alta do presente trabalho, a sobrevivência dos mosquitos foi mostrada em 50 (controle) e 44 dias (IFD) para fêmeas e para machos, 46 e 42 dias para os grupos controle e IFD respectivamente.

Considerando apenas a temperatura, os dados indicam diferença significativa ($p < 0,05$) para a taxa de perfil de longevidade dos indivíduos mantidos a 20 °C. Essa temperatura não foi

favorável ao desenvolvimento do vetor, pois *Ae. aegypti* são encontrados principalmente em climas subtropicais e tropicais (26–30 °C), conforme descrito (Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018). Além disso, um maior custo fisiológico, como alterações no metabolismo e no gasto energético, pode refletir na longevidade, anteriormente também observado por Guitiérrez e colaboradores (Jeffrey Gutiérrez et al., 2020).

Ao comparar a sobrevivência dos mosquitos machos e fêmeas dos dois grupos (controle e IFD), houve evidência de que as fêmeas tiveram maior sobrevivência que os machos em todas as condições experimentais ($p < 0,05$), exceto a 25 °C (não houve diferença significativa). Isso porque, em condições naturais, as fêmeas têm uma expectativa de vida maior que os machos, cada sexo desempenha um papel específico na sobrevivência e reprodução da espécie (CHRISTOPHERS, 1960; CLEMENTS, 1963; Consoli; Oliveira, 2011). Enquanto os mosquitos machos estão relacionados à possibilidade de acasalamento (competições territoriais ou disputas por parceiros), as fêmeas estão diretamente ligadas aos seus ciclos gonadotróficos, como alimentação sanguínea, oviposição de descendentes e posteriormente ação vetorial (CLEMENTS, 1963; Consoli; Oliveira, 2011; Reinhold; Lazzari; Lahondère, 2018).

Os mosquitos (machos e fêmeas) que sobreviveram à IFD apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle, demonstrando redução na longevidade. Esse resultado também pode indicar redução na transmissão de arboviroses, por meio da redução do tempo de vida dos mosquitos. Alguns autores, como Belinni e colaboradores (Bellini et al., 2014), mostraram longevidade reduzida em *Ae. aegypti* foram expostas ao diflubenzuron, assim como outras com diflubenzuron e metopreno (Da Silva; Mendes; Lomônaco, 2009; David et al., 2018). Outros resultados utilizando reguladores de crescimento mostraram similaridade, como: triflumuron (Belinato et al., 2009) e spinosad (Fernandes et al., 2014). E mais recentemente, Mezzacappo, usando uma formulação de curcumina, mostrou semelhanças nos resultados, em que os mosquitos de ambos os sexos apresentam redução na sobrevivência (grupo IFD) em comparação ao controle (Mezzacappo et al., 2021).

Ao contrário de outros inseticidas, a curcumina é um composto natural que, como fotolarvicida, apresenta múltiplos locais de atividade através dos processos oxidativos dos mecanismos IFD. As concentrações (CL_{50}) utilizadas na atividade larvicida em *Ae. aegypti* nesses estudos com curcumina (De Souza et al., 2020; Garbuio et al., 2022) são menores em comparação aos estudos com óleos essenciais: valores de 2 a 10 mg/L (Furtado et al., 2005) e óleo essencial de

Pimenta dioica Lindl. (26,91 mg/L) (Martins et al., 2020). Os resultados obtidos com IFD também são inferiores quando comparados a outros extratos vegetais: Coelho e colaboradores (Coelho et al., 2009) obtiveram 197 mg/L com lectina de *Moringa oleifera*, extratos de *Syzigium Aromaticum*, *Lippia medoides* e *Hyptis martiusii*, com valores de 18,5, 19,5 e 21,4 mg/L, respectivamente (Costa et al., 2005).

Além disso, Venturini (Venturini et al., 2020) e Garbuio (Garbuio et al., 2022) demonstraram que em testes de ecotoxicidade da curcumina (testes agudos), até 100 mg/L podem ser utilizados seguindo o protocolo da OECD (OECD, 1992), que não apresenta toxicidade em alguns organismos não-alvo, como *Danio rerio*.

4.4.6 Análise de peso do inseto

A **Figura 13** mostra os resultados do peso corporal dos mosquitos machos e fêmeas do vetor *Ae. aegypti* para os grupos controle e IFD para as diferentes temperaturas 20, 25, 30 e 35 °C, respectivamente.

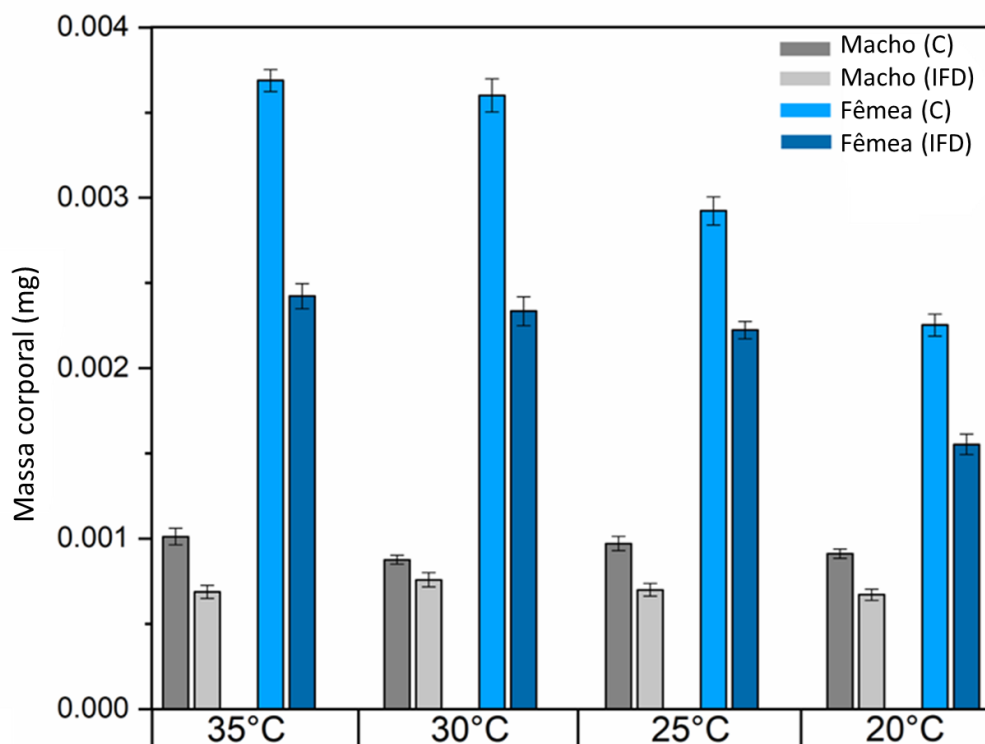


Figura 13. Peso (mg) de fêmea adulta de *Ae. aegypti* machos (controle e IFD (não alimentados com sangue)).

Os mosquitos machos e fêmeas dos dois grupos (controle e IFD) apresentaram diferença significativa entre eles ($p < 0,005$). Este resultado corrobora os resultados da **Seção 4.4.5**, que também mostram que machos e fêmeas desempenham papéis diferentes na reprodução e na alimentação. As fêmeas tendem a ser mais pesadas devido à necessidade de energia e nutrientes para a maturação dos ovos e oviposição (Juliano et al., 2014; NETO; MÁRIO A. NAVARRO-SILVA, 2004).

Os mosquitos machos não apresentaram diferença significativa quando comparados entre os grupos controle e IFD. Porém, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as fêmeas do grupo controle com IFD em todas as temperaturas. Isso significa que houve diminuição do peso corporal no grupo IFD quando comparado ao grupo controle.

O tamanho corporal dos mosquitos pode estar correlacionado com as reservas totais de proteínas, lipídios e carboidratos adquiridos durante o desenvolvimento larval. Após o teste de IFD com curcumina, Venturini analisou alterações no sistema digestivo de larvas *Ae. aegypti*, como: dobras na membrana peritrófica (camada protetora do epitélio intestinal), constrições em algumas regiões do intestino, formação de vesículas apicais e vacuolização citoplasmática. Essas lesões morfológicas causadas no intestino podem ter dificultado a absorção de nutrientes e o aumento de EROs pode desencadear danos celulares, reprimindo o desenvolvimento. No entanto, as fêmeas menores têm uma esperança de vida mais curta, muitas vezes não realizando a primeira refeição de sangue, reduzindo a sua capacidade vetorial em comparação com as fêmeas maiores. Esses fatores corroboram estudos encontrados na literatura científica por Briegel (Briegel, 1990), Alto (Barry W. Alto, Michael H. Reiskind, 2008) e Juliano et al. (Juliano et al., 2014).

4.5 Conclusões

Como conclusões do presente capítulo, a IFD, quando não totalmente letal, altera o ciclo de vida do *Ae. aegypti* por um atraso no desenvolvimento das larvas, bem como pela morte precoce e por diferença na proporção sexual dos mosquitos adultos emergidos. Isto foi observado em diferentes temperaturas associadas ao processo de IFD.

O efeito térmico também foi notado na letalidade, pois temperaturas mais altas necessitavam de CLs mais baixas. Nesse sentido, a IFD em temperaturas mais altas pode contribuir para o aumento da solubilidade do FS, juntamente com maior atividade larval em temperaturas

mais altas. Estes fatores podem ter contribuído para a absorção de curcumina pelas larvas de *Ae. aegypti*.

A temperatura impactou na eclosão dos ovos, no desempenho do IFD e nos efeitos fisiológicos das larvas e adultos sobreviventes. A eficiência encontrada em diferentes temperaturas incentiva trabalhos futuros considerando cenários extremos. A temperatura influencia diretamente no ciclo de vida do *Ae. aegypti* e na ação de IFD, demonstrando que nos países tropicais, onde apresentam maior incidência do mosquito *Ae. aegypti*, pode ampliar a eficácia da técnica e do controle vetorial.

5 CAPÍTULO – Formulações de microcápsulas de curcumina para persistência prolongada na inativação fotodinâmica de larvas de *Aedes aegypti*

Uma versão adaptada deste capítulo foi realizada o depósito de patente:
Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202401810, título: "Processo de obtenção de microcápsulas de curcumina e formulações fotolarvicidas", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 03/09/2024

5.1 Introdução

A microencapsulação tem se destacado como uma tecnologia versátil e eficaz no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, cosméticas e ambientais, especialmente quando se busca proteger compostos bioativos sensíveis e controlar sua liberação em condições específicas. Essa técnica consiste no revestimento ou aprisionamento de substâncias ativas dentro de uma matriz ou cápsula protetora, proporcionando vantagens como a lidar com a utilização, melhorar a qualidade do produto, maior estabilidade físico-química, mascarar sabor ou odor, aumentar a solubilidade e biodisponibilidade, além de liberação controlada e direcionada do ativo (Huang et al., 2019; Tao et al., 2024).

Entre as diversas técnicas disponíveis, o *spray-drying* (secagem por atomização) é uma das mais amplamente utilizadas devido à sua viabilidade técnica, escalabilidade industrial e baixo custo operacional. Este processo permite a obtenção de partículas secas a partir de uma solução ou suspensão, por meio da atomização em uma câmara de secagem com ar aquecido. A secagem rápida contribui para a preservação de compostos termossensíveis, sendo especialmente indicada para ativos com baixa estabilidade em meio aquoso ou sensíveis à luz, como é o caso da curcumina (Huang et al., 2019; Tao et al., 2024; Wang et al., 2009).

A curcumina, é um composto polifenólico natural extraído do rizoma da *Curcuma longa*, é amplamente reconhecida por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e fotossensibilizantes. No entanto, seu uso é limitado por características como baixa solubilidade em água, instabilidade frente à luz e pH, e rápida degradação em meios aquosos (Du et al., 2025; Nardo et al., 2011; Roshan et al., 2024). Essas limitações motivam o desenvolvimento de formulações inovadoras que aumentem sua estabilidade e promovam seu uso em aplicações ambientais, como no controle de vetores.

Neste contexto, a microencapsulação da curcumina utilizando amido, D-manitol e pectina como excipientes, via *spray-drying*, apresenta-se como uma estratégia promissora para proteger sua estrutura fotoativa e otimizar suas propriedades físico-químicas. Polissacarídeos, como o amido são frequentemente usados como materiais de revestimento/parede. O D-manitol atua como um agente solubilizante e estabilizante, enquanto a pectina contribui para a formação da matriz polimérica e modulação do perfil de liberação. A formulação proposta visa não apenas melhorar a

estabilidade da curcumina em ambientes aquosos, mas também viabilizar sua aplicação como fotolarvícida em ambientes naturais, com potencial impacto no controle de *Ae. aegypti*.

Neste trabalho (Garbuio et al., 2025), foram desenvolvidas e caracterizadas três formulações de pastilhas contendo curcumina microencapsulada com o objetivo de otimizar sua estabilidade e eficácia como agente fotolarvícida. As formulações FCT1, FCT2 e FCT3 foram compostas por 10% de curcumina e 30% de D-manitol, variando apenas as proporções entre os excipientes pectina e amido: FCT1 (60% amido, sem pectina), FCT2 (35% pectina e 25% amido) e FCT3 (17,5% pectina e 42,5% amido).

A escolha desses biopolímeros levou em consideração suas propriedades funcionais. O amido, por ser altamente hidrofílico, proporciona liberação inicial rápida da curcumina (“efeito explosivo”), enquanto a pectina, devido à sua estrutura mais complexa, atua como um agente de liberação controlada, modulando a difusão da curcumina ao longo do tempo.

Os resultados mostraram que a FCT2 apresentou os melhores resultados dentre as formulações desenvolvidas e caracterizadas. Isso se deve, principalmente, à presença da pectina, que contribuiu para uma matriz mais estável e com liberação controlada, sem comprometer a eficácia fotodinâmica da curcumina (**Figura 14**).

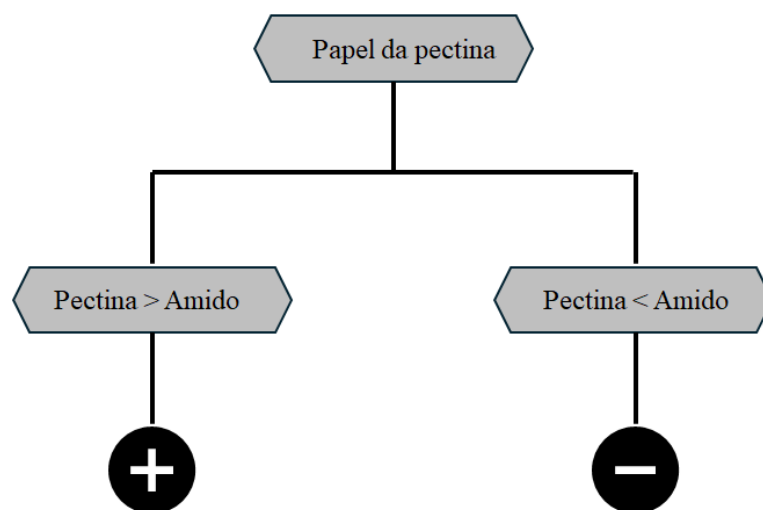


Figura 14. Papel da pectina nas formulações de curcumina microencapsuladas. Quando a pectina apresentou maior quantidade que o amido seu efeito se mostrou mais benéfico do que quando sua proporção foi menor.

O fluxograma mostra que a formulação com maior proporção de pectina em relação ao amido apresentou os melhores resultados (10% de pectina a mais que do amido). Dentre as

formulações testadas, a FCT2 foi a que melhor aproveitou essa sinergia entre os excipientes, promovendo uma liberação adequada para o controle larval. Dessa forma, este capítulo abordará apenas a formulação FCT2 denominada como pastilha de curcumina microencapsulada.

5.2 Objetivos

5.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver formulação de curcumina microencapsulada, com a finalidade de obter formulação estável, economicamente viável e de fácil aplicação em criadouros de larvas do *Ae. aegypti*.

5.2.2 Objetivos específicos

Caracterizar as formulações de curcumina microencapsulada através espectroscopia de absorção (UV-vis), espectroscopia infravermelho (FTIR) e microscopia confocal de fluorescência.

Identificar o perfil de liberação das microcápsulas de curcumina e da pastilha de curcumina microencapsulada através de ensaios de solubilidade em diferentes pH.

Determinar a fotoestabilidade das pastilhas de curcumina microencapsulada.

5.3 Materiais e Métodos

5.3.1 Produtos químicos

Esse protocolo foi desenvolvido pela equipe de síntese orgânica do Centro de Pesquisa de Óptica e Fotônica (CePOF) da Universidade de São Paulo e fornecido pela PDT Pharma Industria e com de Prod. Farmacêuticos Ltda-EPP. A curcumina foi obtida da empresa da PDT Pharma Industria e com de Prod. Farmacêuticos Ltda-EPP. Os reagentes para o processo de microencapsulação e formulação são: amido solúvel P.A, sacarose P.A e a pectina cítrica foram

comprados da Exôdo Científica (Sumaré, SP, BR) e o D-manitol da Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

5.3.2 Processo de *spray drying*

Os protocolos para obtenção de curcumina microencapsulada foram baseados na literatura com modificações. A obtenção das microcápsulas de curcumina pelo processo de *spray drying* foi baseada na literatura com modificações (Lucas et al., 2020). Na **Figura 15** é apresentado o método de preparo: 1 L de solução aquosa em pH 7,0 com os carreadores, D-manitol (3,0 g) e o amido solúvel (5,0 g), mantido em agitação magnética durante 1 hora, em temperatura ambiente (**Etapa 1**). Após misturar os carreadores (excipientes), foi adicionada a curcumina (2,0 g), previamente dissolvida em 40,0 mL de álcool etílico a 99,5% (**Etapa 2**). A solução foi mantida em agitação durante 30 min, até a obtenção da coloração amarelo-alaranjado.

A solução foi seca por pulverização em modelo MsDi 1,0 (LabMq do Brasil Ltda), nas seguintes condições experimentais: temperatura (Entrada: 130 – 140 °C; Saída: 70 – 80 °C), vazão ar de secagem (1,20 m³/min), vazão ar comprimido (0,3 L/H), pressão ar comprimido (6 bar) e diâmetro bico atomizador (1,22 mm). O produto seco (pó) foi transferido para frascos âmbar e mantido em refrigeração a 4 °C para a conservação da integridade física e das propriedades do princípio ativo (**Etapa 3**).

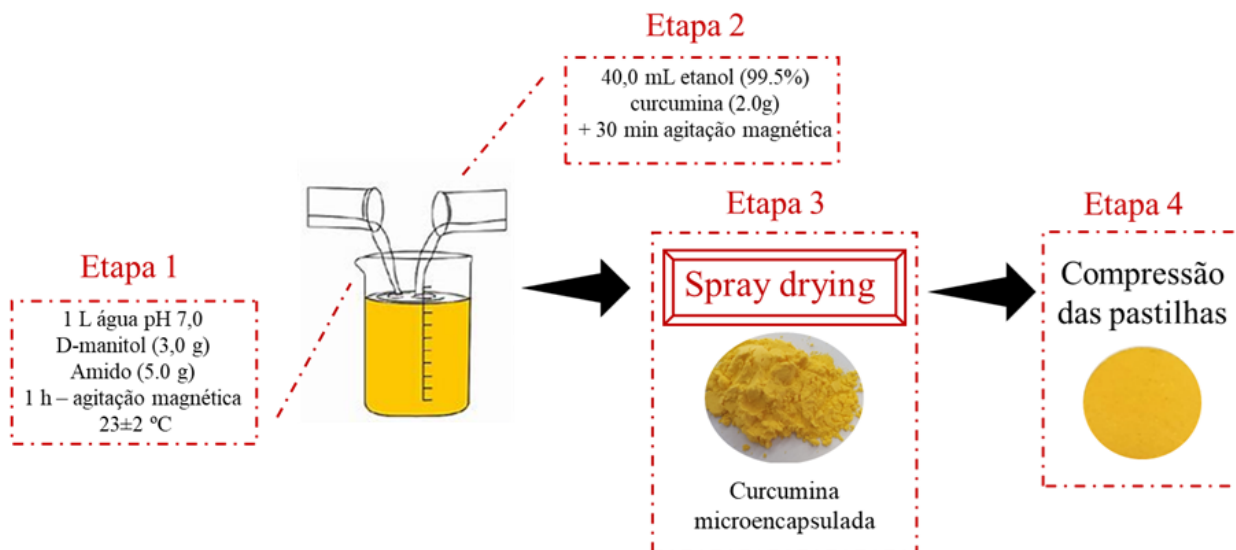


Figura 15. Método para a produção de formulações de curcumina microencapsulada. Etapa 1: homogeneização de amido e D-manitol em água; Etapa 2: adição de curcumina em etanol 99,5%; Etapa 3: secagem da solução pela técnica de secagem por atomização; Etapa 4: compressão das microcápsulas em pastilhas.

Produção da pastilha de curcumina microencapsulada

A produção de pastilhas de curcumina microencapsulada como larvicida fotossensível (**Figura 16A**) divide-se em etapas: I) ativo curcumina microencapsulada 10% (massa/massa), excipiente D-manitol 30%/ amido 25% e pectina 35% (massa/massa), II) mistura em almofariz do ativo microencapsulado e excipientes, III) Compreensão de 200 mg da formulação em prensa força de 4 kN, obtendo a pastilha (**Figura 15 – Etapa 4/ Figura 16B**).

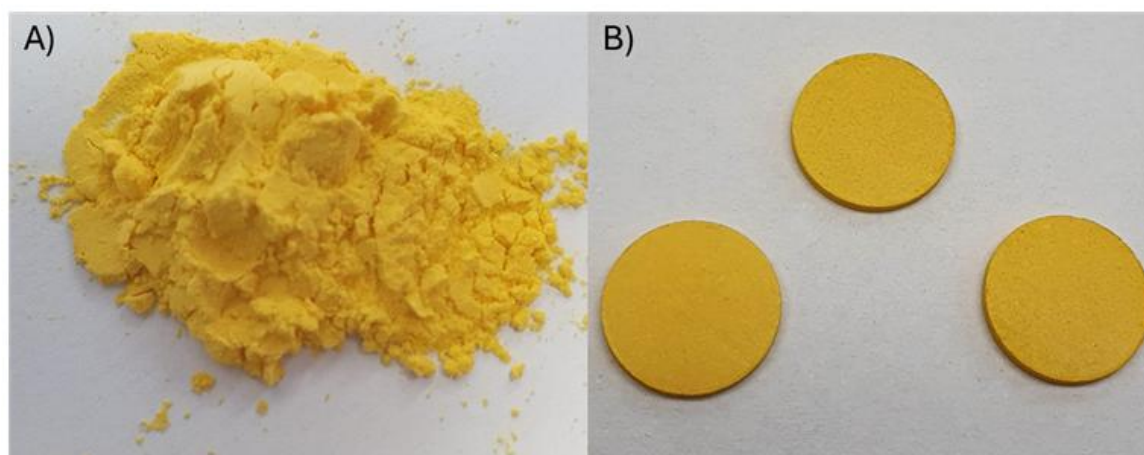


Figura 16. A) curcumina microencapsulada obtida por secagem por pulverização. B) Pastilha de curcumina obtida por prensagem com força de 4 kN.

5.3.3 Caracterização das microcápsulas de curcumina

Espectroscopia UV-Vis — Os espectros UV-Vis foram registrados em um espectrofotômetro Varian Cary 5000 UV-Vis (Varian Medical Systems, EUA) na faixa entre 350 e 650 nm, usando etanol (99,5%) para a curcumina livre em água destilada como solvente para microcápsulas de curcumina e para a formulação da pastilha de curcumina.

Microscopia eletrônica de varredura — As características morfológicas das microcápsulas livres de curcumina, amido, D-manitol e curcumina foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (SEM-FEG), com um canhão de elétrons de emissão de campo (SEM-FEG, Supra 35-VP, Carl Zeiss, Jena, Alemanha). As amostras foram fixadas a um substrato em fita de carbono, revestidas com ouro/paládio e analisadas a 2,5 kV. A medição do tamanho das partículas foi realizada usando o software ImageJ (versão 1.50i). Para a distribuição do tamanho das microcápsulas de curcumina, considerou-se que elas tinham uma forma esférica. Foram obtidas medições do tamanho de mais de 300 partículas das microcápsulas de amido e curcumina encontradas em regiões arbitrariamente escolhidas da grade. Os histogramas foram ajustados considerando a distribuição normal.

Microscopia confocal de fluorescência — A morfologia da curcumina microencapsulada foi obtida utilizando um microscópio de fluorescência confocal (Zeiss-LSM780, Zeiss, Jena, Alemanha) com um laser Coherent Chameleon (Ti:Sapphire) como fonte de excitação de dois fótons (2F) sintonizado em um comprimento de onda de 800 nm com um pulso de laser de 80 MHz. As imagens da curcumina microencapsulada foram obtidas fixando a fluorescência de excitação em intervalos de 450–500 nm (canal 1) e 500–700 nm (canal 2).

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier de reflectância total atenuada (ATR-FTIR) — Os espectros do infravermelho médio foram obtidos na região de 650–4000 cm^{-1} com uma resolução espectral de 16 cm^{-1} em um espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA).

5.3.4 Curva de calibração curcumina

Para análises da caracterização das microcápsulas, liberação, fotodegradação, atividade residual e da reaplicação da formulação de curcumina foi construída uma curva padrão de

curcumina em etanol (99,99%) através da obtenção de espectros de absorção no UV-Vis em diferentes concentrações (0,5; 1,5; 2,5; 3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7,5 e 8,5 mg/L). Obtendo a equação da reta $y=ax+b$, com R^2 (Figura 17):

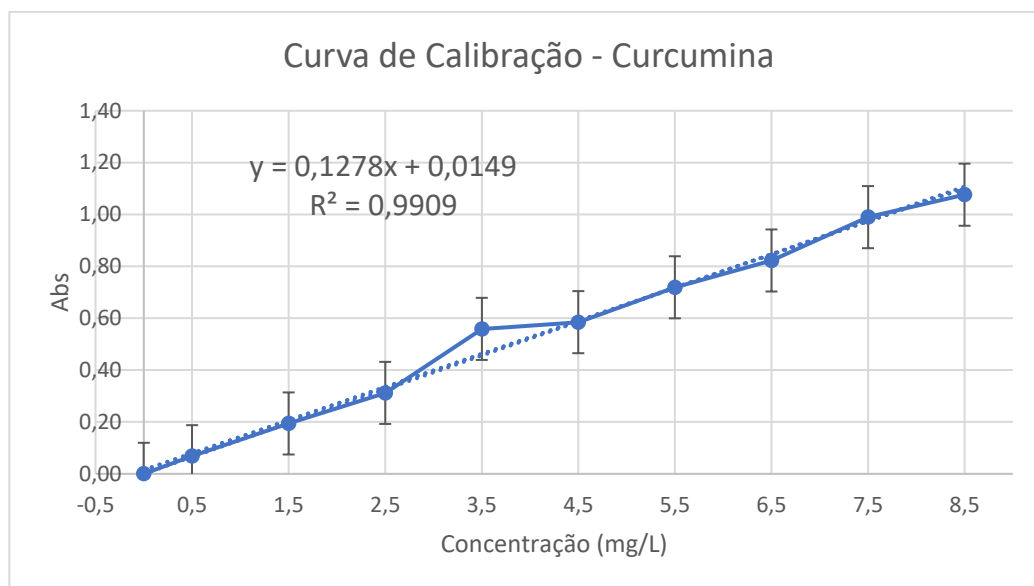


Figura 17. Curva padrão da curcumina em etanol, com base na absorbância máxima em 450 nm. Inseto: Equação linear da reta ajustada, com respectivo fator de ajuste R^2 .

5.3.5 Método de extração da curcumina microencapsulada

A extração da curcumina das microcápsulas foi realizada com álcool etílico 99% (EtOH) (solvente extrator) e a detecção foi realizada por espectroscopia de absorção no ultravioleta visível (UV-Vis) Cary 50 Bio. Para otimizar o processo de extração foram avaliadas as variáveis tempo de extração, tipos de papel filtro, volume de solvente extrator e amostras (dados não apresentados).

A massa de uma pastilha de 200 mg foi adicionada à 1000 mL de água destilada (H_2O) e agitada por 30 min, em triplicata. Em seguida, foram coletadas alíquotas de 5,00 mL da amostra e adicionados 5,00 mL de EtOH, mantendo a proporção de 50:50% (H_2O :EtOH) com agitação constante por 20 min. Posteriormente, foi realizada a filtração em papel filtro quantitativo de faixa preta de 12,5 cm (peso $85g/m^2$ e espessura 0,20 mm). Em seguida, 2,5 mL da amostra foram transferidos para um balão volumétrico de 10 mL e ajustados com proporção de 50:50 de H_2O :EtOH. Em seguida, foram realizadas análises de absorção UV-Vis e posteriormente determinada a concentração através da curva analítica.

5.3.6 Liberação controlada

5.3.6.1 Liberação controlada da curcumina microencapsulada

O perfil de liberação de curcumina das microcápsulas foi monitorado ao longo do tempo em um meio aquoso. A quantificação da curcumina foi realizada usando espectroscopia de absorção ultravioleta-visível (UV-Vis) (Guo et al., 2020). Aliquotas de 5,0 mL foram removidas em intervalos de tempo pré-determinados, seguidas pela reposição de 5,0 mL de água destilada. A curcumina presente na alíquota foi então extraída pelo método de extração (Seção 5.3.5) e analisada usando um espectrofotômetro UV-Vis a 430 nm. Uma curva de calibração ($R^2 = 0,99$) foi estabelecida com concentrações variando de 0,5 a 8,5 mg/L em etanol (Seção 5.3.4).

5.3.6.2 Liberação controlada da pastilha de curcumina microencapsulada

O estudo de liberação controlada da pastilha de curcumina foi realizado em condições estáticas, sem agitação. A liberação controlada foi realizada em triplicata a uma temperatura de 25 °C. A liberação da pastilha foi realizada em pH 3,0; 7,0 e 11,00. As pastilhas foram adicionadas dentro de um saco de filtro de 200 *mesh* (altura: 8,50 cm/largura: 10,00 cm), suspensos por monofilamento de fluoro híbrido de carbono de platina (0,40 mm) em 1000 mL. A quantificação da curcumina liberada em função do tempo foi determinada usando uma curva de calibração (Seção 5.3.4). Todos os dados foram processados e analisados usando o software Origin 2020.

5.3.7 Ensaio de fotodegradação da curcumina microencapsulada

A fotodegradação da pastilha de curcumina foi realizada pela moagem de um comprimido em um almofariz de ágata, seguido pela adição do pó resultante em recipientes de vidro contendo 1 L de água destilada. As amostras foram expostas à irradiação de lâmpada fluorescente (luz branca) na intensidade de 0,83 mW/cm² por 30 dias, em triplicata. Aliquotas foram coletadas dos recipientes em 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias, correspondendo à exposição contínua à irradiação e um fotoperíodo de 12 h/12 h. A extração de curcumina das amostras foi realizada conforme descrito na (Seção 5.3.5) e as análises foram conduzidas usando espectroscopia de absorção UV-Vis (Cary Bio[®] 50 — Santa Clara, CA, EUA) na faixa de 200 a 800 nm, empregando uma cubeta de quartzo

com duas faces polidas e um caminho óptico de 10 mm. A concentração de curcumina degradada foi determinada através da curva de calibração (Seção 5.3.4).

5.4 Resultados e Discussões

5.4.1 Espectroscopia UV-Vis

A **Figura 18** representa o espectro de absorção da curcumina livre em etanol (linha preta), microcápsula de curcumina (linha azul) e pastilha de curcumina microencapsulada (linha vermelha) em água destilada. A curcumina em etanol, apresentou uma absorção máxima em 430 nm e as formulações apresentaram um deslocamento para o vermelho, com absorção máxima em 440 nm.

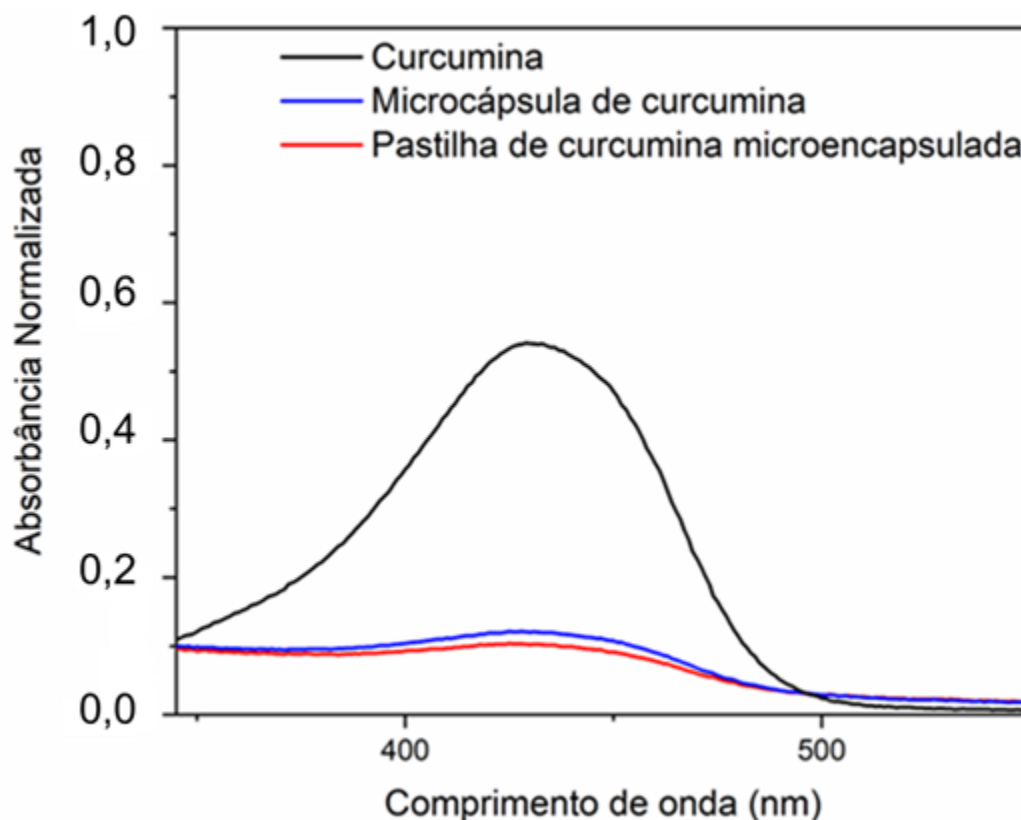


Figura 18. Perfil de absorção: curcumina em etanol (linha preta); microcápsula de curcumina (linha azul) e pastilha de curcumina microencapsulada (linha vermelha).

A curcumina possui a propriedade de absorver luz na região do azul, com o comprimento de onda de absorção podendo variar conforme o solvente utilizado (De Oliveira et al., 2020). Em etanol, por exemplo, o pico máximo de absorção da curcumina foi observado em 430 nm.

Observou-se um alargamento da banda de absorção tanto da microcápsula de curcumina quanto da pastilha de curcumina microencapsulada em relação à curcumina livre, sugerindo a ocorrência de interações intermoleculares, como complexação ou encapsulamento, que tornam o ambiente menos homogêneo. Também foram detectadas diferenças na região abaixo de 400 nm, possivelmente atribuídas a outros componentes da matriz, como polissacarídeos, ou ao espalhamento de luz em sistemas coloidais (Cano-Higuita; Malacrida; Telis, 2015; Liu et al., 2013).

Essas observações estão em concordância com os resultados de Chignell et al., que relataram deslocamentos espectrais ao investigar a curcumina em diferentes solventes, como etanol, tolueno e acetonitrila (Chignell et al., 1994). Esses resultados também são encontrados em um trabalho mais recente que utilizou a combinação de curcumina com D-manitol em diversas proporções. Segundo os autores, as formulações apresentaram um deslocamento para o vermelho com picos de absorção máxima da curcumina em 450 nm (Garbuio et al., 2022).

5.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

A **Figura 19** mostra a morfologia da superfície da curcumina ativa, dos excipientes amido e D-manitol, e da curcumina microencapsulada. Cada material exibiu características morfológicas distintas. A curcumina livre (**Figura 19A**) exibe a forma de cristais bem facetados. O amido (**Figura 19B**) tem uma morfologia esférica e regular, com uma superfície lisa. O D-manitol (**Figura 19C**) é caracterizado por uma estrutura de haste de formato irregular. Finalmente, a **Figura 19D** da curcumina microencapsulada mostra que a morfologia esférica não é homogênea, com deformações superficiais das microcápsulas sendo lisas e ásperas. Morfologias semelhantes para curcumina microencapsulada pelo método de *spray drying* foram relatadas em diferentes biopolímeros (Cano-Higuita; Malacrida; Telis, 2015; Lucas et al., 2020; Roshan et al., 2024).

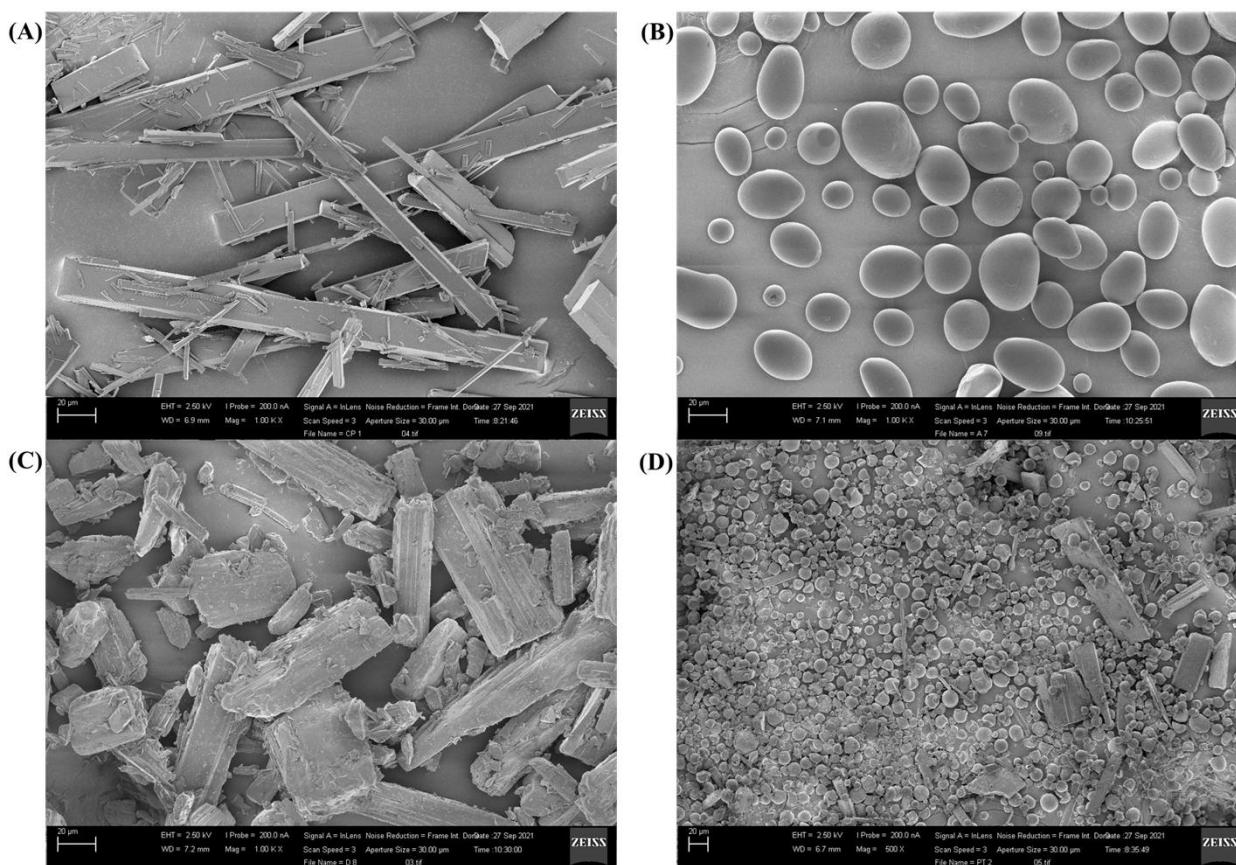


Figura 19. Imagens microscopia eletrônica de varredura de alta resolução de escala morfológica de 20 µm: (A) curcumina ativa, (B) amido, (C) D-manitol e (D) curcumina microencapsulada.

A morfologia da micropartícula de amido isoladamente e da curcumina microencapsulada é semelhante, mas a distribuição média do tamanho é diferente da **Figura 20**. Os histogramas foram ajustados considerando uma distribuição normal. Essa diferença pode ser atribuída ao processo de *spray drying*. A distribuição na **Figura 20A** mostra que as micropartículas de amido têm um diâmetro médio de cerca de $35 \pm 12,5 \mu\text{m}$. E a **Figura 20B** apresenta a distribuição para micropartículas de curcumina microencapsuladas com um tamanho médio de cerca de $11,1 \pm 3,1 \mu\text{m}$.

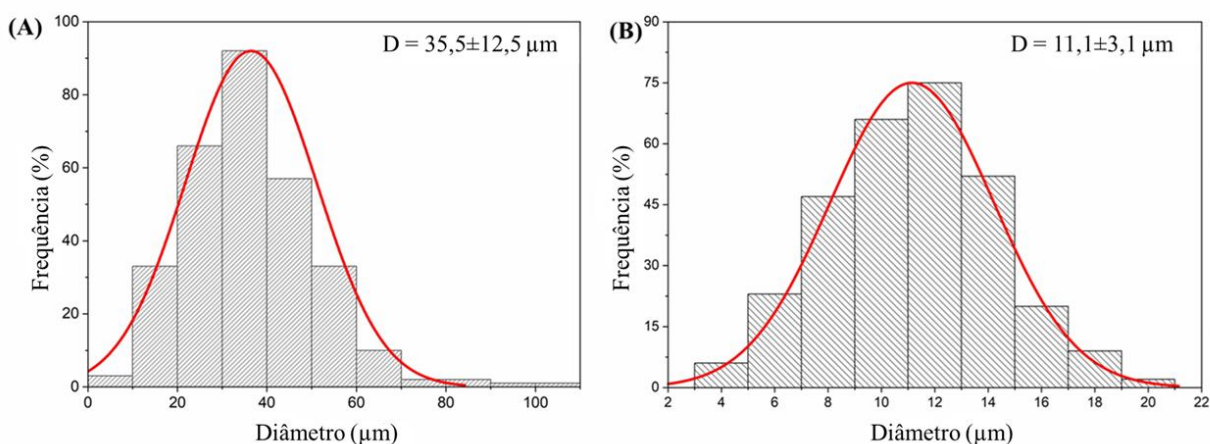


Figura 20. Distribuição do tamanho das micropartículas: (A) amido — tamanho médio de $35 \pm 12,5 \mu\text{m}$ e (B) curcumina microencapsulada — tamanho médio de $11,1 \pm 3,1 \mu\text{m}$.

Os resultados encontrados para o tamanho médio da curcumina microencapsulada em amido e D-manitol foram semelhantes ao obtido por Cano-Higuera e colaboradores que demonstraram para a curcumina microencapsulada via *spray drying*, com maltodextrina 75% e amido modificado 25% tamanho médio de $21,05 \pm 1 \mu\text{m}$, enquanto que para a mistura em proporções iguais dos excipientes de goma arábica, maltodextrina e amido modificado foi de $12,57 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (Cano-Higuera; Malacrida; Telis, 2015).

5.4.3 Espectros infravermelhos (FTIR)

A **Figura 21** mostra os espectros de infravermelho (FTIR) para (A) amido, (B) D-manitol, (C) curcumina e (D) microcápsula de curcumina, respectivamente.

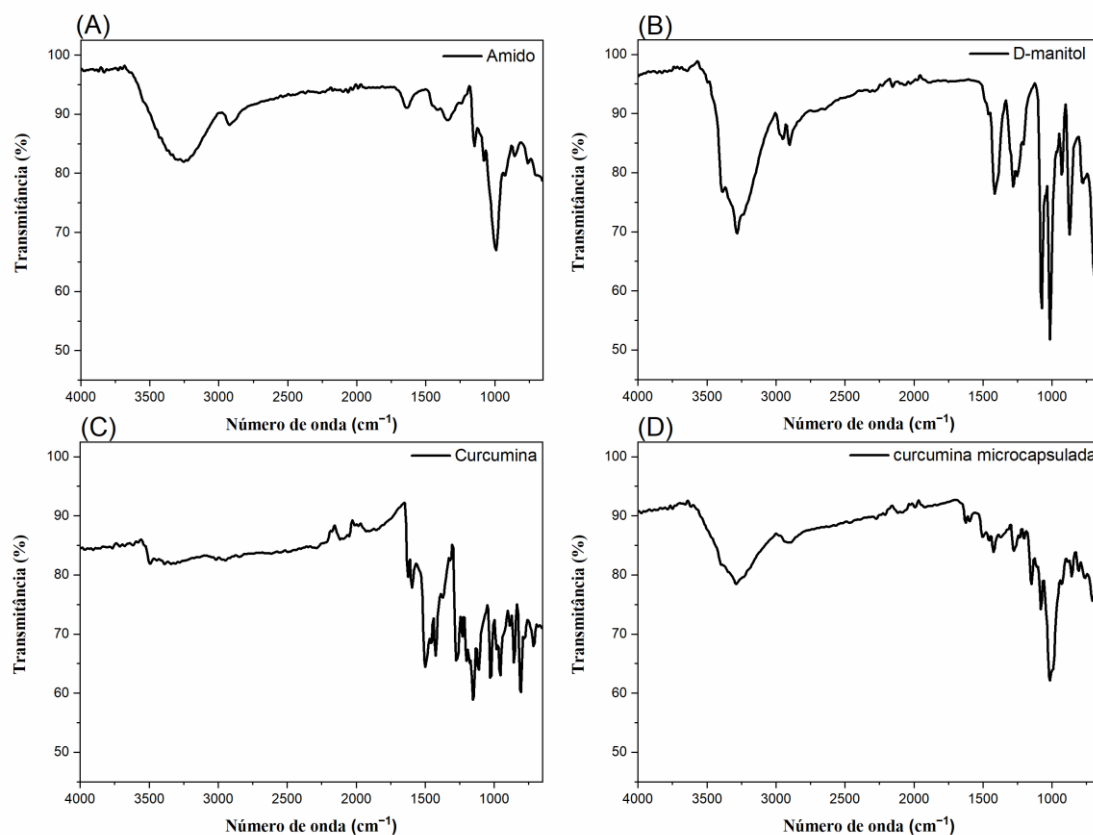


Figura 21. Espectros de FTIR dos materiais encapsulantes, ativos e microcápsulas: (A) amido, (B) D-manitol, (C) curcumina e (D) curcumina microencapsulada.

A **Figura 21A** mostra o espectro de FTIR do amido, com bandas características em diferentes regiões. Uma banda larga é observada entre $3630\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, atribuída à vibração de alongamento da ligação OH. Um pico em 2930 cm^{-1} corresponde ao alongamento assimétrico das ligações CH. Na região entre $1700\text{--}1560\text{ cm}^{-1}$, há sinais relacionados ao modo de flexão CH_2 . A banda em 1411 cm^{-1} pode ser associada ao modo tesoura CH_2 e às deformações CH e COH. Em 1344 cm^{-1} , uma banda correspondente à flexão do grupo COH e à torção de CH_2 é observada. O sinal em 1238 cm^{-1} refere-se aos modos vibracionais relacionados a CH_2 . A região de 1146 cm^{-1} indica a presença de vibrações associadas ao estiramento do CO e à flexão do COH. Um pico intenso entre as regiões de 1077 e 994 cm^{-1} está relacionado às vibrações do COC, típicas da estrutura do anel glicosídico. As bandas em 921 cm^{-1} e 860 cm^{-1} são atribuídas, respectivamente, às deformações das ligações CH/ CH_2 e ao estiramento da ligação CC, caracterizando a estrutura do polissacarídeo (Kizil; Irudayaraj; Seetharaman, 2002; Warren; Gidley; Flanagan, 2016).

O espectro de FTIR do D-manitol (**Figura 21B**) mostra que as bandas características nas regiões de 3385, 3280 e 3250 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de estiramento das ligações OH. Os picos em 2989, 2950 e 2900 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento das ligações C–H. A banda em 1411 cm^{-1} refere-se ao modo de deformação tipo tesoura do grupo CH_2 , enquanto o pico em 1283 cm^{-1} está relacionado à deformação no plano dos grupos OH. Na região entre 1087 e 1013 cm^{-1} , os picos são atribuídos ao estiramento das ligações CO. Os picos nas regiões de 960, 926, 875 e 777 cm^{-1} correspondem a vibrações fracas associadas a deformações fora do plano C–C (Bruni et al., 2009; Garbuio et al., 2022; Lin et al., 2016; Sari et al., 2013).

O espectro FTIR da curcumina (**Figura 21C**) apresenta bandas características com bandas em 3495 e 3385 cm^{-1} atribuídas ao estiramento das ligações OH das hidroxilas fenólicas. O pico em 1628 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=O da porção aromática da cetona β -dicetona. O pico em 1597 cm^{-1} está relacionado às vibrações de estiramento C=C do anel benzênico. A banda em 1509 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação C=O do sistema enona conjugado e vibrações associadas a C=C. As bandas em 1460 e 1420 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de deformação angular das ligações CH. A região entre 1270–1200 cm^{-1} apresenta bandas de estiramento das ligações CO dos grupos fenólicos. Entre 1156–1110 cm^{-1} , as bandas são atribuídas ao estiramento das ligações CO e COC, presentes em éteres e fenóis. Na região entre 954–807 cm^{-1} , os picos estão relacionados aos modos de flexão fora do plano do grupo CH do anel aromático (Garbuio et al., 2022; Liu et al., 2025; Sun et al., 2013; Tolun; Sharifuzzaman; Altintas, 2025).

O espectro de FTIR da curcumina microencapsulada (**Figura 21D**) mostra os principais picos vibracionais da curcumina, mas com menor intensidade, o que sugere uma possível interação entre a molécula ativa e os excipientes da matriz polimérica. As bandas associadas ao estiramento de OH, originalmente observadas em 3495 e 3385 cm^{-1} , aparecem deslocadas para 3397 e 3269 cm^{-1} , indicando possível formação de ligações de hidrogênio com amido e/ou D-manitol. Os picos em 1625 e 1597 cm^{-1} , atribuídos ao grupo carbonila da fração β -dicetona e ao anel aromático da curcumina, foram mantidos, mas com leve deslocamento e atenuação. Além disso, observam-se bandas características dos excipientes na microcápsula, como a banda em 1353 cm^{-1} , atribuída ao D-manitol, e picos intensos na região de 1138 a 1017 cm^{-1} , com vibrações de CO_2 sobrepostas dos álcoois (presentes no amido e no D-manitol). Tais alterações no espectro indicam evidências de

encapsulamento da curcumina e sugerem interações físicas ou químicas entre os componentes da formulação.

A **Figura 22** mostra os espectros de FTIR para o excipiente pectina (A) e pastilha de curcumina: curcumina, D-manitol, pectina e amido (B).

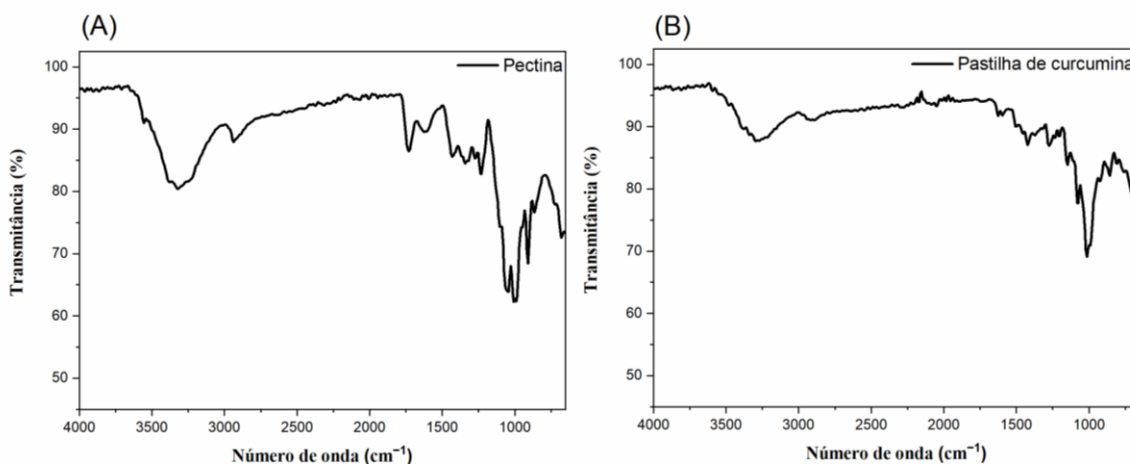


Figura 22. Espectros de FTIR da pectina (A) e da pastilha de curcumina: curcumina, D-manitol, pectina e amido (B).

O espectro FTIR da pectina (**Figura 22A**) apresenta bandas características: uma banda larga entre 3528–3000 cm^{-1} é atribuída ao estiramento das ligações OH. Os picos entre 2989–2923 cm^{-1} referem-se às vibrações de estiramento das ligações CH. A absorção em 1633 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação C=O dos grupos carboxilato. Os picos na faixa de 1441–1338 cm^{-1} estão associados à deformação angular das ligações CH e à vibração simétrica da ligação C=O dos grupos carboxílicos. Na região entre 1233–1149 cm^{-1} , os picos são atribuídos ao estiramento das ligações COC e CC, correspondendo à estrutura do anel glicosídico. O pico em 1078 cm^{-1} está relacionado ao alongamento das ligações CO, enquanto as bandas entre 994–921 cm^{-1} são atribuídas às deformações das ligações CH, características das configurações α e β da pectina (Gnanasambandam, 2000; Santos et al., 2020).

A análise comparativa dos espectros de FTIR da pastilha de curcumina com os excipientes demonstrou que, embora não haja deslocamentos significativos nas posições das bandas, há uma variação na intensidade relativa dos picos, diretamente relacionada à proporção de excipientes, especialmente amido e pectina. Na pastilha de curcumina, com concentração de amido (25%) e proporção de pectina (35%), foi observada redução na intensidade das bandas atribuídas ao amido,

acompanhada de aumento de intensidade nas regiões de 3555 cm^{-1} (alongamento OH), 1630 cm^{-1} (alongamento assimétrico C=O dos carboxilatos) e 1050 cm^{-1} (CO e COC), características da pectina. As observações indicam que, embora a composição química das formulações permaneça semelhante, variações nas proporções de amido e pectina afetam diretamente a intensidade das bandas de FTIR, sem indicar novas interações químicas.

Os dados de FTIR reforçaram esses achados ao revelar a preservação das bandas características da curcumina, com atenuação da intensidade e deslocamentos discretos, sugerindo interações via ligações de hidrogênio com componentes da matriz. No geral, os resultados confirmam que a microencapsulação da curcumina foi bem-sucedida, promovendo a sua proteção estrutural e compatibilidade com excipientes.

5.4.4 Microscopia confocal de fluorescência

A **Figura 23** mostra imagens de microscopia confocal de fluorescência da curcumina microencapsulada, obtidas pelo processo de *spray drying*. A **Figura 23A** mostra os espectros de fluorescência da curcumina microencapsulada com bandas de emissão características na faixa de 540–650 nm, obtidas por microscopia confocal (Ali et al., 2019; Chignell et al., 1994).

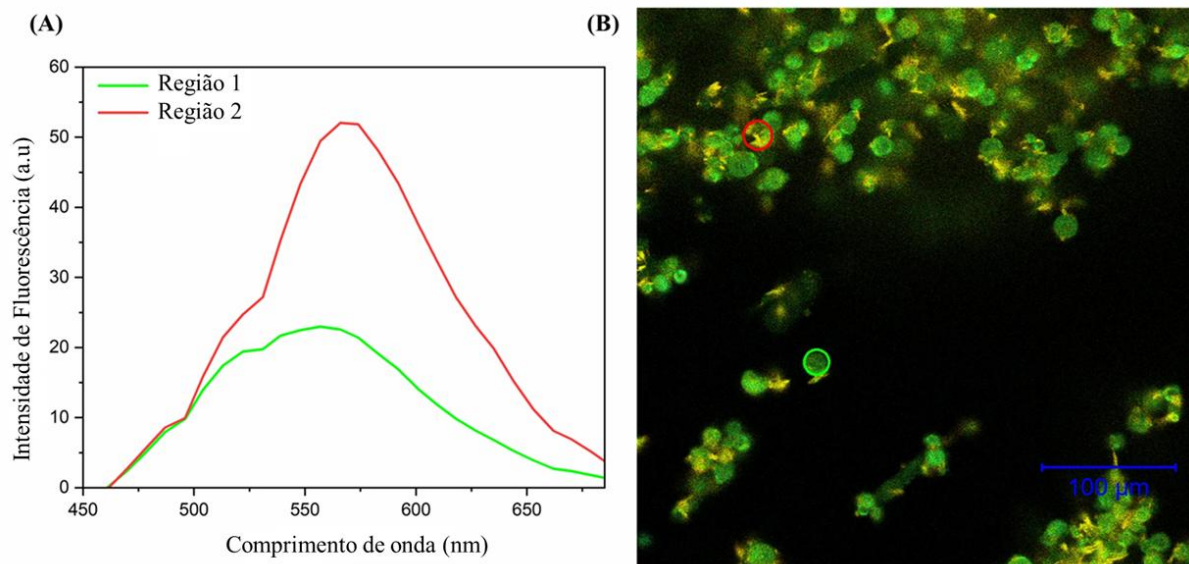


Figura 23. Microscopia confocal de curcumina microencapsulada. (A) Espectros de fluorescência de microcápsulas de curcumina, com o espectro vermelho se referindo à região da superfície da cápsula (maior intensidade de fluorescência) e o espectro azul (menor intensidade de fluorescência) se referindo à região central da cápsula. (B) Imagem de microscopia confocal de curcumina microencapsulada de 100 µm.

Na **Figura 23B**, a imagem obtida por microscopia confocal mostrou a incorporação de curcumina, com maior intensidade de fluorescência na superfície das microcápsulas. Os centros das microcápsulas apresentaram baixa intensidade de fluorescência, indicando uma maior contribuição de curcumina livre na camada superficial da cápsula. Este resultado pode ser correlacionado com as imagens de micrografia obtidas por MEV (**Figura 19D**), que mostram que as partículas no seu interior podem ser ocas. O arranjo da curcumina incorporada à microcápsula do biopolímero pode favorecer o comportamento durante o processo de liberação. Nata e colaboradores também observaram, por meio de imagens, um forte sinal de fluorescência na curcumina microencapsulada pelo método de precipitação de amido acetilado (Nata; Chen; Lee, 2014).

5.4.5 Perfil de liberação da curcumina microencapsulada

A **Figura 24** apresenta o perfil de liberação das microcápsulas de curumina obtidas pelo processo de *spray drying*. Analisando a curva, observamos que as microcápsulas seguem a cinética de liberação bifásica (apresenta uma curva com um pico inicial seguido de uma fase de liberação mais estável e prolongada atingindo uma saturação do meio por difusão), apresentando um aumento repentino na liberação de curcumina nos primeiros 15 min (aproximadamente 80%) seguido de uma liberação lenta (Roshan et al., 2024).

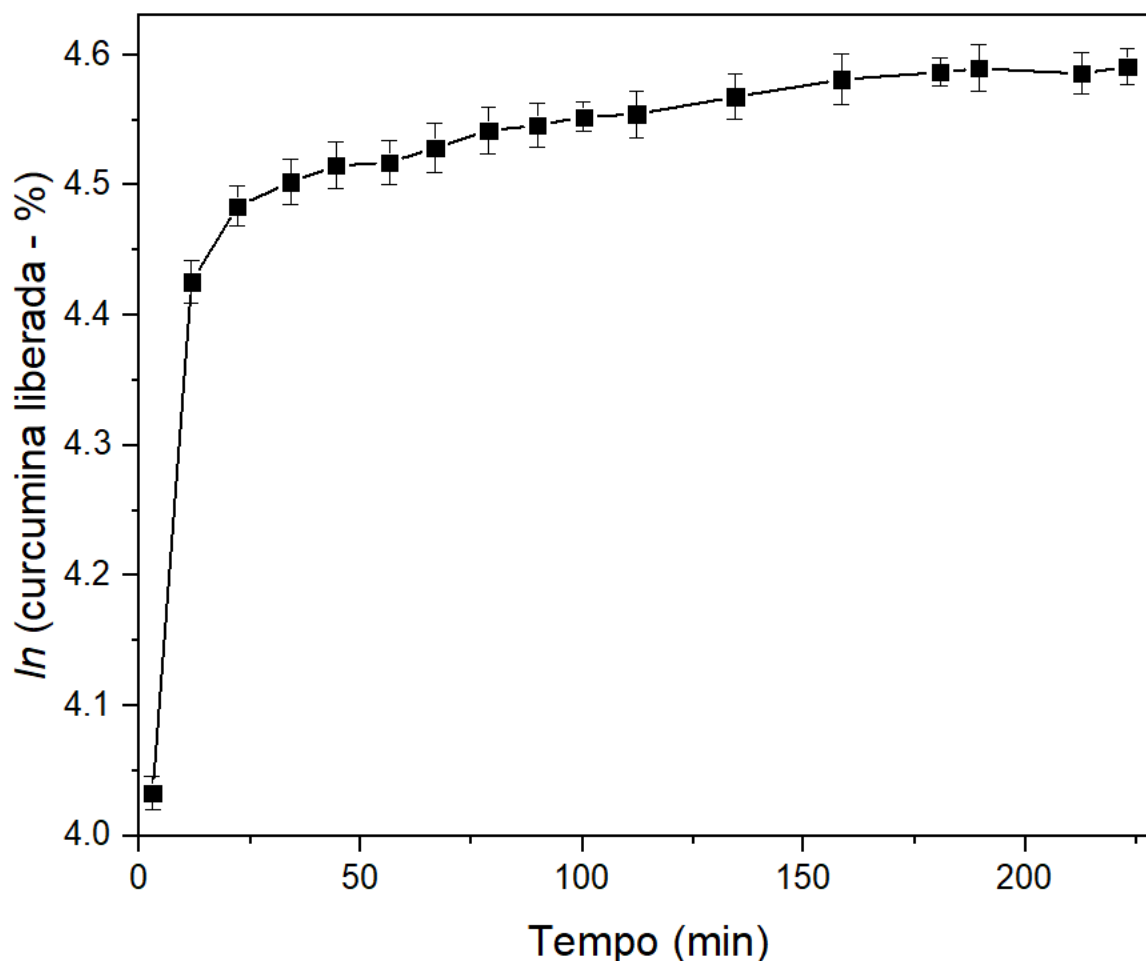


Figura 24. Perfil de liberação de curcumina do processo de *spray drying*. O eixo Y representa o logaritmo natural ($\ln$) da concentração (%) de curcumina liberada ao longo do tempo.

Neste caso, o comportamento de liberação rápida da curcumina é conhecido como “liberação explosiva” nesta fase. A liberação ocorre por meio de processos como difusão controlada, degradação do polímero encapsulante ou erosão da matriz que envolve o ativo. Neste trabalho, o efeito de explosão é inicialmente devido à característica altamente hidrofílica do carreador de amido (MÜLLER, 1991). Assim que as microcápsulas entraram em contato com a solução de trabalho, o amido sofre rápido inchaço e as partículas de curcumina se difundem quase imediatamente para fora das microcápsulas (Chow et al., 2014).

O efeito de explosão pode ser altamente desejável em determinadas situações. A liberação rápida ou altas taxas iniciais de administração podem ser desejáveis em situações que envolvam a eliminação de larvas de vetores, uma vez que a administração imediata de parte da carga de

curcumina garantiria a eliminação total ou parcial dos organismos existentes nos criadouros. Um sistema de liberação controlada de longo prazo não é desejável devido ao rápido desenvolvimento do estágio aquático do *Ae. aegypti* (média de 5 a 6 dias a 28 °C) (SASMITA, 2019).

A segunda fase da liberação bifásica envolve uma liberação mais lenta e sustentada (Roshan et al., 2024), mantendo uma concentração relativamente constante da substância ativa no meio por um período prolongado, como observado após 16 a 150 min e, posteriormente, um momento de estabilização e saturação com o meio. Devido a essa natureza bifásica, a cinética de liberação não segue uma simples exponencial. Em vez disso, o perfil de liberação pode ser melhor descrito por uma equação $\ln(Lib) = A_0 + \frac{t}{\tau}$ mostrando que a constante de liberação muda o tempo conforme a fase de liberação muda.

5.4.6 Liberação em Condição Estática da Pastilha de curcumina

A cinética de liberação foi investigada para entender os mecanismos de liberação das pastilhas de curcumina micropartículas em função do pH. A **Figura 25** mostra o perfil de liberação de curcumina de micropartículas até a concentração máxima liberada em pHs 3 (**Figura 25** - linha preta), 7 (**Figura 25** - linha vermelha) e 11 (**Figura 25** - linha azul). Além de afetar a degradação da matriz, o pH do ambiente pode influenciar o equilíbrio tautomérico da curcumina. Em condições ácidas, a forma ceto é frequentemente favorecida, enquanto em ambientes neutros a básicos, a forma enol se torna mais prevalente. Essas mudanças podem alterar a interação da curcumina com a matriz e o sistema biológico (Kaur et al., 2018).

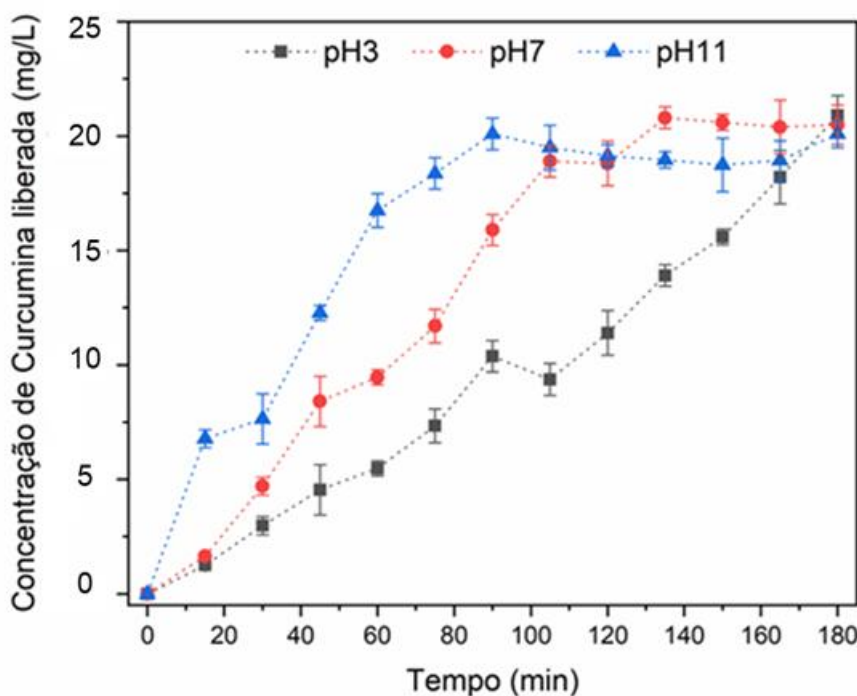


Figura 25. Curvas de liberação para pastilha de curcumina (curcumina, D-manitol, pectina e amido) em função de pH = 3 (linha preta), pH = 7 (linha vermelha) e pH = 11 (linha azul).

Para o pH 3 (**Figura 25** - linha preta), as pastilhas de curcumina apresentaram um perfil de liberação mais moderado, pois não apresentam na sua composição uma porcentagem majoritária de amido. A capacidade do amido de formar géis ou espessar soluções pode ser reduzida, pois o ácido enfraquece as ligações entre as cadeias de amilose e amilopectina, dificultando a formação de uma rede estrutural robusta e acelerando a degradação (Wani; Uppaluri, 2024). Essa degradação pode gerar uma liberação mais rápida de curcumina no ambiente.

Todavia, a pastilha de curcumina apresenta uma alta porcentagem de pectina (35%). A pectina possui estrutura polissacarídica e capacidade de formar géis em meio aquoso, sendo amplamente utilizada como materiais de suporte ou de parede, além de poder ser utilizada para retardar a liberação (Antoniazzi; Castro; Anaissi, 2018; Wani; Uppaluri, 2024). Além disso, pode ser sensível ao pH. No meio ácido, pode proteger o fármaco, a curcumina atingiu a maior concentração somente após 180 min (**Figura 25** - linha preta), enquanto em pH neutro ou básico, pode se desintegrar ou ser degradada, promovendo a liberação do ativo um pouco mais rápida, 135 min para pH 7 (**Figura 25** - linha vermelha) e 90 min para pH 11 (**Figura 25** - linha azul).

5.4.7 Análise de fotoestabilidade das pastilhas de curcumina

A **Figura 26** mostra a porcentagem de degradação do ingrediente ativo curcumina em função da irradiação e ao longo de 30 dias.

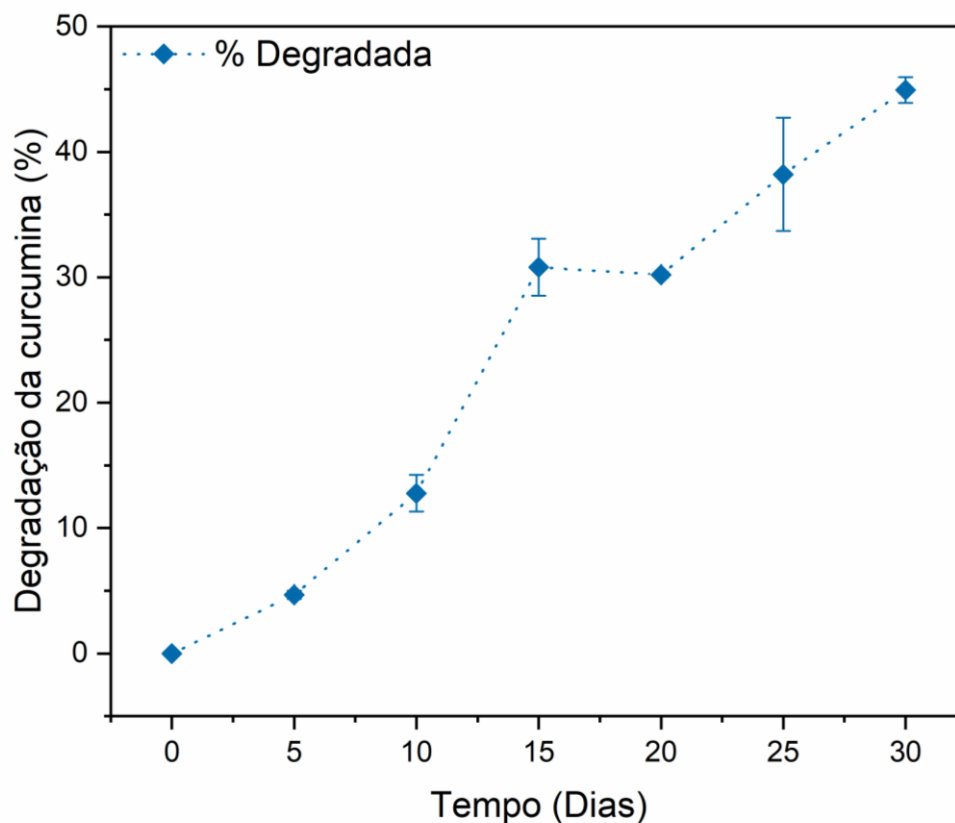


Figura 26. Fotodegradação das pastilhas de curcumina microencapsuladas expostas a luzes fluorescentes brancas 18W, intensidade de 0,83 mW/cm².

Para a pastilha de curcumina, o processo de fotodegradação do ingrediente ativo curcumina ocorre com aproximadamente 47% após 30 dias de exposição à luz. Esse comportamento demonstra que a formulação é estável e uma liberação mais controlada do que outros estudos apresentaram. Garbuio e colaboradores apresentaram uma formulação de curcumina com D-manitol (50:50 p/p) que após 24 h apresentou uma fotodegradação de pouco mais de 49% quando exposta à luz fluorescente branca (18 W, intensidade de 0,83 mW/cm²) (Garbuio et al., 2022). Mezzacappo e colaboradores mostraram que em uma formulação de 99% de D-manitol e 1% de curcumina, a

fotodegradação sob luz fluorescente branca (18 W, 0,5 mW/cm²) após 48 h foi de 67% e atingiu 100% após 14 dias (Mezzacappa et al., 2021).

5.5 Conclusões parciais

A formulação obtida por *spray drying*, utilizando D-manitol e amido como agentes encapsulantes e com a adição de pectina mostraram resultados que melhoraram significativamente a solubilidade, a estabilidade e o perfil de liberação controlada da curcumina. Além disso, os resultados também enfatizam a importância de preservar a integridade da curcumina durante a formulação, visto que essa característica estrutural fundamenta suas propriedades físico-químicas e desempenho fotodinâmico para um possível composto como um agente fotoinseticida eficaz para o controle de *Ae. aegypti*.

6 CAPÍTULO – Efeito da inativação fotodinâmica em laboratório do fotolarvicida curcumina em larvas do vetor *Aedes aegypti*.

Uma versão adaptada deste capítulo foi publicada em:
GARBUIO, Matheus et al. Curcumin Microcapsule Formulations for Prolong Persistence in the Photodynamic Inactivation of *Aedes aegypti* Larvae. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 4, p. 496, 2025.
Doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17040496>

6.1 Introdução

As estratégias que são utilizadas para o controle convencional DTVs, são à eliminação de criadouros, uso de inseticidas, controle biológico, vacinação e engajamento e educação da comunidade (Dias et al., 2022a; Wilson et al., 2020). No entanto, os esforços têm sido prejudicados pelo desenvolvimento de resistência em mosquitos e larvas, bem como pelo impacto ambiental causado por inseticidas que afetam espécies não-alvo. Nesse sentido, utilizamos a IFD como ferramenta eficaz caracterizada pela ação combinada entre um FS, oxigênio molecular (O_2) e uma fonte de luz para produzir EROs após a reação de oxidação de biomoléculas-alvo presentes em protozoários, vírus, bactérias, fungos e larvas (Dias et al., 2022b, 2023; Jao; Ding; Chen, 2023) (**Seção 2.2**). Entre os relatos de FSs para fotoinativação larval (Lima et al., 2022b), alguns exemplos incluem riboflavina (Lima et al., 2022a), azul de metileno, rosa de Bengala (Meier; Hillyer, 2024) e curcumina (Dias et al., 2020b; Garbuio et al., 2022; Lima et al., 2022c).

A curcumina é um composto polifenólico conhecido por sua estrutura complexa, capaz de existir em diferentes formas tautoméricas, predominantemente as formas ceto e enol. Essas variações estruturais influenciam seu comportamento físico-químico, incluindo solubilidade, estabilidade e atividade biológica em ambientes aquosos (Perera et al., 2021). Destacando o FS, a curcumina de origem natural foi aplicada, mostrando-se uma molécula fotoativa promissora contra larvas de *Ae. aegypti*. Em seguida, visando aprimorar seu desempenho, o FS foi formulado com sacarose (De Souza et al., 2020) e D-manitol (Garbuio et al., 2022; De Souza et al., 2020) a fim de aumentar a concentração e a solubilidade em água para aplicação ambiental. No entanto, sua estabilidade, eficiência e perfil de dissolução em meio aquoso devem ser aprimorados.

O controle do mosquito *Ae. aegypti* é uma prioridade de saúde pública por ser vetor de diversas arboviroses. No entanto, os métodos usados enfrentam algumas limitações, como a resistência crescente dos mosquitos aos inseticidas e os impactos ambientais adversos. Nesse contexto, a busca por métodos novos de manejos e produtos inovadores torna-se essencial. Uma dessas abordagens emergentes é a IFD, que vem ganhando atenção pela sua eficácia e segurança.

6.2 Objetivos

6.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia da curcumina microencapsulada e das pastilhas de curcumina em larvas de *Ae. aegypti* através de IFD em laboratório.

6.2.2 Objetivos específicos

Determinar as concentrações letais 50% (CL_{50-24h}) da formulação de curcumina microencapsulada através da eficácia de IFD em larvas *Ae. aegypti* da linhagem *Rockfeller*;

Analisar a persistência da curcumina microencapsulada em ensaios de IFD em laboratoriais em larvas de *Ae. aegypti*;

Avaliar a eficácia da curcumina microencapsulada em larvas de *Ae. aegypti* através de reaplicações de 3 em 3 dias nos recipientes de larva;

Avaliar a eficácia da curcumina microencapsulada em larvas de *Ae. aegypti* através de reaplicações de 15 em 15 dias nos recipientes de larva;

Avaliar os parâmetros da solução dos recipientes dos da IFD em laboratório, através do monitoramento da proliferação de microrganismos, intensidade de luz e sólidos totais dissolvidos na água;

Determinar a eficácia da reaplicação em condição de laboratório de curcumina microencapsulada de 3 em 3 dias através de diluições (1 e 2) da formulação nos recipientes das larvas, respectivamente

6.3 Materiais e Métodos

6.3.1 Produtos químicos

A curcumina foi obtida da empresa da PDT Pharma Industria e com de Prod. Farmacêuticos Ltda-EPP. Os reagentes para o processo de microencapsulação e formulação são amido solúvel P.A, sacarose P.A e a pectina cítrica foram comprados da Exôdo Científica (Sumaré, SP, BR) e o

D-manitol da Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). E a curcumina microencapsulada e as pastilhas de curcumina foram formuladas através do processo descritos na **Seção 5.3.2**.

6.3.2 Manutenção das larvas

Os estudos biológicos foram conduzidos no Laboratório de Biofotônica Ambiental do Grupo de Óptica, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo (IFSC-USP). As larvas da cepa *Rockefeller*, foram utilizadas em todos os ensaios fotodinâmicos e controles.

As fitas com os ovos, foram colocadas em bandejas plásticas contendo 2 L de água declorada, em sala climatizada à 30 °C com fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro e umidade de 60±5%.

Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração AlconBASIC® MEP 200 Complex (Alcon, Santa Catarina, Brasil) até atingirem o 3º estágio (L3) de desenvolvimento, para a realização dos ensaios de IFD.

6.3.3 Análise de IFD: eficácia larvicida

Os ensaios de eficácia foram realizados de acordo com (WHO, 2005), com adaptações. Foram utilizados recipientes plásticos, com volume de 20 mL de água declorada com 20-25 larvas, em triplicata (**Figura 27**).



Figura 27. Representação dos ensaios de eficácia - recipientes com água destilada e lâmpadas fluorescentes de 18W, irradiância de $0,83 \text{ mW/cm}^2$, dose de luz: $35,85 \text{ J/cm}^2$.

As concentrações de curcumina das formulações variaram entre 0; 0,01; 0,04; 0,07; 0,15; 0,31; 0,62; 1,25 e 2,5 mg/L. Os grupos controles foram: controle luz (somente água) e controle escuro. Além disso, para a curcumina livre, as concentrações foram: 0,97, 1,95, 3,9, 7,81, 15,6, 31,25, 62,5 e 125 mg/L. Para os ensaios, foram utilizadas lâmpadas brancas fluorescentes de 18W, irradiância de $0,83 \text{ mW/cm}^2$, com fotoperíodo de (12:12h) (claro:escuro), dose de luz: $35,85 \text{ J/cm}^2$ e temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Após o período de 24 h, a mortalidade larval foi registrada e os valores da concentração letal 50% (CL_{50}) e concentração letal 90 % (CL_{90}) foram calculados no Origin 2020.

6.3.4 Análises laboratoriais de IFD persistência e reaplicação da curcumina microencapsulada

O ensaio de persistência em laboratório foi realizado em recipientes de 1L de água em triplicata, contendo 30 larvas de *Ae. aegypti* e a uma pastilha de curcumina microencapsulada (concentração de curcumina foi de 20 mg) e após 24 h a mortalidade larval foi registrada. Neste ensaio, foram utilizadas lâmpadas brancas fluorescentes de 18W, irradiância de $0,83 \text{ mW/cm}^2$, com fotoperíodo de (12:12h) (claro: escuro).

Os ensaios de persistência foram conduzidos substituído as larvas mortas a cada 24 h, novas larvas do mesmo estágio foram adicionadas e isso se repetia até a curcumina não apresentar mais efeito residual.

A reaplicação da curcumina microencapsulada foi realizada mantendo o mesmo n de larvas e volume foi utilizado um quarto da pastilha de curcumina microencapsulada (concentração de 5 mg de curcumina) e dois grupos com tempos diferentes de reaplicação: no primeiro, a reaplicação do FS foi realizada a cada 3 dias e o segundo grupo a cada 15 dias. A cada 24 h foi registrada a mortalidade das larvas e realizado novo processo de troca de larvas.

6.3.5 Monitoramento de parâmetros da solução dos recipientes em ensaios de IFD laboratório

Para a avaliação da água dos recipientes utilizados para os experimentos da **Seção 6.3.4**, foram utilizados como parâmetros: proliferação de microrganismos, intensidade de luz e sólidos totais dissolvidos na água.

Nos ensaios de reaplicação de 3 em 3 dias foi realizada espectroscopia de absorção UV-Vis das amostras ao longo dos dias.

6.3.5.1 Avaliação da proliferação microbiana nos recipientes

Visto que a formulação final de curcumina apresenta e excipientes como amido, D-manitol e pectina, que podem ser atrativos para microbiota presente na água dos recipientes dos experimentos laboratoriais, foram realizados ensaios em laboratório para avaliar a proliferação de microrganismos no início e no final do experimento (0% de mortalidade larval).

Alíquotas de 100 µL das amostras de água foram retiradas de cada recipiente e adicionadas em microtubos de plástico contendo 900 µL de solução salina tamponada (PBS) para homogeneização. Em seguida, diluições seriadas foram realizadas e o plaqueamento feito em placas de Petri contendo meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI). As placas foram divididas em seis partes iguais, sendo que cada parte recebeu 17 µL de cada diluição, plaqueadas pelo método de espalhamento. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C por 24 h para posterior

contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). Os resultados obtidos foram expressos em log UFC/mL.

6.3.5.2 Determinação da intensidade de luz dos recipientes

A medidas de intensidade de luz que incide nos recipientes foram realizadas a em 3 diferentes alturas (partindo do apoio onde os recipientes foram colocados): 0, 2 e 4 cm. Os dados foram coletados a partir de uma fibra óptica e do software Ocean View.

6.3.5.3 Análise de sólidos totais dissolvidos

As análises de sólidos totais dissolvidos foram realizadas com um medidor de condutividade de bolso da marca AK50. Esse parâmetro foi monitorado ao longo de todos os dias dos experimentos de persistência e reaplicação da pastilha de curcumina.

6.3.5.4 Diluições das amostras

A **Figura 28**, ilustra como foi realizado o processo de diluição ao final do ensaio de reaplicação (0% de mortalidade), a cada 3 dias, da formulação de curcumina microencapsulada. Primeiramente a solução do recipiente foi dividida em outros 2 recipientes de 1 L e foram adicionados 500 mL de água deionada (1 diluição) a cada um, seguindo igualmente os testes da **Seção 6.3.4**. Em um segundo momento quando a diluição 1 também perdeu seu efeito residual, foi realizada mais uma diluição (2 diluições), onde em outro recipiente de 1 L, foram adicionados 500 mL da solução restante do teste e 500 mL de água deionada, realizando a troca das larvas mortas a cada 24 h.

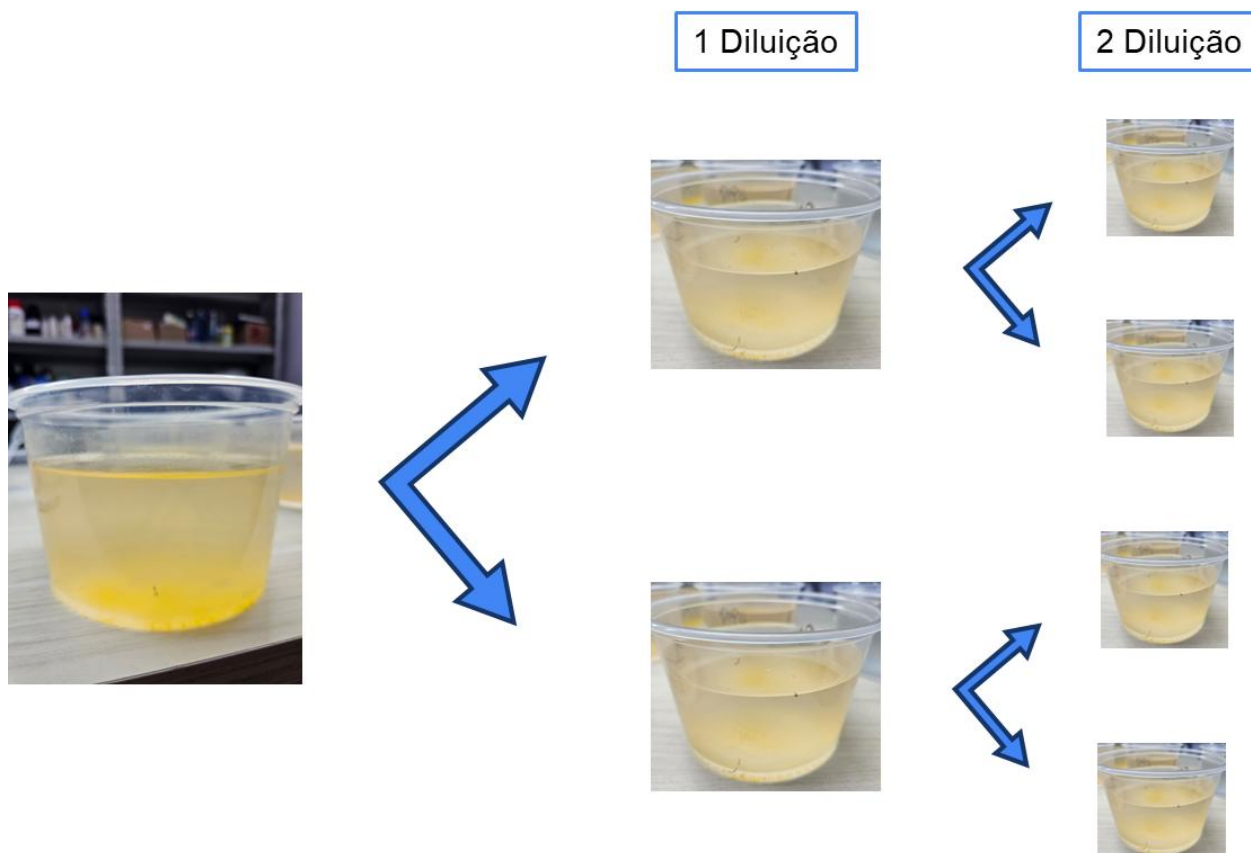


Figura 28. Representação das diluições após o final do ensaio de reaplicação de 3 em 3 dias. Diluição 1 apresenta 500 mL da solução final do ensaio de reaplicação a cada 3 dias e 500 mL de água decolorada. Diluição 2 apresenta 500 mL da solução final da diluição da diluição 1 e 500 mL de água decolorada.

6.3.5.5 Análise da estabilidade residual via espectroscopia de absorção no ultravioleta visível

O monitoramento das soluções diárias do teste de reaplicação a cada 3 dias (1, 2, 3 e 4), foram analisadas utilizando um espectrofotômetro UV-vis Varian Cary® (Varian Medical Systems, EUA), do Laboratório de Biofotônica do IFSC. As medidas de absorção foram realizadas no intervalo de comprimento de onda de 200 a 800 nm, usando cubeta quartzo de quatro faces polidas de 10 mm de caminho óptico. E para os cálculos de concentração das amostras utilizou a equação da reta obtida da curva de calibração da curcumina.

6.3.6 Microscopia de fluorescência de varredura a laser confocal de larvas de *Ae. aegypti*

As larvas do terceiro estágio (L3) foram expostas às formulações de curcumina por 20 min e, em seguida, lavadas com água destilada e colocadas em lâminas para análise em triplicata (Lima et al., 2022c). A distribuição da pastilha de curcumina no trato digestório das larvas de *Ae. aegypti* foram determinada utilizando microscopia de fluorescência confocal invertida (Zeiss LSM780, Jena, Alemanha), equipada com um laser Chameleon (Ti, Coherent, Santa Clara, CA, EUA) com fonte de excitação de dois fótons (2F) a 800 nm e uma lente objetiva Plan-Apochromat (20x). As imagens foram obtidas no modo canal, considerando as regiões espectrais de autofluorescência larval e emissão de curcumina separadamente. Portanto, as imagens das formulações de curcumina em larvas foram obtidas configurando as regiões de fluorescência para 420–700 nm (canal 1) e 500–700 nm (canal 2). Cada pixel da imagem contém a intensidade de fluorescência das duas regiões espectrais separadamente. As imagens foram coletadas usando filtros ópticos apropriados para excluir a luz laser.

6.3.7 Análises estatísticas

Os valores das concentrações letais ($CL_{50;90}$) foram obtidos por regressão não linear, utilizando dose-resposta, calculada através do software Origin 2020.

6.4 Resultados e Discussões

6.4.1 Análise IFD: Eficácia larvicida laboratorial

Os resultados da mortalidade larval do *Ae. aegypti* após 24 h de exposição e os valores de concentração letal (CL_{50-24h}) são apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Atividade fotolarvicida de curcumina, microcápsula de curcumina e da pastilha de curcumina em larvas de *Ae. aegypti* após 24 h.

Formulações	CL_{50-24h} (mg/L)	Limite de confiança de 95% CL_{50} (inferior-superior)	R^2
Curcumina	23,02	(17,100–32,180)	0,99
Microcápsula de curcumina	0,40	(0,283–0,604)	0,99
Pastilha de curcumina	0,27	(0,068–0,335)	0,99

O valor de CL_{50-24h} para microcápsulas foi de 0,40 mg/L, enquanto para curcumina livre foi de 23,02 mg/L. Esses resultados mostraram um forte potencial larvicida para microcápsulas de curcumina, sendo aproximadamente 57 vezes mais eficaz do que a curcumina livre. Esse resultado pode indicar que a técnica de microencapsulação de curcumina melhorou sua aplicação devido à sua baixa solubilidade e estabilidade. O encapsulamento provavelmente preservou a configuração isomérica ativa da curcumina, prevenindo a degradação e melhorando seu desempenho ambiental (Angelini; Pasc; Gasbarri, 2020; Kazakova; Lipkovska; Barvinchenko, 2022). Como no estudo Guo, que usou dois métodos de encapsulamento, e ambos exibiram estabilidade melhorada contra calor e acidez (Guo et al., 2020).

Além disso, com a pastilha de curcumina observamos valores de CLs ainda melhores. Para os ensaios de laboratório, a CL_{50} foi de 0,27 e a CL_{90} de 1,6 mg/L (**Tabela 4**).

Tabela 4. Concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) de curcumina em larvas de *Aedes aegypti* expostas por 24 h em laboratório.

	CL_{50-24h} (mg/L) (LIC-LSC)	CL_{90-24h} (mg/L) (LIC-LSC)
Laboratório	0,27 (0,068-0,335)	1,6 (0,917-2,45)

CL, concentração letal; LIC, limite inferior de confiança de 95%; LSC, limite superior de confiança de 95%.

Esses resultados indicam que a microencapsulação não apenas aumenta a solubilidade da curcumina, mas também melhora sua biodisponibilidade dentro das larvas, aumentando a eficácia fotodinâmica além de demonstrar que a combinação dos excipientes para as pastilhas de curcumina tornaram ainda melhor.

6.4.2 Avaliação da persistência em laboratório

Os resultados da atividade residual laboratorial da pastilha de curcumina microencapsulada são mostrados na **Figura 29**. A pastilha de curcumina resultou em 100% de mortalidade larval em até 10 dias de exposição à irradiação. Posteriormente, houve uma queda de 50% em 15 dias e seu efeito residual cessou em 27 dias.

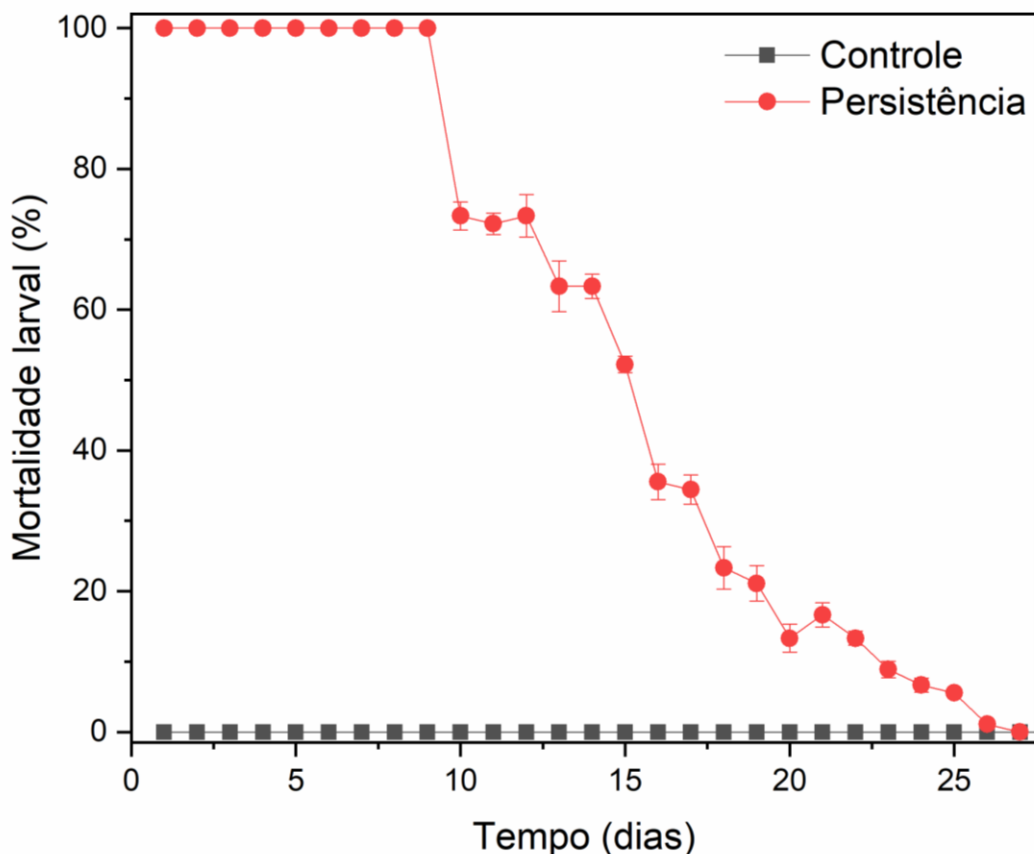


Figura 29. Atividade residual da pastilha de curcumina por tempo em dias em *Ae. aegypti* sob condições de laboratório.

A pastilha de curcumina apresentou 100% de mortalidade das larvas em 10 dias e efeito residual de 27 dias. Comparada à fração cardanol (derivada da casca da castanha de caju), uma molécula bastante promissora para eliminação de larvas, a formulação foi aproximadamente 7 vezes mais persistente. O cardanol apresenta um tempo médio de atividade residual de 3,7 dias (De Carvalho et al., 2019).

Ao analisar a literatura atual, há um estudo da atividade residual da curcumina sobre larvas de *Ae. aegypti*, com misturas físicas de curcumina e D-manitol, mostrando atividade residual de 5 dias, indicando que a formulação de curcumina microencapsulada teve maior com seu efeito residual potencializado (Mezzacappo et al., 2021). A microencapsulação do ingrediente ativo fotossensibilizante curcumina em agentes carreadores D-manitol e amido melhorou sua estabilidade, principalmente a pectina, garantindo maior tempo de eficácia fotolarvicida.

6.4.3 Ensaios de reaplicação da curcumina microencapsulada

Os resultados dos ensaios de reaplicação foram iniciados com concentração de 5 mg/L de curcumina e em seguida duas reaplicações (3 e 15 dias) de 5 mg/L. A **Figura 30** apresenta os dados de mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* no 3º estágio (L3) de desenvolvimento, com reaplicações de curcumina microencapsulada a cada 3 dias. O grupo controle apresentou sobrevivência de 100% das larvas em função dos dias, respeitando o período de troca larval, no recipiente.

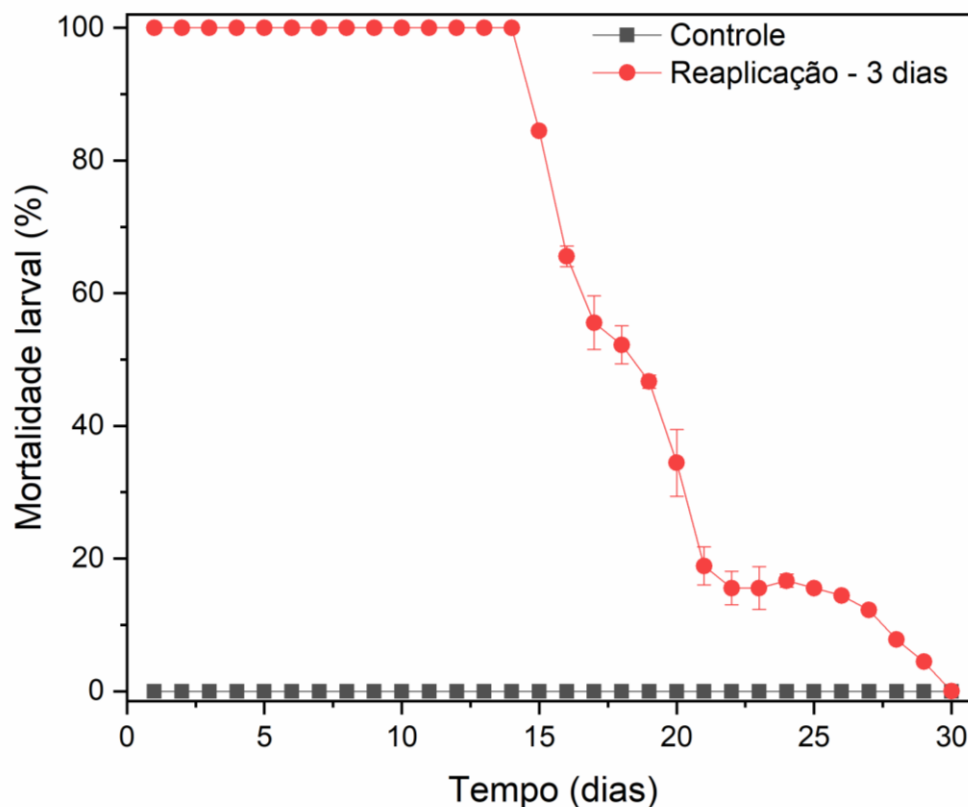


Figura 30. Atividade da microcápsula de curcumina com intervalos de aplicação a cada 3 dias em larvas de *Ae. aegypti*. Quadrado representa o grupo controle e círculo representa o grupo submetidos a um quarto de pastilha de microcápsula de curcumina.

A taxa de mortalidade de larval (**Figura 30**) foi de 100% nos primeiros 15 dias para a reaplicação da curcumina microencapsulada com intervalos a cada 3 dias. Após esse período, apresentou uma redução na taxa de morte das larvas ao longo dos dias. Entretanto mesmo realizando a reposição no tempo determinado, não teve aumento na eficácia, reduzindo para 30% a taxa de mortalidade das larvas com 20 dias de reaplicação. Em 30 dias não foi observado mais mortalidade larval mesmo com adição da curcumina microencapsulada. A hipótese é de que a

redução da mortalidade possa ter sido influenciada pelo aumento de material orgânico nos recipientes, isso faz com que a intensidade de luz não penetre no meio atingido as larvas.

Os resultados da eficácia do processo IFD na mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* no 3º estágio para a reaplicação de curcumina microencapsulada a cada 15 dias, são mostrados na **Figura 31**.

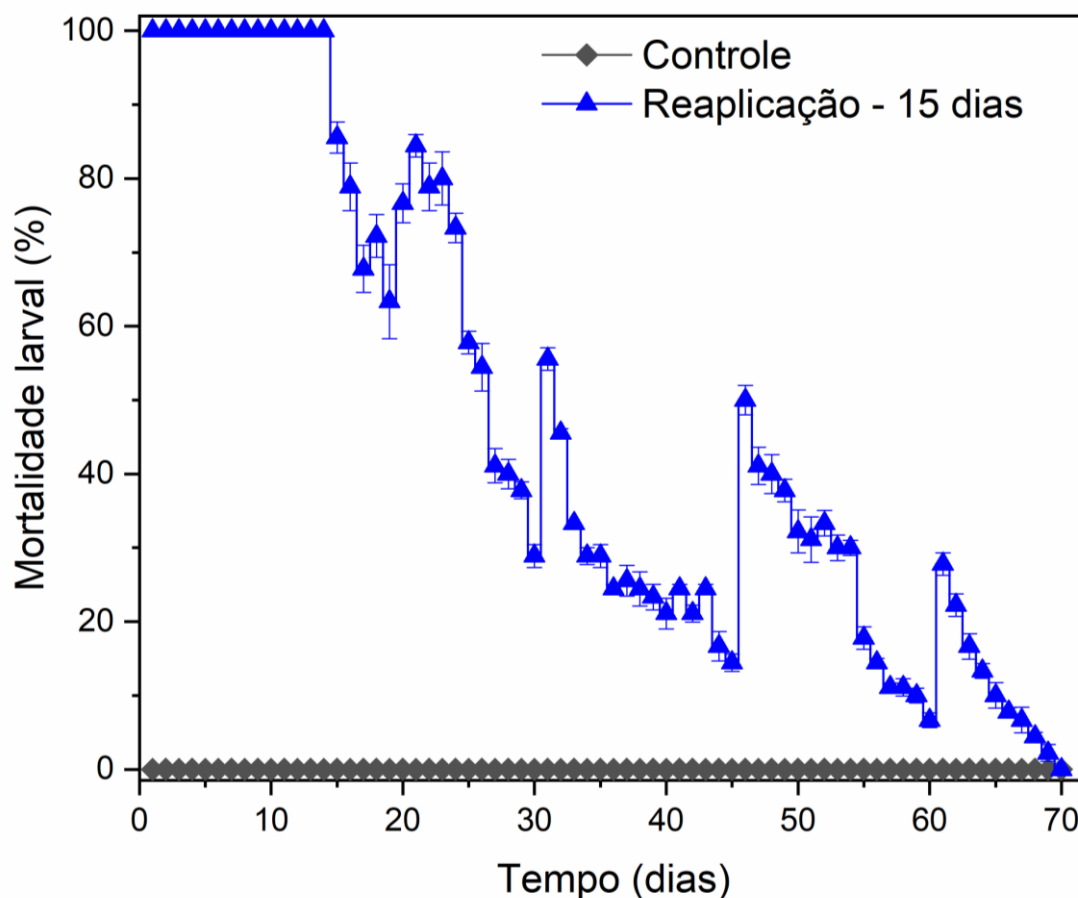


Figura 31. Atividade da microcápsula de curcumina com intervalos de aplicação a cada 15 dias em larvas de *Ae. aegypti*. Losango representa o grupo controle e triângulo representa o grupo submetidos a um quarto de pastilha de microcápsula de curcumina.

Na **Figura 31**, observou-se que houve mortalidade de 100% das larvas até 15 dias. Após a segunda reaplicação a cada 15 dias (dia 30) tivemos um aumento na mortalidade das larvas de 29% para 55,5% indicando o aumento da concentração de curcumina e consequentemente maior mortalidade larval. Esse efeito se mantém nas próximas aplicações como no dia 45 em que é observada mortalidade de aproximadamente 14% e no dia 46 em que essa mortalidade larval

aumenta para 50%. Na reaplicação do dia 60 teve um aumento na mortalidade larval de 6,6% para 27,8%. O ensaio se encerra com 70 dias (mortalidade larval de 0%). O grupo controle não apresentou mortalidade larval.

Ao comparar o efeito residual da fotolarvicida da curcumina microencapsulada com uma formulação a de base porfirina meso-substituída meso-tri (N-metilpiridil), meso-mono (N-tetradecil piridil) porfirina (C14) como larvicida fotoativável contra larvas do vetor *Ae. aegypti*, o tempo do efeito residual da curcumina microencapsulada foi de 15 dias enquanto que o da porfirina C14 foi de 14 dias (Lucantoni et al., 2011).

Os métodos tradicionais de controle vetorial apresentam uma margem de reaplicação relativamente alta (em torno de 60 dias) (Karunaratne; Surendran, 2022). Geralmente são colocadas concentrações muito maiores do que o necessário para durar esse tempo. Além de apresentarem várias limitações e como por exemplo, a resistência do vetor (Karunaratne; Surendran, 2022). Inseticidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) já foram alternativas em estratégias integradas de controle vetorial com sucesso variável (Paris; David; Despres, 2011).

Os reguladores de crescimento de insetos (IGRs) são um grupo de produtos químicos que têm sido utilizados como uma alternativa eficaz para o controle de insetos vetores em todo o mundo. Porém, todos esses modelos de aplicação não exibem uma boa margem de segurança para a maioria da biota não-alvo e o ambiente (Karunaratne; Surendran, 2022).

6.4.4 Monitoramento de parâmetros da solução dos recipientes em ensaios de IFD laboratório

Os resultados da análise de proliferação microbiana nos recipientes onde é realizado a IFD, contendo a água, larvas e a curcumina microencapsulada são mostrados na **Figura 32**, com grupo controle, persistência (per), reaplicação de 3 dias (reap 3) e reaplicação 15 dias (reap 15) em experimentos de laboratório.

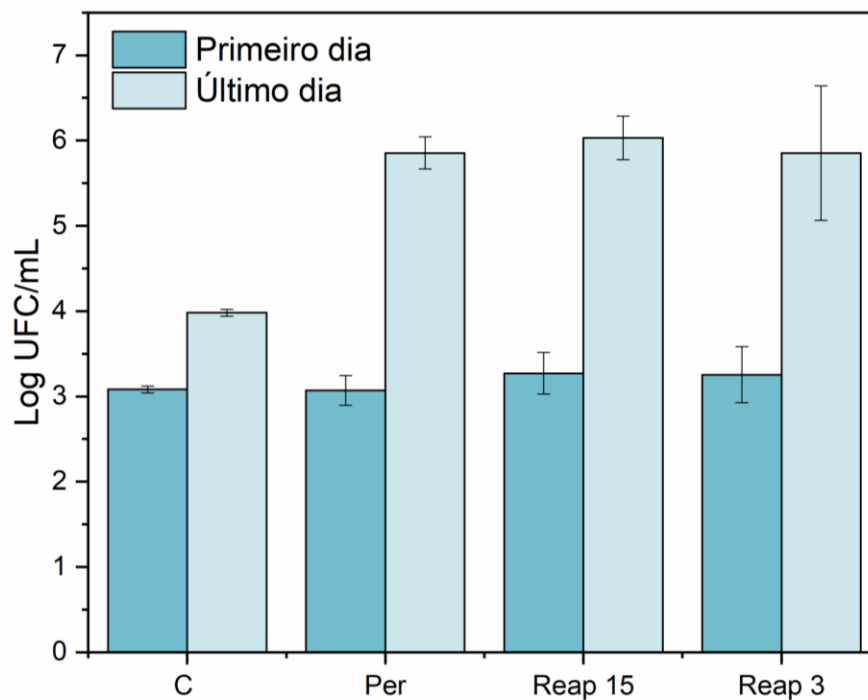


Figura 32. Avaliação da carga microbiológica da água dos experimentos de laboratório. C) grupo controle, Per) grupo persistência, Reap 15) grupo de reaplicação a cada 15 dias, Reap 3) grupo de reaplicação de a cada 3 dias.

Os resultados mostram crescimento de aproximadamente de 3 log entre os grupos do primeiro e do último dia. Apenas no grupo controle, o aumento foi de cerca de 1 log. O crescimento microbiano dos demais grupos pode ser justificado pela presença de D-manitol e amido na água, uma vez que são compostos que apresentam fonte de carbono, e os microrganismos utilizam como nutrientes em seu metabolismo. A microbiota pode consumir os componentes, a tendência é reestabelecer o ambiente original (Garbuio et al., 2022).

A determinação da intensidade de luz que penetra no recipiente à medida que foi realizado o processo de IFD para a persistência e reaplicação é fundamental. Na **Figura 33** é mostrado o recipiente para a ação fotodinâmica de persistência e reaplicação de curcumina microencapsulada em laboratório.

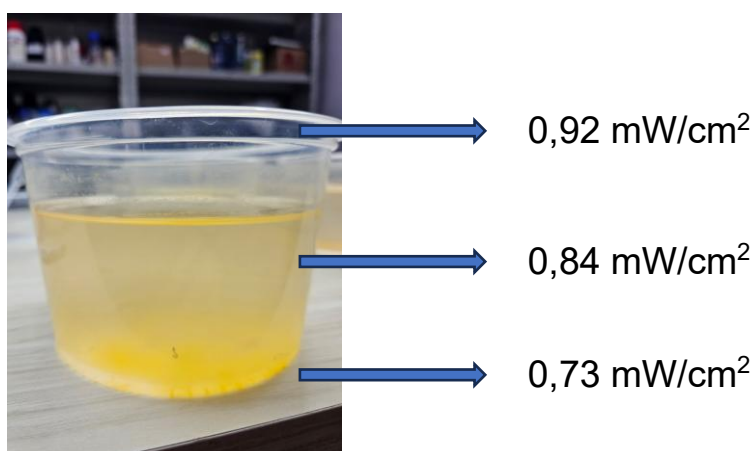


Figura 33. Recipiente de 1L dos testes de laboratório e os valores obtidos pela fibra óptica. 0,73 mW/cm²: 0 cm, 0,84 mW/cm²: 2 cm e 0,92 mW/cm²: 4 cm.

Os resultados da medida de intensidade da luz branca foram de 0,73 mW/cm² para a altura 0 cm, ou seja, a base do recipiente. Na altura de 2 cm foi de 0,84 mW/cm² e na altura 4 cm de 0,92 mW/cm² respectivamente (**Tabela 5**).

Tabela 5. Valores da intensidade de luz mediante a altura dos recipientes de 1 L dos ensaios laboratoriais de persistência e reaplicação a cada 3 dias e a cada 15 dias.

Altura do recipiente (cm)	Intensidade da luz (mW/cm ²)
0	0,73
2	0,84
4	0,92

Essa atenuação também pode interferir na mortalidade das larvas, porque, quanto menor a altura do recipiente, menor a intensidade de luz que chega até as larvas. Além disso, ao longo dos dias foram adicionados mais concentrações do ativo (FS) na água, aumentando a concentração e provavelmente dificultando a passagem de raios luminosos.

A luz de baixo d'água pode ser atenuada por dois processos: absorção e dispersão. De acordo com Kirk (KIRK, 1994), a absorção remove completamente a luz, enquanto a dispersão altera a direção de propagação dos raios luminosos. A dispersão não remove diretamente a luz da água, mas aumenta a probabilidade de que ela seja absorvida, ao aumentar o comprimento do caminho ou a distância que a luz precisa percorrer. Absorção e dispersão interagem de maneira complexa e não linear para determinar a atenuação da luz subaquática.

Os resultados da concentração de sólidos totais dissolvidos presentes em função dos dias dos ensaios de persistência em laboratório, reaplicação a cada 3 dias e reaplicação a cada 15 dias, são apresentados na **Figura 34**.

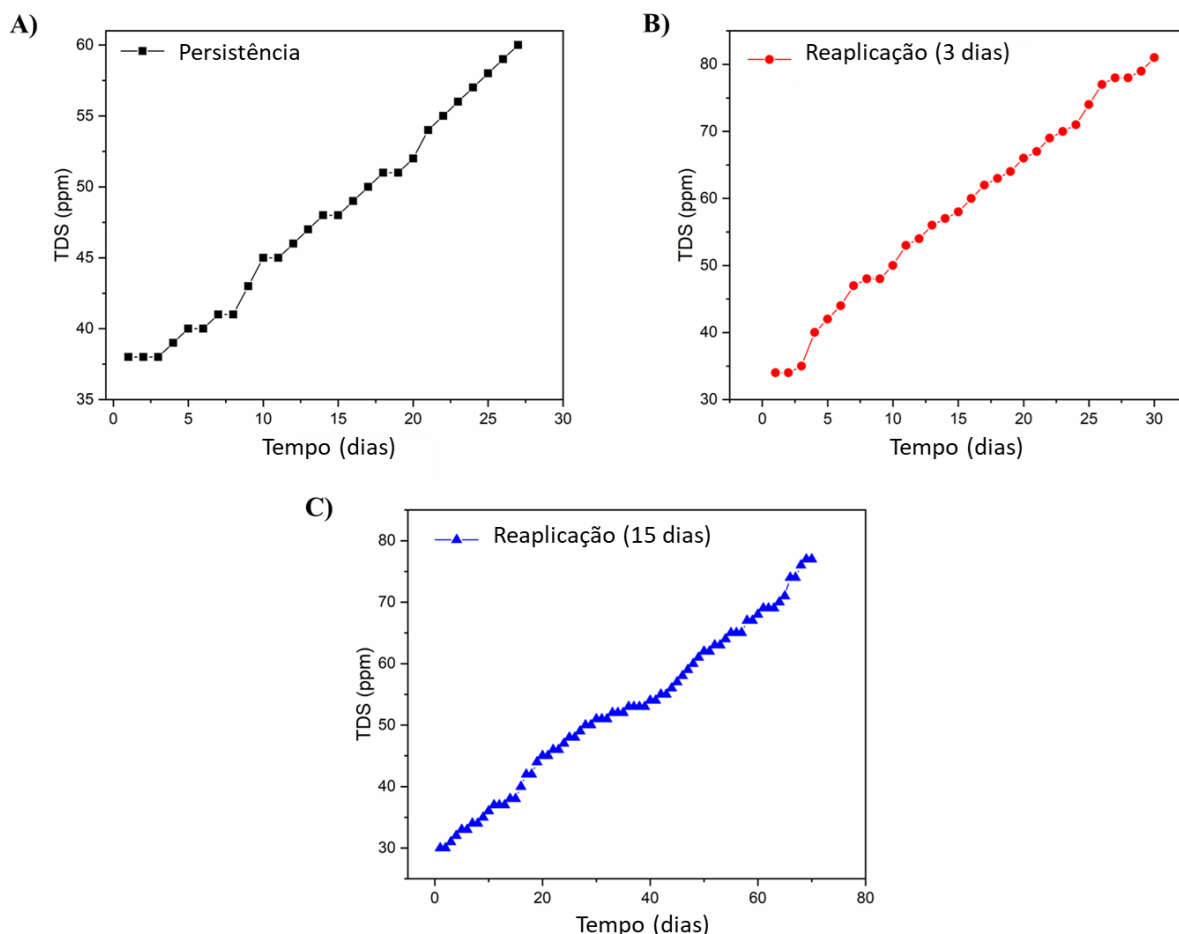


Figura 34. Disponibilidade dos sólidos totais nos recipientes experimentos de laboratório com pastilhas de curcumina microencapsulada. A) Persistência, B) Reaplicação a cada 3 dias e C) Reaplicação a cada 15 dias.

Na **Figura 34A**, referente aos ensaios de persistência, os sólidos totais iniciaram com um valor de 38 ppm e após 27 dias o valor aumenta para 60 ppm. Com relação aos ensaios de reaplicação das formulações de curcumina a cada 3 dias, o valor inicia com 34 ppm e após 30 dias 81 ppm de sólidos totais dissolvidos (**Figura 34B**). E por fim para o ensaio de reaplicação de 15 dias, **Figura 34C**, no início o valor foi de 30 ppm e após 70 dias chegou a 77 ppm de sólidos totais dissolvidos. Os sólidos dissolvidos nas soluções dos experimentos laboratoriais, podem interferir na intensidade e na entrega de luz nos recipientes gerando absorção e espalhamento (V.-Balogh; Németh; Vörös, 2009).

Existem diferenças nas concentrações de substâncias opticamente ativas e suas contribuições relativas para a atenuação da luz em águas diferentes. Segundo Philips e colaboradores (Philips et al., 1995), matéria orgânica dissolvida, sólidos suspensos não-algais e algais provenientes de fluxos de rios e sedimentos, sedimentos resuspensos são fatores importantes na atenuação da luz, podendo causar limitação e barreiras para a luz.

Após os testes de reaplicação de 3 em 3 dias não apresentarem mais eficácia (0% de mortalidade) foi realizada a continuação do experimento utilizando as diluições 1 e 2 para entender o comportamento da curcumina.

6.4.5 Processo de diluições da formulação da curcumina microencapsulada nos recipientes

Após observar a perda da eficácia nos testes de reaplicação a cada 3 dias, evidenciada pela ausência de mortalidade larval (0%), foram realizados novos testes de diluições das amostras presentes nos recipientes. O objetivo foi investigar as possíveis causas da perda de atividade fotolarvicida, considerando a degradação do princípio ativo quanto a possível interferência da concentração elevada e do acúmulo de sólidos totais, que poderiam estar dificultado a penetração de luz. Para isso, foram preparadas duas diluições sucessivas (diluição 1 e 2) das amostras remanescentes nos recipientes.

Na **Figura 35** são mostrados os dados de mortalidade das larvas *Ae. aegypti*, no 3º estágio (L3) para as diluições 1 e 2 da reaplicação de curcumina microencapsulada com intervalos de 3 dias.

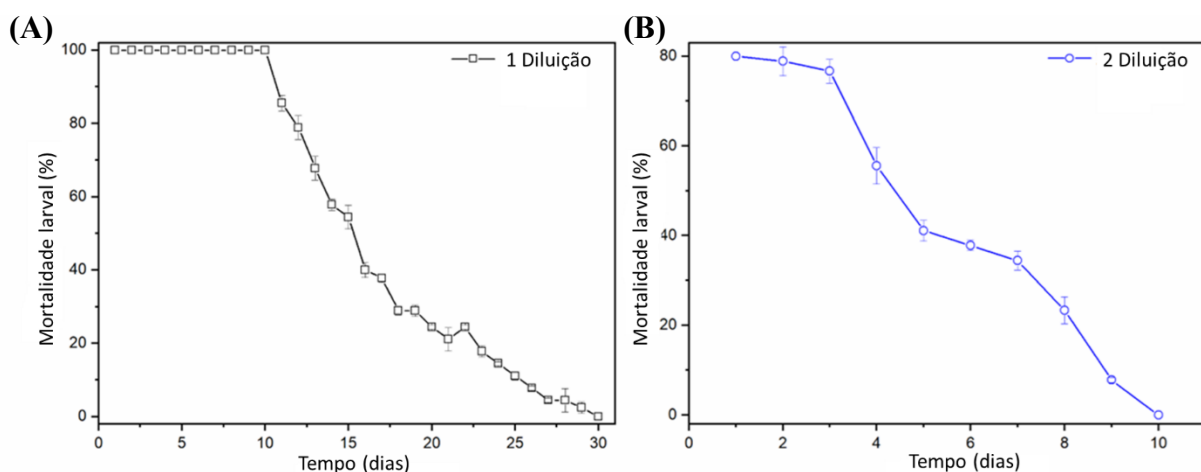


Figura 35. Atividade da curcumina em larvas de *Ae. aegypti* por reaplicação a cada 3 dias. A) 1 diluição e B) 2 diluição.

Na **Figura 35A**, após a primeira diluição (linha preta) a formulação de curcumina microencapsulada ainda estava ativa e apresentou mortalidade larval. Efeito fotolarvicida de 100% de mortalidade por mais 10 dias. Em 15 dias a taxa de mortalidade foi de um pouco mais de 50% e apresenta um efeito residual de mais 30 dias.

E na **Figura 35B** com a 2 diluição (linha azul) a mortalidade já inicia em 80%, com 5 dias chega a 40% de mortalidade larval e se mantém por 10 dias (efeito residual). Após as duas diluições, a curcumina microencapsulada voltou a eliminar larvas de *Ae. aegypti*. Esse efeito pode estar relacionado com a disponibilidade e solubilidade controlada da formulação, pois após a mistura das diluições voltou a apresentar mortalidade das larvas.

A concentração de curcumina microencapsulada nos recipientes foi determinada a partir da absorção das amostras dos ensaios de reaplicação de 3 em 3 dias ao longo dos dias (30 dias) e após o processo da primeira diluição com mais 30 dias. E esse mesmo procedimento foi realizado para a segunda diluição. As concentrações da curcumina foram determinadas a partir da equação: $y = 0,1278x + 0,0149$. Na **Figura 36** são mostradas as concentrações de curcumina contida nos recipientes aplicação com intervalos de 3 em 3 dias e para as diluições laboratoriais.

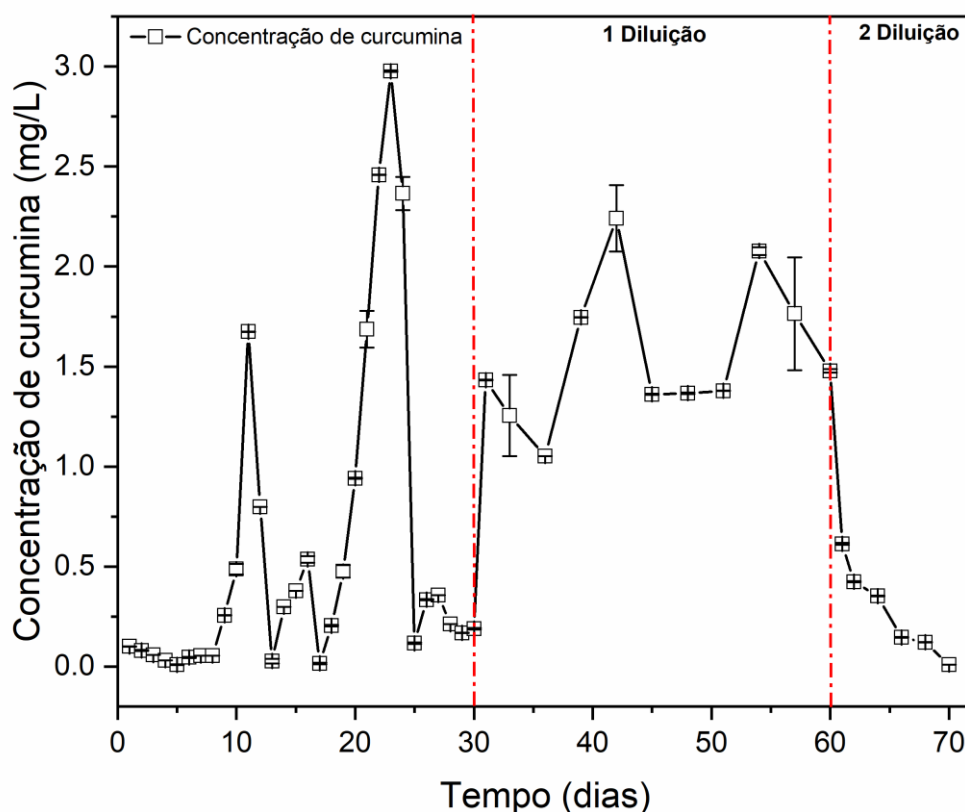


Figura 36. Concentração de curcumina dos recipientes dos testes de reaplicação a cada 3 dias ao longo dos dias. As linhas vermelhas indicam a mudança do fim do primeiro teste para a 1 diluição e a do final da 1 diluição e início da 2 diluição.

Os resultados mostram que provavelmente ocorre atenuação da luz através dos sólidos totais dissolvidos. Em 30 dias não apresentaram mais mortalidade larval nos recipientes, porém a concentração de curcumina não havia zerado **Figura 36**. No processo da primeira diluição, a concentração de curcumina aumentou consideravelmente e volta fotoinativar as larvas. E na segunda diluição após 10 dias a concentração chega ao ponto 0 indicando não ter mais curcumina e não apresenta mais mortalidade das larvas.

Ao longo do experimento dois efeitos não podem ser ignorados, a fotodegradação da curcumina e a disponibilidade controlada e solubilidade da formulação concomitantemente. Esses efeitos da curcumina já foram observados anteriormente. Segundo Mezzacappo e seus colaboradores (MEZZACAPPO et al., 2021), a fotodegradação da curcumina ocorre devido vários processos (fotofísicos e fotoquímicos) na presença de O_2 , tornando inevitável a formação de EROs

e o $^1\text{O}_2$. Essas moléculas geram reações oxidativas na estrutura molecular da curcumina, podendo promover produtos de degradação. Além disso, utilizaram D-manitol para uma maior solubilidade da curcumina e bons resultados de eficácia contra as larvas *Ae. aegypti*. O presente trabalho utiliza amido, D-manitol e pectina, apresentando um melhor controle na biodisponibilidade e estabilidade da curcumina perante a água.

6.4.6 Microscopia Confocal Larvas *Ae. aegypti*

A microscopia confocal foi utilizada para avaliar a penetração e a biodistribuição da formulação da pastilha de curcumina microencapsulada no corpo larval. Nos testes de persistência em laboratório, a formulação demonstrou maior duração ao longo dos dias, destacando-se em relação a outros estudos (Garbuio et al., 2022; Mezzacappo et al., 2021). Além disso, a pastilha apresentou CL_{50} significativamente menor quando comparada a literatura, indicando maior eficiência na mortalidade. A **Figura 37** mostra imagens de varredura de ladrilhos de larvas no 3º estágio (L3) de desenvolvimento de *Ae. aegypti* (A) grupo controle, (B) grupo pastilha de curcumina.

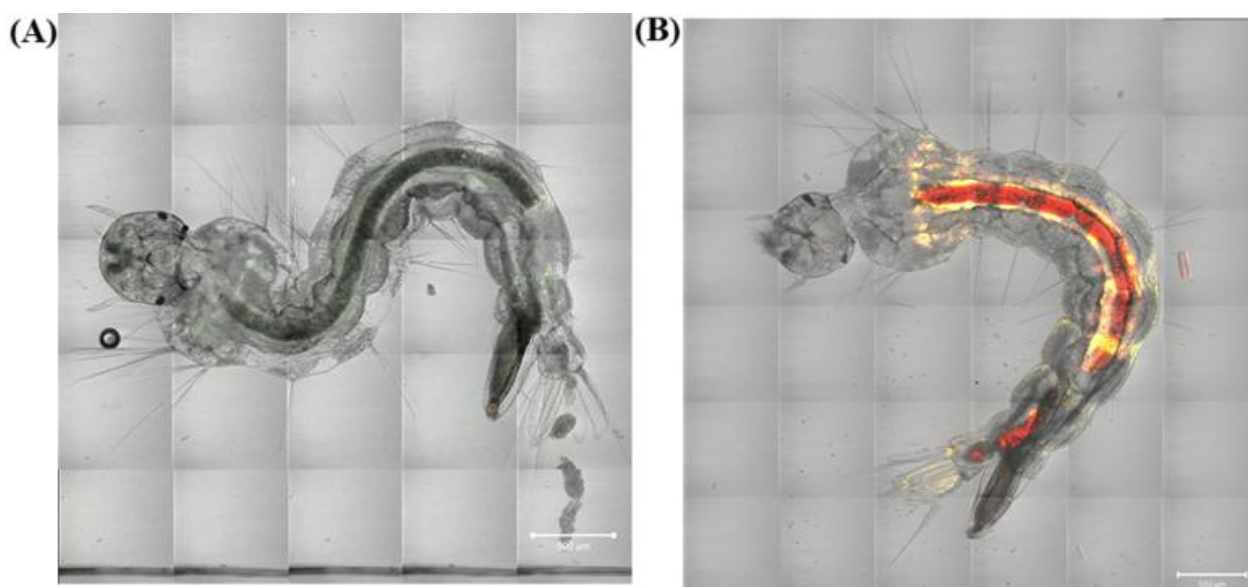


Figura 37. Imagens de microscopia confocal de larvas de *Ae. aegypti* com 20 min de exposição à formulação da pastilha de curcumina: (A) controle (B) pastilha de curcumina microencapsulada. Barra de escala = 500 μm .

A **Figura 37A** mostra larvas de *Ae. aegypti* controle, não expostas às formulações de curcumina. A **Figura 37B** mostra larvas de *Ae. aegypti* após 20 min de exposição à formulação da pastilha de curcumina com tecidos larvais. A técnica permite a visualização das estruturas internas e externas das larvas em alta resolução. A distribuição da curcumina nas larvas expostas é uniforme em toda a região torácica e segmentos abdominais. Este padrão de rápida incorporação e ampla distribuição de curcumina nas larvas de *Ae. aegypti* é consistente com dados da literatura (De Souza et al., 2019; Lima et al., 2018, 2022; Wang et al., 1997). Além disso, a **Figura 37B** traz uma imagem de microscopia confocal acompanhada dos perfis espectrais de emissão da curcumina, demonstrando sua biodisponibilidade no sistema digestivo das larvas, o que pode esclarecer mecanismos de absorção e metabolismo, já que a fluorescência indica a presença do composto em locais específicos.

A **Figura 38** representa a região do trato digestivo da larva de *Ae. aegypti* exposta por 20 min às formulações da pastilha de curcumina (**Figura 38A**) e seus espectros de emissão nas regiões destacadas na **Figura 38B**.

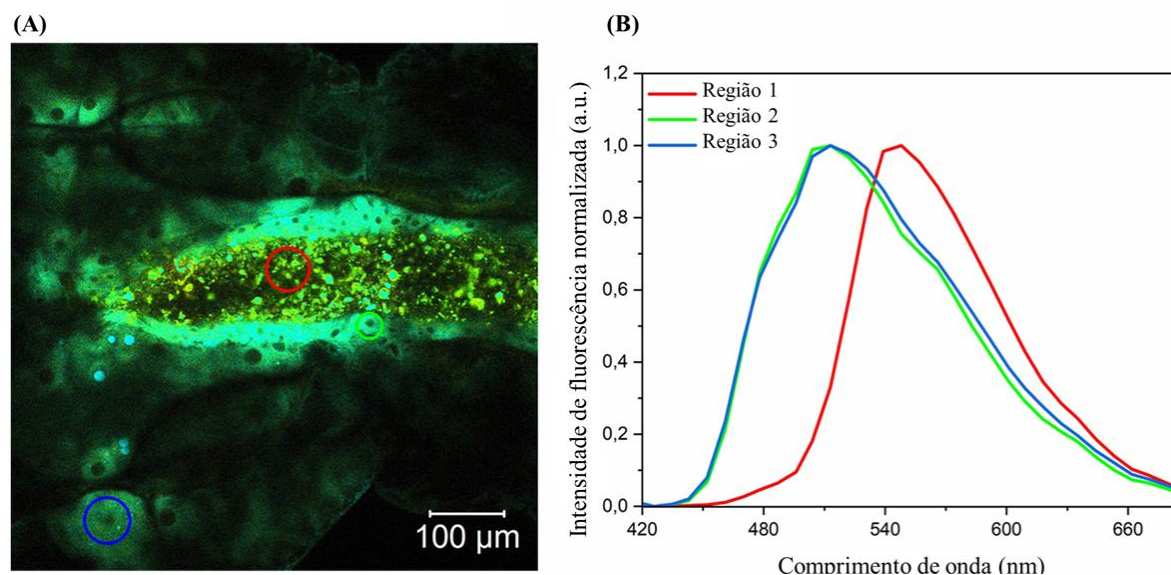


Figura 38. Imagens de microscopia confocal de larvas de *Ae. aegypti* (A) trato digestivo da larva exposta por 20 min à formulação da pastilha de curcumina e (B) espectro de emissão de curcumina.

Os resultados mostram que os espectros de fluorescência são intensos e uniformes em todo o trato larval (regiões 1, 2 e 3), indicando maior distribuição e interação da curcumina com os tecidos. Essa maior biodisponibilidade da curcumina pode ter levado a maiores danos às células do

trato larval com o uso da formulação das pastilhas de curcumina. Portanto, esse efeito pode estar relacionado aos resultados dos ensaios de IFD.

Estudos com espectroscopia Raman corroboram com o comportamento encontrado nesse estudo, mostrando que a uma formulação de curcumina com D-manitol promoveu alterações moleculares mais intensas no epitélio intestinal das larvas. A formulação ainda, pode ter facilitado a penetração da curcumina e permitiu que ela atingisse regiões mais profundas do tecido (De Souza et al., 2020).

6.5 Conclusões parciais

A formulação de curcumina microencapsulada apresentou a maior efeito larvicida, com redução de 57 vezes na CL_{50} em comparação à curcumina livre, e manteve seu efeito residual por até 27 dias, destacando seu potencial para o controle prolongado de vetores. A análise por microscopia confocal revelou ainda a absorção e a biodisponibilidade eficientes da curcumina em tecidos larvais, reforçando seu mecanismo de ação na IFD. Esses resultados sugerem que formulações fotoinseticidas à base de curcumina podem servir como uma alternativa sustentável e ecologicamente correta aos inseticidas convencionais, mitigando problemas relacionados à resistência química e à toxicidade ambiental. Estudos futuros devem explorar aplicações em larga escala, ensaios de campo e otimização adicional das formulações para aumentar a estabilidade e a viabilidade econômica em condições reais.

7 CAPÍTULO – Ensaios de inativação fotodinâmica do fotolarvicida curcumina em larvas do vetor *Aedes aegypti* em ambientes relevantes: campo simulado e organismos não-alvo.

7.1 Introdução

O controle do mosquito *Ae. aegypti* é uma prioridade de saúde pública por ser vetor de diversas arboviroses. Tradicionalmente, os métodos de controle têm se concentrado em eliminação de criadouros, o uso de inseticidas químicos, com a aplicação de larvicidas e adulticidas. No entanto, esses métodos enfrentam limitações, como a resistência crescente dos mosquitos aos inseticidas e os impactos ambientais adversos. Nesse contexto, a busca por métodos novos de manejos e produtos inovadores torna-se essencial. Uma dessas abordagens emergentes é a IFD, que vem ganhando atenção pela sua eficácia e segurança.

A OMS enfatiza a importância de uma abordagem rigorosa para a transição de novos métodos de controle de vetores dos estudos laboratoriais para a aplicação em campo. Esse processo envolve três etapas: A primeira etapa 1: Experimentação Laboratorial (prova de princípio). No ambiente controlado do laboratório, a IFD foi avaliada quanto à sua eficácia, segurança e modo de ação. Nessa fase, são determinadas as doses ideais do FS. Além da intensidade da luz necessária para atingir a mortalidade desejada dos mosquitos.

Na segunda etapa 2: Ensaios em Semi-campo. Após os testes laboratoriais bem-sucedidos, a técnica deve ser avaliada em condições semi-campo, que simulam mais fielmente o ambiente natural, mas ainda permitem um controle experimental rigoroso. Nesses ensaios, é possível observar a eficácia do método em condições quase reais, identificando possíveis desafios e ajustando os protocolos conforme necessário.

Na terceira etapa 3: Testes de Campo. Finalmente, a fase de testes em campo envolve a aplicação do FS em áreas abertas (criadouros naturais ou artificiais). Essa etapa é crucial para avaliar a viabilidade operacional do método em larga escala, bem como seu impacto a longo prazo na população de mosquitos e na incidência de doenças transmitidas.

Sabe-se do grande potencial que a curcumina apresenta como fotolarvicida, nesse contexto, seguindo os protocolos da OMS, esse capítulo tem como objetivo demonstrar eficácia da formulação a base de curcumina microencapsulada em ensaios de campo simulado, bem como avaliar a persistência, associada a um protocolo de reaplicação. Além disso, demonstrar que a aplicação da curcumina não afeta outros organismos que coexistem com as larvas, minimizando os impactos ambientais.

7.2 Objetivos

7.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia da curcumina microencapsulada em larvas de *Ae. aegypti* através de IFD em campo simulado.

7.2.2 Objetivos específicos

Determinar as concentrações letais 50% (CL_{50-24h}) e 90% (CL_{90-24h}) da pastilha de curcumina microencapsulada através da eficácia de IFD em larvas *Ae. aegypti* da linhagem *Rockfeller* em campo simulado;

Analisar a persistência da curcumina microencapsulada em ensaios de IFD campo simulado em larvas de *Ae. aegypti*;

Avaliar a toxicidade da microcápsula de curcumina em modelo animal (*Zebrafish*), através de ensaio de ecotoxicidade aguda;

Determinar a fitotoxicidade da microcápsula de curcumina no modelo vegetal *Allium cepa*, através de análises de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade;

Investigar a toxicidade da microcápsula de curcumina no modelo *Galleria mellonella*, através da curva de sobrevivência e do índice de saúde.

7.3 Materiais e Métodos

7.3.1 Atividade larvícida e investigação da persistência em aplicação de campo simulado

Os ensaios de CL₅₀ e CL₉₀ de campo simulado e de persistência foram realizados de acordo com a Organização Mundial da Saúde com adaptações (WHO, 2005). Os testes foram conduzidos em ambiente aberto, utilizando caixas d'água de fibra de vidro com capacidade para 100 L de água.

Essas caixas receberam um suporte de metal onde foram acoplados guarda-chuvas para a proteção contra chuvas (**Figura 39**).



Figura 39. Visualização dos reservatórios (caixas d'água) de 100 L utilizados nos ensaios de campo simulado.

Primeiramente, as caixas foram preenchidas com água da torneira, permanecendo sob aclimação por 24 h. As concentrações de curcumina utilizadas foram a partir de múltiplos da CL_{90} de laboratório (1,6 mg/L) :0,16; 1,6 e 16 mg/L, três caixas (para cada grupo) e três caixas como grupo controle. A curcumina microencapsulada foi aplicada simultaneamente à adição de 30 larvas por caixa e a fonte de luz utilizada foi a luz solar com intensidade média: mínima de 3476,08 e máxima de 5505,53 lux pernoite ao dia do experimento.

Para a obtenção das CLs, as larvas mortas foram registradas após 24 h e os valores de CL_{50} e CL_{90} foram calculados no Origin 2020. E a reposição das larvas aconteceu diariamente até que as formulações perdessem o efeito para o teste de persistência. As caixas foram monitoradas diariamente a mortalidade larval e formação de pupas (controle).

Os experimentos ocorreram nos meses de abril e maio de 2024 (estação de outono) além dos registros de mortalidade, foram realizadas análises de monitoramento diário: pH, temperatura da água, fluxo luminoso, sólidos totais, salinidade e condutividade.

7.3.2 Análises: Ecotoxicidade

7.3.2.1 Toxicidade aguda em *Zebrafish* (*Danio rerio*)

O *Zebrafish* é um peixe pequeno de água doce muito usado como modelo toxicológico. Seus embriões são transparentes, o que facilita observar alterações no desenvolvimento, malformações e mortalidade em tempo real. Além disso, tem ciclo de vida curto, fácil manutenção em laboratório e alta homologia genética com humanos. Por isso, é amplamente utilizado para avaliar toxicidade aguda, crônica e efeitos teratogênicos de substâncias químicas, nanopartículas e efluentes ambientais (Sha et al., 2025).

A avaliação de toxicidade aguda foi realizada com organismos adultos (fêmea e macho) da espécie *Danio rerio*. Os testes foram realizados de acordo com o protocolo estabelecido pela OCDE, 203 (OECD, 1992) e foram aprovados pelo comitê de ética local, sob o protocolo CEUA n. 6242301120.

Os espécimes de *Danio rerio* foram mantidos no Laboratório de Biofotônica Ambiental (IFSC), localizado na Universidade de São Paulo, campus de São Carlos. O cultivo foi realizado em aquários de 50 L, mantendo-se sempre a condutividade de 500 μ S, pH entre 7-7,5, temperatura entre 28-30 °C e fotoperíodo de 12:12 h claro:escuro. Os peixes foram alimentados diariamente com ração comercial (Tetramin®).

Os testes foram realizados em béqueres de vidro com capacidade de 2 L, em triplicata, e os peixes (n = 5) foram expostos às contrações da curcumina microencapsulada: 7,2; 14,4; 28,8; 57,6 e 100 mg/L. Os peixes foram mantidos por 96 h em condição estática e a cada 24 h (24, 48, 72 e 96 h) a mortalidade foi monitorada.

7.3.2.2 Ensaio de citotóxico, genotóxico e mutagênico no modelo vegetal *Allium cepa*

O teste com *Allium cepa* utiliza as raízes da cebola para avaliar efeitos citotóxicos e genotóxicos. As pontas das raízes são regiões de intensa divisão celular, permitindo observar alterações no índice mitótico, aberrações cromossômicas e formação de micronúcleos. É um método para avaliar poluentes ambientais, águas residuais, pesticidas e metais pesados. Por não envolver vertebrados, também é considerado um bioensaio alternativo (Bhuia et al., 2023).

Para os ensaios de citotóxico, genotóxico e mutagênico, foram usadas sementes de *Allium cepa* (Isla Sementes Ltda), variedade de baía periforme, livre de pesticidas. As análises foram realizadas de acordo com o protocolo estabelecido pelo Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA) do Instituto de Biociências da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP - Rio Claro) (Marin-Morales, 2008).

Trinta sementes de *A. cepa* foram colocadas em placas de Petri alinhadas com papel de filtro e germinadas a 23 ± 2 ° C, sob um fotoperíodo de 12h/12h e umidade relativa de $60 \pm 10\%$, por seis dias. O experimento foi realizado em triplicata, totalizando 90 sementes, que foram irrigadas com soluções de curcumina microencapsuladas em concentrações de 1, 10, e 100 mg/L. A água destilada foi usada como controle negativo (CN), enquanto o controle positivo consistia em trifluralina a uma concentração de 1,5 mg/L (CP) (Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007). Além disso, foram utilizadas 100 mg/L de soluções de excipientes de curcumina microencapsuladas (amido, D-manitol e pectina) e curcumina livre.

7.3.2.2.1 Análises macroscópicas

O número de sementes que germinaram e não germinaram e o comprimento das raízes germinadas foram avaliados com paquímetro digital (Digimess 100.178/200mm), permitindo determinar o índice de crescimento (IC) (**Equação 1**).

$$IC = \frac{\text{Soma do tamanho da raízes}}{\text{Raízes totais}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

A toxicidade dos compostos foi determinada a partir dos resultados do índice de germinação das sementes (IG) (**Equação 2**).

$$IG = \frac{\text{Número total de sementes germinadas}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

7.3.2.2.2 Análises microscópicas

As raízes de cada tratamento foram colocadas em recipientes contendo 20 mL de fixador de Carnoy (etanol absoluto: ácido acético glacial, 3:1, v/v). Após 8 h, o fixador foi substituído por uma nova solução de Carnoy, e os tubos foram armazenados a 4 °C até o preparo das lâminas.

Para a preparação das lâminas, as raízes foram posicionadas individualmente em lâminas de vidro, e o meristema apical foi isolado com o auxílio de um bisturi, descartando-se o restante da raiz. O meristema foi corado com carmim acético a 2% e analisado em microscópio óptico (Nikon H600L) com aumento de 40x. Foram contadas 1.000 células por lâmina, totalizando 5.000 células por ensaio. A análise das imagens foi realizada utilizando o software ImageJ.

A citotoxicidade foi calculada com base no índice mitótico (IM), células meristemáticas em fase de divisão celular normal, sem alterações (**Equação 3**).

$$IM = \frac{\text{Total de células em divisão celular}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

A genotoxicidade foi determinada pelo índice de alteração cromossômica (IAC) (**Equação 4**), através de modificações no ciclo celular: perda, adesão, c-metáfase, ponte, multipolaridade, poliploidia.

$$IAC = \frac{\text{Número total de células alteradas}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

A mutagenicidade (IMt) foi calculada usando células em divisão contendo micronúcleos (**Equação 5**).

$$IMt = \frac{\text{Número total de células com micronúcleos}}{\text{Total de células observadas}} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

7.3.2.3 Ensaio de toxicidade em *Galleria mellonella*

As larvas de *Galleria mellonella* são um modelo invertebrado emergente em ecotoxicologia e microbiologia. Elas possuem um sistema imunológico inato bem caracterizado e respostas comparáveis às de mamíferos em termos de inflamação e estresse oxidativo. São usadas para

avaliar toxicidade, virulência de microrganismos e eficácia de novos compostos (Piatek; Sheehan; Kavanagh, 2021).

A toxicidade usando *Galleria mellonella* foi determinada, utilizando 10 larvas por grupo com o peso corporal entre 215 e 300 mg e coloração clara e ausência de manchas ou pigmentações escuras na cutícula, as quais poderiam indicar a presença de processos infecciosos capazes de interferir nos resultados experimentais. Os grupos avaliados foram: controle negativo, composto por larvas que não foram submetidas a nenhuma intervenção, com o objetivo de monitorar a qualidade da criação; controle de manipulação, cujas larvas receberam apenas solução salina tamponada (PBS), com a finalidade de avaliar possíveis efeitos decorrentes exclusivamente da manipulação experimental; grupo com amido, D-manitol e pectina, para excluir qualquer toxicidade que venha dos excipientes da pastilha; grupo curcumina livre e concentrações da pastilha de curcumina (500, 1000 e 2000 mg/L). Todas as análises foram realizadas em duplicata seguindo o protocolo com adaptações (Figueiredo-Godoi et al., 2022).

A inoculação das larvas foi realizada por meio de seringas Hamilton (Hamilton, EUA), utilizando-se um volume de 10 µL da solução, a qual foi realizada nas últimas *prolegs* de cada larva. A cada cinco aplicações, ou sempre que houvesse a troca do grupo experimental, houve a higienização da agulha e da parte interna da seringa, a fim de evitar contaminações cruzadas e garantir a precisão da aplicação. O procedimento de limpeza das seringas seguiu uma sequência padronizada, utilizando-se 15 mL de cada uma das seguintes soluções, nesta ordem: hipoclorito de sódio a 0,2%, álcool absoluto a 95% diluído em água destilada, água destilada estéril e, por fim, solução salina tamponada (PBS) estéril.

7.3.2.3.1 Curva de sobrevivência

Para realização da curva de sobrevivência, foi observada a mortalidade larval por 7 dias e o número de larvas mortas foi registrado. Foram consideradas mortas larvas que não apresentaram nenhum movimento ao toque. Todas as larvas mortas foram removidas dos grupos assim que identificadas (Figueiredo-Godoi et al., 2019).

7.3.2.3.2 Índice de saúde larval

As larvas foram monitoradas com base em um sistema de pontuação patológica previamente descrito, com o objetivo de complementar os dados obtidos a partir da curva de sobrevivência (Loh et al., 2013). O índice apresenta os seguintes parâmetros: atividade locomotora, extensão da produção de seda (formação de casulo), grau de melanização e sobrevivência.

7.3.3 Análises estatísticas

Os valores das concentrações letais ($CL_{50;90}$) foram obtidos por regressão não linear, utilizando dose-resposta, calculada através do software Origin 2020. *Allium cepa* - as análises estatísticas foram obtidas pelo teste t de *Student*, com nível de significância de $p < 0,05$, utilizando o Origin 2020. Para comparações entre grupos (*A. Cepa* e *G. mellonella*), foi usada ANOVA unidirecional, com teste post-hoc de Tukey. Para a curva de sobrevivência das larvas de *G. mellonella* foi utilizado o método Kaplan-Meier, sendo o nível de significância calculado através do teste Log-rank (Mantel-Cox).

7.4 Resultados e Discussões

7.4.1 Análises de campo simulado IFD

A **Tabela 6** mostra os valores de concentração letal ($CL_{50;90}$), 24 h após o início dos ensaios em campo simulado. Os resultados obtidos de CL_{50} foram de 2,30 mg/L e CL_{90} de 8,7 mg/L, respectivamente.

Tabela 6. Atividade fotolarvicida de pastilha de curcumina em larvas de *Ae. aegypti* após 24 h em campo simulado.

	CL_{50-24h} (mg/L) (LIC-LSC)	CL_{90-24h} (mg/L) (LIC-LSC)
Campo simulado	2,3 (1,974-3,856)	8,7 (7,451-10,011)

CL, concentração letal; LIC, limite inferior de confiança de 95%; LSC, limite superior de confiança de 95%.

Os valores de CLs encontrados com a formulação de pastilha de curcumina são menores, do que os encontrados com extratos de plantas em larvas de *Ae. aegypti*, por Coelho e colaboradores, que obteve CL_{50} de 8,87 mg/L com o extrato etanólico da *P. americana* (Coelho et al., 2009). O mesmo ocorreu com Costa e seus colaboradores, que realizaram a avaliação larvicida

com extrato de *Syzigium aromaticum*, *Lippia sidoides* e *Hyptis martiusii*, e encontraram valores de CL_{50} para as larvas de 18,5, 19,5 e 21,4 mg/L (Costa et al., 2005) com efeitos tóxicos. E mais recentemente, (Martins et al., 2020) apresentaram a CL_{50} de óleo essencial para *Pimenta dioica* Lindl. de 26,91 mg/L em larvas de *Ae. aegypti*.

Em relação a FSs, Souza e seus colaboradores, (De Souza L M et al., 2017) utilizaram o Photogem® (PG), um derivado da hematoporfirina, em larvas de 2º e 3º estágios de *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) sob iluminação artificial com lâmpadas fluorescentes. Os resultados demonstram taxas de mortalidade em meio aquoso nas concentrações de 20, 40 e 80 mg/L.

Outro FS que apresenta fototoxicidade a larvas de *Ae. aegypti*, é a riboflavina. Lima e seus colaboradores (Lima et al., 2022a), avaliaram diferentes concentrações de riboflavina, determinando a internalização no trato digestivo das larvas e os efeitos larvicidas induzidos pela geração de EROs após exposição luminosa. Os melhores resultados de mortalidade encontrados foram nas maiores concentrações testadas, com CL_{50-24h} de 0,05213 mg/mL com doses de luz (LEDs RGB) 45,2 J/cm². Os autores destacam o potencial dessa estratégia como alternativa inovadora e sustentável para o controle vetorial, apesar da rápida fotodegradação da riboflavina em condições de luz solar.

Nossos resultados também apresentaram valores muito inferiores aos estudos de Mezzacappo e colaboradores, cujo valor de CL_{50-24h} para larvas de terceiro *instar* foi de 60 mg/L (Mezzacappo et al., 2021). Vale ressaltar também que as microcápsulas foram mais eficientes contra *Ae. aegypti* do que outros compostos derivados de plantas e óleos essenciais, como extrato do caule de *Machaerium acutifolium* (CL_{50} : 205 mg/mL) (Melo-Santos et al., 2010), fração n-hexano do extrato bruto do caule (S-HEX) de *Ocotea nutans* (CL_{50} : 14,14 mg/mL) (Cesar et al., 2021) e extrato metanólico bruto de *Calpurnia aurea* (CL_{50} de 84,85 mg/mL) (Eukubay et al., 2020).

7.4.2 Atividade larvicida e investigação da persistência em aplicação de campo simulado

A avaliação dos efeitos residuais da formulação de curcumina a persistência da ação fotolarvicida foi ao longo dos dias, com a CL_{90} de 16 mg/L (**Figura 40**). Nos resultados de eficácia, observou-se que permaneceu por 20 dias com 100% de mortalidade, do dia 21 ao 24 se manteve

80% e até o 35º dia os valores de mortalidade foram em torno de 60% e perdeu por completo sua eficácia depois de 45 dias.

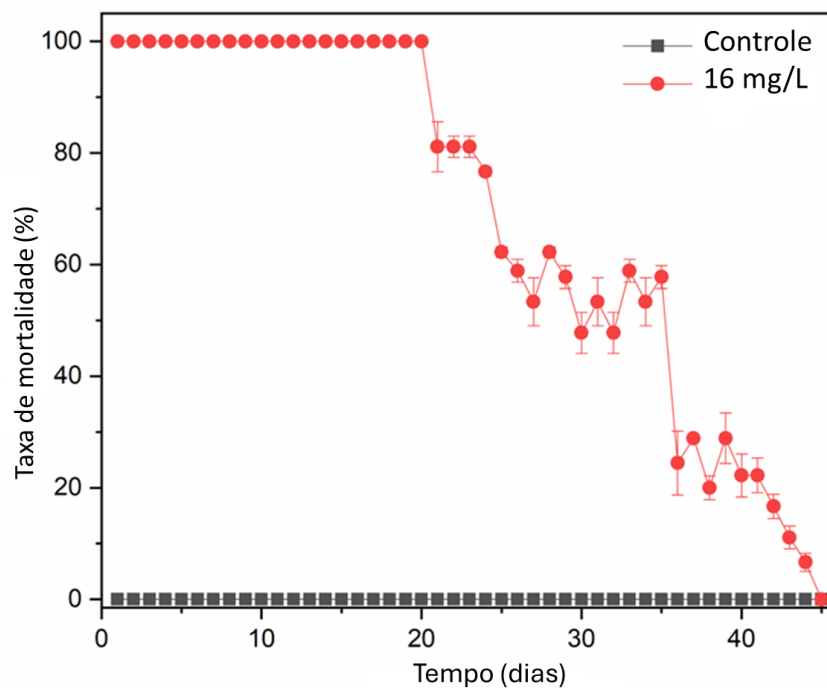


Figura 40. Atividade residual das pastilhas de curcumina microencapsulada em caixas d'água de 100 L expostas à luz solar.

Ao compararmos com a literatura a respeito da persistência de compostos à base de plantas, vemos que compostos derivados da casca de castanha de caju natural (*Occidentale anacardium*). Esses compostos apresentaram um tempo médio de atividade residual de 3,5 dias em 100 mg/L contra larvas de *Ae. aegypti* (De Carvalho et al., 2019).

Já Duchemin e seus colaboradores utilizaram formulações de madeira *Sextonia rubra* no controle de cepas *Ae. aegypti* e em relação a campo simulado, a mortalidade larval em 100% foi de 2–4 dias na estação seca ou chuvosa a uma dose teste de 102 µg/ml, com atividade residual mantida durante as 5 semanas de teste (Jean-Bernard Duchemin et al., 2024).

Em comparação a outros fotolarvicidas, o efeito residual da formulação de curcumina microencapsulada de 45 dias é considerado relativamente bom, uma vez que as essas moléculas em exposição direta a luz não possuem ação residual, perdendo completamente a atividade em 48 h e 72 h como a porfirina (Fabris et al., 2012).

7.4.3 Toxicidade aguda em peixes (*Danio rerio*)

Estudos anteriores não relataram toxicidade aguda da curcumina livre para *Danio rerio* (macho e fêmea) em concentrações de até 100 mg/L (OECD, 1992). Da mesma forma, nos ensaios realizados com as curcumina microencapsuladas, não apresentaram mortalidade, nem alterações morfológicas em peixes expostos por 96 h, corroborando com resultados de outros estudos que utilizaram a curcumina como ingrediente ativo (Garbuio et al., 2022; Venturini et al., 2020).

7.4.4 Toxicidade *Allium cepa*

Os resultados da toxicidade para índice de germinação e de crescimento com o modelo vegetal *A. cepa* são mostrados na **Figura 41**.

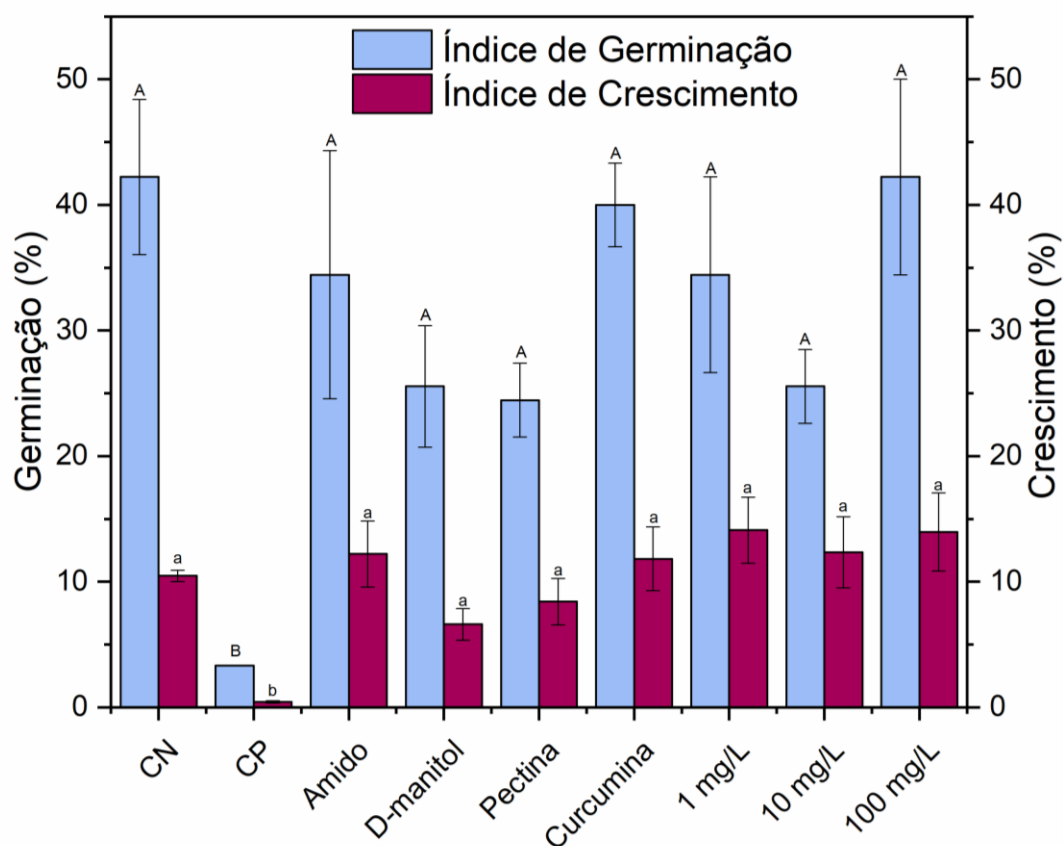


Figura 41. Índice de germinação e índice de crescimento do modelo *Allium cepa*. CN) Controle negativo, CP) Controle positivo, Formulação das microcápsulas de curcumina nas concentrações de 1, 10 e 100 mg/L. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Apenas os índices de germinação e crescimento das sementes de *A. cepa* do CP demonstrou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Isso se justifica pois, a trifluralina é um herbicida utilizado para indicador de problemas no desenvolvimento das plantas, como um índice baixo de germinação e crescimentos das raízes (Fernandes; Mazzeo; Marin-Morales, 2007). Esse resultado nos indica que os excipientes da pastilha de curcumina microencapsulada: amido, D-manitol e pectina não interferiram na germinação e crescimento das sementes de *A. cepa*. Além disso, a própria curcumina e até a concentração de 100 mg/L das microcápsulas de curcumina não apresentaram citotoxicidade

Para as análises microscópicas foi utilizado o índice mitótico e de alterações celulares para identificar toxicidade no modelo *A. cepa* (Figura 42).

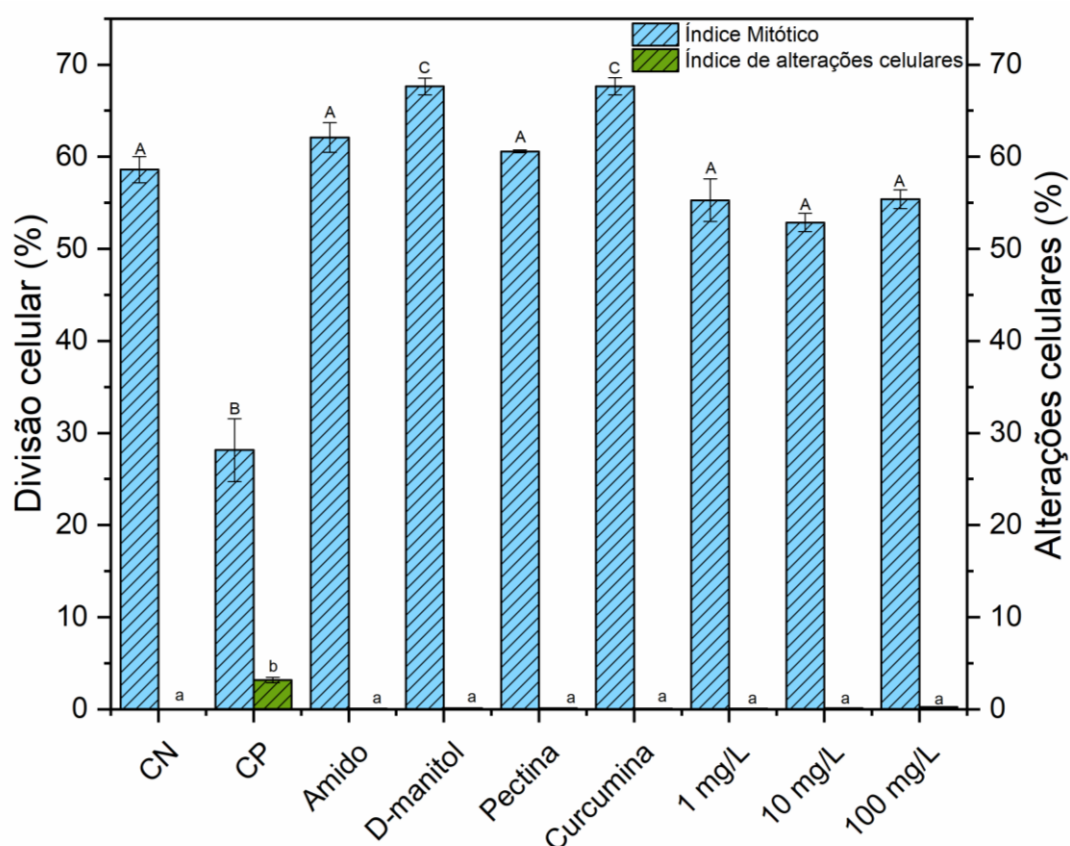


Figura 42. Índice mitótico e índice de alterações celulares do modelo *Allium cepa*. CN) Controle negativo, CP) Controle positivo, Formulação das microcápsulas de curcumina nas concentrações de 1, 10 e 100 mg/L. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os resultados demonstram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o CP e os demais grupos no índice mitótico e de alterações celulares. Sendo o índice de alterações celulares apenas encontrado em maiores números no grupo CP. Os grupos de D-manitol e curcumina, também apresentaram a diferença significativa ($p < 0,05$), com uma porcentagem de divisão celular maior que os demais grupos (índice mitótico) e inclusive o CN, o que indica que eles não inibiram a divisão celular.

Esses resultados corroboram com outros estudos que avaliaram a toxicidade da curcumina como Acar e seus colaboradores que avaliaram os efeitos tóxicos do herbicida pendimetalina, na concentração de 12 mg/L sobre *A. cepa*. Nesse estudo o herbicida apresentou efeitos citotóxicos e genotóxicos significativos como, redução no crescimento das raízes, baixo índice mitótico, aumento de aberrações cromossômicas e danos ao DNA. Porém, administrado junto a curcumina houve uma ação protetiva restaurando parâmetros fisiológicos e citogenéticos e não causando efeitos citotóxicos (Acar; Singh; Srivastava, 2022).

Silva de Sá e outros pesquisadores avaliaram as propriedades biológicas e toxicológicas de curcumina nanoencapsulada em dispersões sólidas (CurSD) no modelo *A. cepa*. Os resultados mostraram que a curcumina e a encapsulação não comprometeu a atividade biológica da *A. cepa*, pois não foram observados efeitos genotóxicos ou citotóxicos (Silva de Sá et al., 2019).

Em nenhum dos grupos avaliados foram detectados micronúcleos, o que sugere ausência de efeitos mutagênicos sob as condições experimentais empregadas.

7.4.5 Toxicidade *Galleria mellonella*

Os resultados da avaliação da toxicidade das microcápsulas de curcumina nas larvas de *G. mellonella* nas concentrações de 500, 1000 e 2000 mg/L, e dos excipientes que compõem as microcápsulas, isoladamente mostraram que depois de 7 dias não houve mortalidade de nenhum grupo experimental, como indicado na **Figura 43**.

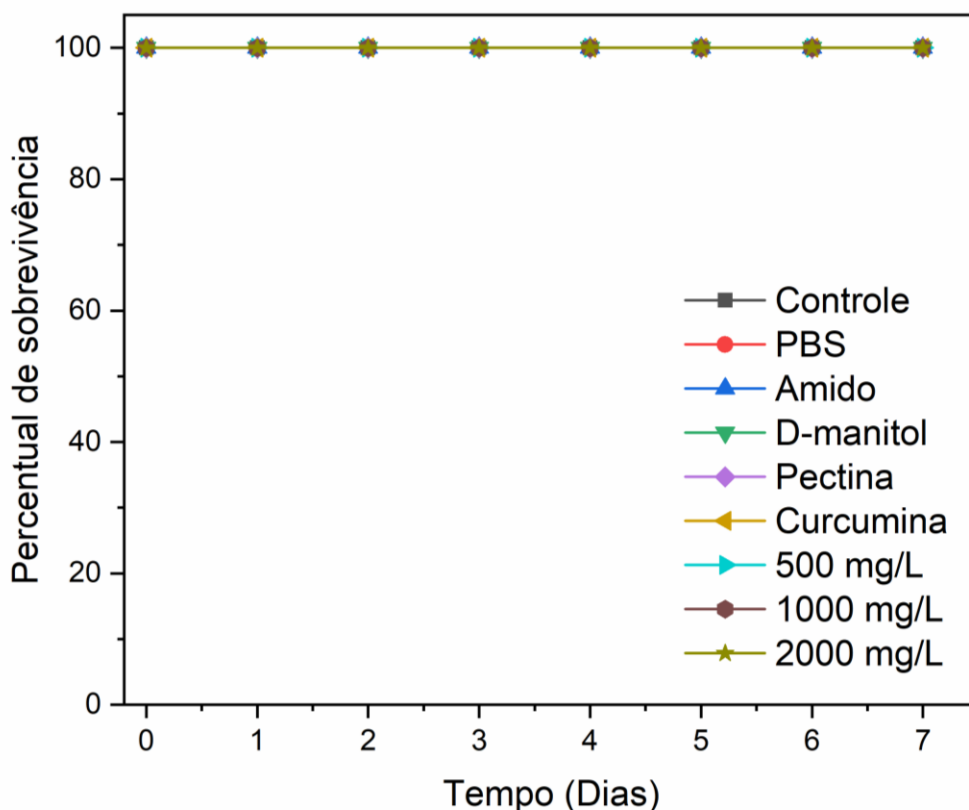


Figura 43. Curva de sobrevivência de larvas *G. mellonella* submetidas a microcápsula de curcumina e aos seus excipientes ao longo de 7 dias- análise de Kaplan-Meier. Concentrações de 500, 1000 e 2000 mg/L da microcápsula de curcumina.

Os resultados indicam que, as larvas de *G. mellonella* toleram a concentração de 2000 mg/L das microcápsulas de curcumina, uma concentração considerada extremamente alta, indicando que não houve toxicidade nesse organismo. Além disso, todos os excipientes (amido, D-manitol, pectina e a curcumina livre) usados também não apresentaram toxicidade para o organismo alvo.

A **Figura 44**, mostra os atributos avaliados no índice da saúde das larvas de *G. mellonella* (atividade locomotora, formação de casulo, melanização e o índice de saúde total) frente as microcápsulas de curcumina e seus excipientes, grupo controle e PBS. A análise desses atributos, complementa os dados encontrados na curva de sobrevivência larval. Na **Figura 44A**, observou-se que a atividade locomotora das larvas se manteve constante em 100% para todos os grupos experimentais ao longo dos 7 dias, indicando ausência de comprometimento dessa atividade mesmo na maior concentração de microcápsulas de curcumina (2000 mg/L).

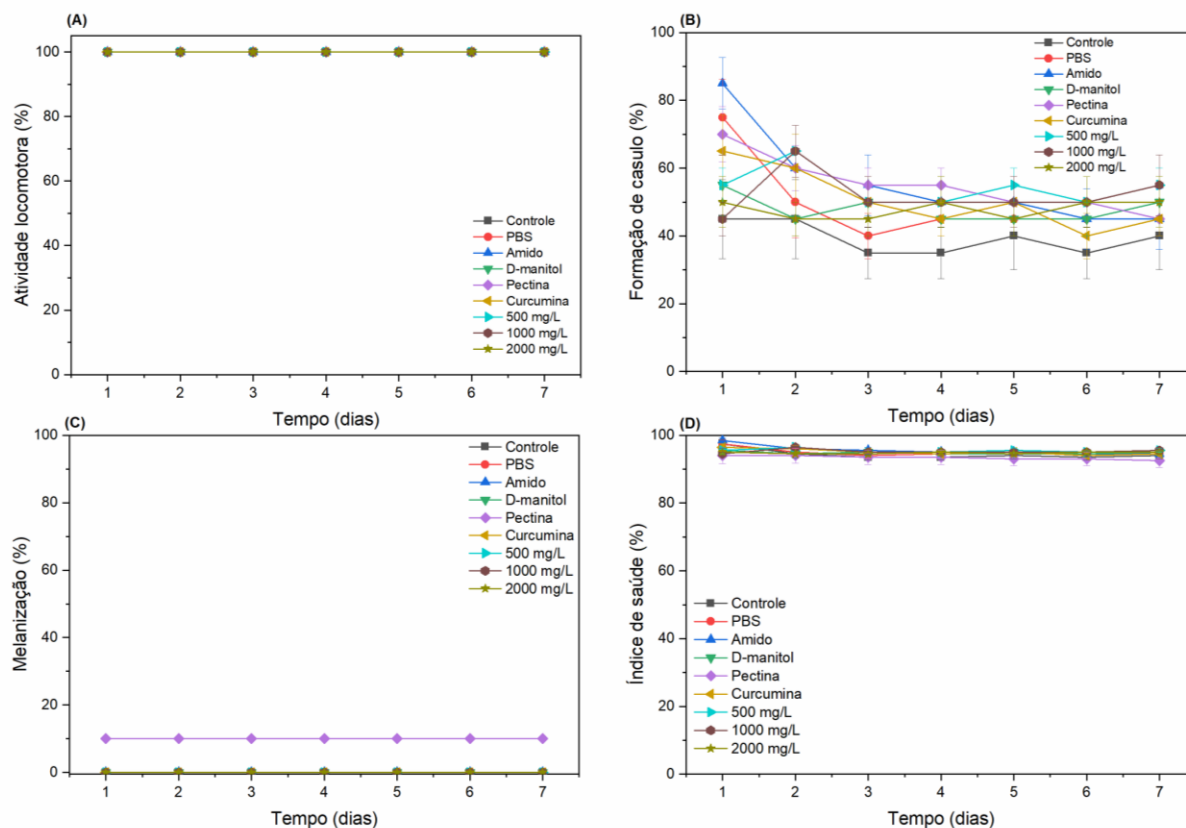


Figura 44. Atividades que desempenha para o índice de saúde das larvas de *G. mellonella*. (A) Atividade locomotora. (B) Formação de casulo. (C) Porcentagem de melanização. (D) Índice total de saúde.

Na **Figura 44B** observou-se redução nos percentuais de formação de casulo ao longo do tempo para todos os grupos, com variações entre os grupos. Os grupos com pectina e amido apresentaram os maiores percentuais inicialmente, enquanto o grupo controle e o PBS mostraram valores mais baixos. As microcápsulas apresentaram desempenho intermediário, com pouca variação entre as concentrações testadas. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos experimentais.

Na **Figura 44C**, a presença de melanização, relacionada a resposta imunológica de estresse ou infecção, foi observada apenas no grupo pectina (10%), porcentagem extremamente baixa, os demais grupos não apresentaram melanização, sugerindo que as demais substâncias testadas não induziram resposta imune larval.

O índice de saúde total (**Figura 44D**) se manteve entre 90-100% entre todos os grupos, indicando que no geral, os grupos experimentais não comprometeram significativamente a vitalidade das larvas ($p < 0,05$).

Os resultados encontrados corroboram com os resultados do estudo realizado por Ignasiak e seus colaboradores (Ignasiak; Maxwell, 2017). Esse estudo testou diversos compostos no modelo de *G. mellonella*. Dentre eles a ciprofloxacina, a glicose, o cloreto de sódio e a tetraciclina, que não se mostraram tóxicos as larvas, mesmo em concentrações de 2000 mg/L. Já outros compostos resultaram toxicidade larval moderada, como a estreptomicina com uso de concentrações acima de 300 mg/L e a cloroquina em 125 mg/L. Além de compostos considerados com toxicidade elevada no modelo, como novobiocina e DMSO com uso de concentrações abaixo de 100 mg/L, amsacrina em 40 mg/L e doxorrubicina em concentrações acima de 5,5 mg/L (Ignasiak; Maxwell, 2017).

7.5 Conclusões parciais

Os resultados obtidos reforçam a viabilidade do uso da IFD com curcumina microencapsulada em ambientes mais próximos das condições reais de campo. A persistência da formulação e sua eficácia larvicida sob diferentes condições ambientais mostraram-se promissoras, com impactos mínimos sobre organismos não-alvo. Visto que, os modelos de toxicidade utilizados indicam segurança ambiental, pois a curcumina microencapsulada não resultou em nenhum indício de toxicidade a nível aquático nos exemplares de *Danio rerio*, a nível vegetal (*A. cepa*) e em grupos da mesma Classe (Insecta) no modelo de *G. mellonella*, favorecendo a adoção desse método em programas de controle vetorial. O avanço para testes em campo aberto (Etapa 3) e ajustes na formulação são passos naturais para consolidar a IFD como alternativa eficaz e sustentável aos métodos convencionais de controle do *Ae. aegypti* para superar os desafios atuais e proteger a saúde pública global.

8 CAPÍTULO – Conclusões Gerais

8.1 Conclusões Finais

Os resultados obtidos nesta tese contribuem para ampliar o conhecimento sobre os efeitos da temperatura e da aplicação de formulações de curcumina microencapsulada no desenvolvimento e controle do *Ae. aegypti*. Por meio de experimentos laboratoriais e de campo simulado, foi possível avaliar aspectos biológicos do vetor, bem como caracterizar detalhadamente a formulação desenvolvida e testar sua eficácia larvicida, perfil de liberação, fotoestabilidade e segurança ambiental.

A porcentagem de viabilidade de ovos teve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes temperaturas utilizadas (aproximadamente 30% (20 °C); 45% (25 °C) 78% (30 °C) e 65% (35 °C), sendo a 30 °C, a temperatura que apresentou o melhor resultado. No desenvolvimento larval, as larvas sobreviventes a IFD apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação as larvas controle. Essa diferença está demonstrada a seguir pelo tempo total de desenvolvimento em dias (controle/IFD): 20 °C ($21,3 \pm 1,3/24 \pm 1,15$), 25 °C ($10 \pm 2/14,3 \pm 1,45$), 30 °C ($9 \pm 1,15/11,33 \pm 0,85$) e 35 °C ($10 \pm 1,15/12,3 \pm 0,88$). Além disso, o tempo de desenvolvimento larval apresentou diferença entre as temperaturas testadas. Sendo apresentadas a seguir em ordem crescente de tempo: 30, 35, 25 e 20 °C. As CL_{50-24h} encontradas nesse trabalho: 0,044 (20 °C), 0,027 (25 °C), 0,019 (30 °C) e 0,013 (35 °C) mg/L. 30 °C foi a melhor temperatura para o tempo de desenvolvimento das larvas.

Em relação a proporção sexual dos mosquitos, foi possível identificar que quanto maior a temperatura, maior foi a porcentagem de fêmeas encontradas no grupo controle. A proporção de fêmeas ficou 22% (20 °C), 34% (25 °C), 47% (30 °C) e 68% (35 °C). Em contrapartida, ensaios de IFD, houve uma inversão, onde nas maiores temperaturas, as porcentagens de mosquitos machos se mostraram maiores, aumentando gradativamente em 38, 41, 51 e 78% respectivamente.

Segundo os resultados de longevidade dos adultos: fêmeas controle sobreviveram entre 26 e 70 dias, fêmeas IFD sobreviveram de 18 a 54 dias. Já os machos controle sobreviveram entre 20 e 60 dias e os machos IFD sobreviveram entre 14 e 50 dias.

Em relação a massa corporal, as fêmeas apresentam um peso maior em relação aos machos nos dois grupos (controle e IFD). Já no mesmo gênero, as fêmeas apresentaram diferenças significativas entre os grupos controle e IFD. Em contrapartida, os machos não apresentaram.

A microencapsulação da curcumina com D-manitol, amido e pectina resultou em uma formulação com melhor solubilidade, estabilidade e perfil de liberação controlada. A caracterização físico-química confirmou a integridade estrutural da curcumina e seu potencial para aplicações.

Segundo a caracterização óptica: a absorção das formulações de curcumina microencapsulada apresentaram pico de absorção em 440 nm; a distribuição do das microcápsulas resultou em tamanho médio de $11,1 \pm 3,1 \mu\text{m}$; os espectros de FTIR não mostraram deslocamentos significativos nas posições das bandas características da curcumina e seus excipientes mas houve uma variação na intensidade relativa dos picos, diretamente relacionada à proporção de excipientes, especialmente amido e pectina, regiões de 3555 cm^{-1} (alongamento OH), 1630 cm^{-1} (alongamento assimétrico C=O dos carboxilatos) e 1050 cm^{-1} (CO e COC) e os espectros de fluorescência das microcápsulas de curcumina mostraram que os centros apresentam baixa intensidade de fluorescência, indicando uma maior contribuição de curcumina na camada superficial da cápsula.

O perfil de liberação das microcápsulas de curcumina é bifásico com uma fase inicial de liberação rápida nos primeiros 15 min e em seguida, uma liberação lenta. Já para as pastilhas de microcápsulas de curcumina ocorreu uma liberação mais rápida no pH 11, seguida no pH 7 e mais lenta foi no pH 3.

A análise de fotoestabilidade da formulação apresentou um processo de fotodegradação da curcumina de aproximadamente 47% após 30 dias.

Os resultados dos ensaios de eficácia da formulação de curcumina microencapsulada apresentados pela CL₅₀ e CL₉₀ laboratoriais foram 0,27 mg/L e 1,6 mg/L respectivamente e para os ensaios de campo simulado as concentrações encontradas foram para 50%, 2,3 mg/L e para 90% 8,7 mg/L. Para a persistência laboratorial, os resultados foram de 100% de mortalidade larval até 10 dias de estudo e seu efeito residual termina no dia 27.

A avaliação de reaplicação da curcumina: a cada 3 dias 100% da mortalidade larvas até o dia 15 e com 30 dias não houve mais mortalidade mesmo adicionando a curcumina. A cada 15 dias houve mortalidade de 100% das larvas até o dia 15 e a cada aplicação da curcumina, foi possível observar um aumento na mortalidade das larvas no dia seguinte e o efeito residual durou 70 dias. Vale ressaltar que a reaplicação a cada 3 dias continuo apresentando mortalidade larval após as 2 diluições, podendo estar relacionado aos efeitos de atenuação da luz, fotodegração e liberação controlada da curcumina em meio aquoso.

A persistência da curcumina em campo simulado, resultado na eficácia em 100% permanecendo até o dia 20 e perdeu por completa sua eficácia depois de 45 dias.

A avaliação ecotoxicológica com *D. rerio*, *A. cepa* e *G. mellonella* indicou ausência de efeitos tóxicos significativos. Para *D. rerio* não foi observado mortalidade em exemplares expostos por 96 h às microcápsulas de curcumina até 100 mg/L, *A. cepa* não apresentaram fitotoxicidade em nenhum dos parâmetros avaliados (citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade) até 100 mg/L das microcápsulas de curcumina. Já a *G. mellonella* não apresentou mortalidade nas larvas e nenhuma alteração no índice e saúde larval até 2000 mg/L. Esses resultados reforçam a segurança ambiental da formulação e sua viabilidade para aplicações reais.

A IFD representa uma abordagem promissora para o controle do *Ae. aegypti*. Suas vantagens em termos de eficácia contra mosquitos resistentes, baixo impacto ambiental e segurança para humanos destacam seu potencial como uma ferramenta valiosa no controle às doenças transmitidas por esse vetor.

8.2 Perspectivas futuras

- Avaliar a viabilidade do método em populações de larvas de *Ae. aegypti* selvagens cedidas pela Vigilância Epidemiológica de São Carlos. Os resultados preliminares são otimistas, indicam que até o momento não há diferença estatisticamente significativa entre os resultados de larvas de laboratório da cepa *Rockefeller* e larvas selvagens.
- Realizar ensaio, em campo etapa 3 de acordo com a OMS para a avaliação de eficácia do larvicida. Será avaliada a aplicação de FS em áreas abertas como criadouros naturais e artificiais.
- A etapa 3 sugere o impacto a longo prazo na população de mosquitos, então também serão realizados ensaios de resistência perante as larvas sobreviventes da IFD. Estudos do monitoramento da resistência das microcápsulas de curcumina estão sendo realizados. Com a geração 3 (F3) de mosquitos *Ae. aegypti* já existem evidências com diferenças significativas entre o grupo controle e os que foram submetidos a IFD. O tempo de desenvolvimento de larvas submetidas a IFD está maior que controle, pois as larvas que sobrevivem a concentrações subletais da IFD precisam gastar energia para se recuperarem dos danos causados pelo estresse oxidativo para depois completarem sua metamorfose.

Outra questão já observada é a emersão dos mosquitos, alguns ao tentarem emergir, ficam presos no exoesqueleto e acabando morrendo, outros parecem mais frágeis, pois após o emergir apresentam menores quantidades de pernas do que o natural. O número de mosquitos machos está superior ao das fêmeas. Esse resultado também pode impactar na redução na transmissão de arboviroses, diminuindo o número de fêmeas, e a proliferação das doenças.

Referências

- ABRAHAMSE, Heidi; HAMBLIN, Michael R. New photosensitizers for photodynamic therapy. **Biochemical Journal**, v. 473, n. 4, p. 347–364, 15 fev. 2016.
- ACAR, Ali; SINGH, Divya; SRIVASTAVA, Akhileshwar Kumar. Assessment of the ameliorative effect of curcumin on pendimethalin-induced genetic and biochemical toxicity. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.
- AFRANE, Yaw A. Effects of microclimatic changes caused by deforestation on the survivorship and reproductive fitness of *Anopheles gambiae* in western Kenya highlands. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 5, n. 74, p. 772–778, 2006.
- AFRANE, Yaw A.; GITHEKO, Andrew K.; YAN, Guiyun. The ecology of *Anopheles* mosquitoes under climate change: Case studies from the effects of deforestation in East African highlands. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1249, n. 1, p. 204–210, 2012.
- AGARWAL, Meenu; VERMA, Ayushi. Modern Technologies for Pest Control: A Review. *In: Heavy Metals - Their Environmental Impacts and Mitigation [Working Title]*. [S.l.]: IntechOpen, 2020.
- AHMED, Sayeda S. *et al.* Control of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) by the new trend of photosensitizer and nanocomposites and their effects on productivity and storability of tomato. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 44, n. 1, p. 273–296, 2024.
- AKTAR, Wasim; SENGUPTA, Dwaipayan; CHOWDHURY, Ashim. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1–12, mar. 2009a.
- AKTAR, Wasim; SENGUPTA, Dwaipayan; CHOWDHURY, Ashim. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 2, n. 1, p. 1–12, 1 mar. 2009b.
- ALI, Zulfiqar *et al.* Determination of curcuminoid content in turmeric using fluorescence spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 213, p. 192–198, abr. 2019.
- ALTIZER, Sonia *et al.* Climate Change and Infectious Diseases: From Evidence to a Predictive Framework. **Science**, v. 341, n. 6145, p. 514–519, 2 ago. 2013.
- AMBROSINI, Veronica *et al.* Photodynamic inactivation of *Botrytis cinerea* by an anionic porphyrin: an alternative pest management of grapevine. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 17438, 15 dez. 2020.
- AMOR, T. Ben; BORTOLOTTI, L.; JORI, G. Symposium-in-Print Porphyrins and Related Compounds as Photoactivatable Insecticides. 3. Laboratory and Field Studies. **Photochemistry and Photobiology**, v. 71, n. 2, p. 124, 2000.
- ANA N. CASTANO, TATIANA N. DEMIDOVA, Michael R. Hamblin. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis Photodyn Ther.**, v. 4, n. 1, p. 279–293, 2004.
- ANDRIAMIFIDY, Rija Falimanalina *et al.* **Do we know how mosquito disease vectors will respond to climate change? Emerging Topics in Life Sciences** Portland Press Ltd, , 1 maio 2019.
- ANGELINI, Guido; PASC, Andreea; GASBARRI, Carla. Curcumin in silver nanoparticles aqueous solution: Kinetics of keto-enol tautomerism and effects on AgNPs. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 603, p. 125235, out. 2020.
- ANNELIES WILDER-SMITH, Tanu Chawla &. Eng Eong Ooi. **Dengue: An Expanding Neglected Tropical Disease**. [S.l.: S.n.].

ANOOPKUMAR, A. N.; ANEESH, Embalil Mathachan. A critical assessment of mosquito control and the influence of climate change on mosquito-borne disease epidemics. **Environment, Development and Sustainability**, v. 24, n. 6, p. 8900–8929, 1 jun. 2022.

ANTONIAZZI, Cristiane; CASTRO, Eryza Guimarães; ANAISSI, Fauze Jacó. Zirconium Oxide and Iron Zirconate Obtained from Citrus Pectin and Nitrates Applied in the Photo-fenton-like Process. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 10, n. 5, 30 jun. 2018.

ATTIA, Radwa G.; RIZK, Salwa A.; RADWAN, Ahmed. Using Rose Bengal-Decorated Silica Nanoparticles as Photosensitizers for Control of Two Stored Product Insects and a Study of Their Elemental Composition. **Entomological News**, v. 131, n. 4, p. 193–213, 6 set. 2024.

AWAD, H. H.; EL-TAYEB, T. A.; ABD EL-AZIZ, NM. A semi-field study on the effect of novel hematoporphyrin formula on the control of *Culex pipiens* larvae. **Journal of Agriculture & Social Sciences**, v. 4, n. May 2014, p. 85–88, 2008.

BAPTISTA, Maurício S. *et al.* Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. **Photochemistry and Photobiology**, v. 93, n. 4, p. 912–919, 27 jul. 2017.

BARRY W. ALTO,* MICHAEL H. REISKIND, and L. Philip Lounibos. Size Alters Susceptibility of Vectors to Dengue Virus Infection and Dissemination. **Am J Trop Med Hyg**, p. 688–695, 2008.

BELINATO, Thiago Affonso *et al.* Effect of the chitin synthesis inhibitor triflumuron on the development, viability and reproduction of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 43–47, fev. 2009.

BELLINI, Romeo *et al.* Sugar administration to newly emerged *Aedes albopictus* males increases their survival probability and mating performance. **Acta Tropica**, v. 132, p. S116–S123, abr. 2014.

BELLINI, Romeo; ZELLER, Herve; VAN BORTEL, Wim. A review of the vector management methods to prevent and control outbreaks of West Nile virus infection and the challenge for Europe. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 323, 2014.

BEN AMOR, T. *et al.* Porphyrins and Related Compounds as Photoactivatable Insecticides I. Phototoxic Activity of Hematoporphyrin Toward *Ceratitis capitata* and *Bactrocera oleae*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 67, n. 2, p. 206–211, 1998.

BEN AMOR, Thameur; JORI, Giulio. Sunlight-activated insecticides: historical background and mechanisms of phototoxic activity. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 30, n. 10, p. 915–925, out. 2000.

BERNI, Jimena; RABOSSI, Alejandro; QUESADA-ALLUÉ, Luis A. Phloxine B Effect on Immature Stages of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) (Wiedemann). **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 3, p. 662–668, 1 jun. 2003.

BESERRA, Eduardo B. *et al.* Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 6, p. 853–860, dez. 2006.

BHUIA, Md. Shimul *et al.* Toxicity Analysis of Some Frequently Used Food Processing Chemicals Using *Allium cepa* Biomonitoring System. **Biology**, v. 12, n. 5, p. 637, 22 abr. 2023.

BM HASSPIELER, JT ARNASON, AE Downe. Toxicity, localization and elimination of the phototoxin, alpha-terthienyl, in mosquito larvae. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 4, p. 479–484, 1988.

BOS, Robert. New approaches to disease vector control in the context of sustainable development. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 8, n. 3, p. 240–248, set. 1992.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. Aedes aegypti: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279–293, 2007.

BRAGA, IMA APARECIDA; VALLE, Denise. Aedes aegypti: vigilância, monitoramento da resistência e alternativas de controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 4, p. 295–302, 2007.

BRIEGEL, Hans. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of Aedes aegypti. **Journal of Insect Physiology**, v. 36, n. 3, p. 165–172, jan. 1990.

BRUNI, G. *et al.* Physico-chemical characterization of anhydrous D-mannitol. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, p. 871–876, 12 mar. 2009.

CALADO, Daniéla Cristina; NAVARRO DA SILVA, Mário Antônio. Evaluation of the temperature influence on the development of Aedes albopictus. **Revista de Saude Publica**, v. 36, n. 2, p. 173–179, 2002.

CANO-HIGUITA, D. M.; MALACRIDA, C. R.; TELIS, V. R. N. Stability of Curcumin Microencapsulated by Spray and Freeze Drying in Binary and Ternary Matrices of Maltodextrin, Gum Arabic and Modified Starch. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 2049–2060, dez. 2015.

CARMONA-VARGAS, Christian C. *et al.* Combining batch and continuous flow setups in the end-to-end synthesis of naturally occurring curcuminoids. **Reaction Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 3, p. 366–374, 2017.

CARRINGTON, Lauren B. *et al.* Large Diurnal Temperature Fluctuations Negatively Influence Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) Life-History Traits. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 1, p. 43–51, 1 jan. 2013.

CASTANO A P, DMIDOVA T N, HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part two—cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2014.

CESAR, Fernando *et al.* Short Communication Preliminary evaluation of the larvicidal activity of extracts and fractions from Ocotea nutans (Nees) Mez against Aedes aegypti. n. October 2020, p. 2–5, 2021.

CHAN, Emily *et al.* Narrative Review on Health-EDRM Primary Prevention Measures for Vector-Borne Diseases. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 16, p. 5981, 18 ago. 2020.

CHIGNELL, Colin F. *et al.* SPECTRAL AND PHOTOCHEMICAL PROPERTIES OF CURCUMIN. **Photochemistry and Photobiology**, v. 59, n. 3, p. 295–302, mar. 1994a.

CHIGNELL, Colin F. *et al.* SPECTRAL AND PHOTOCHEMICAL PROPERTIES OF CURCUMIN. **Photochemistry and Photobiology**, v. 59, n. 3, p. 295–302, 2 mar. 1994b.

CHOW, Shing Fung *et al.* Kinetic Entrapment of a Hidden Curcumin Cocrystal with Phloroglucinol. **Crystal Growth & Design**, v. 14, n. 10, p. 5079–5089, 1 out. 2014.

CHRISTOPHERS, S. R. **The yellow fever mosquito. Its life history, bionomics and structure**. Press: London: [S.n.].

CLARKE, J. *et al.* A global dataset of publicly available dengue case count data. **Scientific Data**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2024.

CLEMENTS, A. N. **The Physiology of Mosquitoes**. Pergamon Press: London: [S.n.].

COELHO, Juliene S. *et al.* Effect of Moringa oleifera lectin on development and mortality of Aedes aegypti larvae. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 934–938, nov. 2009.

CONSOLI, Rotraut A. G. B.; OLIVEIRA, Ricardo Lourenço de. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil.** [S.l.: S.n.]. v. 44

COSTA, J. G. M. *et al.* Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, dez. 2005.

DA SILVA, Juliana Junqueira; MENDES, Julio; LOMÔNACO, Cecília. Effects of sublethal concentrations of diflubenuron and methoprene on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) fitness. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 29, n. 01, p. 17, 24 mar. 2009.

DĄBROWSKI, Janusz M. Reactive Oxygen Species in Photodynamic Therapy: Mechanisms of Their Generation and Potentiation. *In: [S.l.: S.n.].* p. 343–394.

DAVID, Mariana Rocha *et al.* Insecticide Resistance and Fitness: The Case of Four *Aedes aegypti* Populations from Different Brazilian Regions. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–12, 9 out. 2018.

DE CARVALHO, George Harrison Ferreira *et al.* Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 6, p. 5514–5523, 2019.

DE OLIVEIRA, Drielly *et al.* CURCUMINA COMO INDICADOR NATURAL DE PH: UMA ABORDAGEM TEÓRICA-EXPERIMENTAL PARA O ENSINO DE QUÍMICA. **Química Nova**, 2020.

DE SOUZA L M *et al.* Efficacy of Photogem® (Hematoporphyrin Derivative) as a Photoactivatable Larvicide against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae. **Journal of Life Sciences**, v. 11, n. 2, 28 fev. 2017.

DE SOUZA L M, INADA N M, VENTURINI F P, CARMONA-VARGAS C C, PRATAVIEIRA S, DE OLIVEIRA K T, Kurachi C. and Bagnato. Photolarvicidal effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 151–158, mar. 2019.

DE SOUZA L M, VENTURINI F P, INADA N M, IERMAK I, GARBUIO M, MEZZACAPPO N F, de Oliveira K. T. and Bagnato V. S. Curcumin in formulations against *Aedes aegypti*: Mode of action, photolarvicidal and ovicidal activity. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101840, set. 2020.

DE SOUZA, Larissa Marila *et al.* Photolarvicidal effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 151–158, 2019a.

DE SOUZA, Larissa Marila *et al.* Photolarvicidal effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 151–158, mar. 2019b.

DE SOUZA, Larissa Marila *et al.* Curcumin in formulations against *Aedes aegypti*: Mode of action, photolarvicidal and ovicidal activity. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, n. April, p. 101840, 2020a.

DE SOUZA, Larissa Marila *et al.* Curcumin in formulations against *Aedes aegypti*: Mode of action, photolarvicidal and ovicidal activity. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, n. April, p. 101840, 2020b.

Dengue worldwide overview.

DETTY, Michael R.; GIBSON, Scott L.; WAGNER, Stephen J. Current Clinical and Preclinical Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 16, p. 3897–3915, 1 jul. 2004.

DIAS, Ítala Keane Rodrigues *et al.* Ações educativas de enfrentamento ao *Aedes Aegypti*: revisão integrativa. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, n. 1, p. 231–242, jan. 2022a.

DIAS, Lucas D. *et al.* Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 45, p. 100384, dez. 2020a.

DIAS, Lucas D. *et al.* Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 45, p. 100384, dez. 2020b.

DIAS, Lucas D. *et al.* Preparation and characterization of curcumin and pomegranate peel extract chitosan/gelatin-based Films and their photoinactivation of bacteria. **Materials Today Communications**, v. 31, p. 103791, jun. 2022b.

DIAS, Lucas D. *et al.* Structural basis of antibacterial photodynamic action of curcumin against *S. aureus*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 43, p. 103654, set. 2023.

DIMMER, Jesica *et al.* Natural anthraquinones as novel photosensitizers for antiparasitic photodynamic inactivation. **Phytomedicine**, v. 61, p. 152894, ago. 2019.

DONDJI, Blaise *et al.* Assessment of Laboratory and Field Assays of Sunlight-Induced Killing of Mosquito Larvae by Photosensitizers. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 4, p. 652–656, 1 jul. 2005.

DOUGHERTY, Thomas J. Photodynamci Therapy. **Photochemistry and Photobiology**, v. 58, n. 6, p. 895–900, dez. 1993.

DU, Chenxing *et al.* Microencapsulation of Pickering nanoemulsions containing walnut oil stabilized using soy protein–curcumin composite nanoparticles: Fabrication and evaluation of a novel plant-based milk substitute. **Food Chemistry**, v. 470, p. 142654, abr. 2025.

DYE, Christopher. After 2015: infectious diseases in a new era of health and development. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1645, p. 20130426, 19 jun. 2014.

EDER, Marcus *et al.* Scoping review on vector-borne diseases in urban areas: transmission dynamics, vectorial capacity and co-infection. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 7, n. 1, p. 90, dez. 2018a.

EDER, Marcus *et al.* Scoping review on vector-borne diseases in urban areas: transmission dynamics, vectorial capacity and co-infection. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 7, n. 1, p. 90, 3 dez. 2018b.

EDILLO, Frances *et al.* Temperature, season, and latitude influence development-related phenotypes of Philippine *Aedes aegypti* (Linnaeus): Implications for dengue control amidst global warming. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 74, 5 dez. 2022.

EL-SHENNAWY, R. M. *et al.* Casting light on the potency of photosensitizing compounds to combat the spiny bollworm, *Earias insulana* (Biosd.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 57, n. 6, p. 458–469, 2 abr. 2024.

EUKUBAY, Araya *et al.* Larvicidal potential of some plant extracts against *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae). n. February 2021, 2020.

FABRIS, Clara *et al.* Efficacy of sunlight-activatable porphyrin formulates on larvae of *Anopheles gambiae* M and S molecular forms and *An. arabiensis*: A potential novel biolarvicide for integrated malaria vector control. **Acta Tropica**, v. 123, n. 3, p. 239–243, set. 2012a.

FABRIS, Clara *et al.* Efficacy of sunlight-activatable porphyrin formulates on larvae of *Anopheles gambiae* M and S molecular forms and *An. arabiensis*: A potential novel biolarvicide for integrated malaria vector control. **Acta Tropica**, v. 123, n. 3, p. 239–243, 1 set. 2012b.

FAIRBROTHER, Timothy E. *et al.* Toxic Effects of Rose Bengal and Erythrosin B on Three Life Stages of the Face Fly, *Musca autumnalis* L. **Environmental Entomology**, v. 10, n. 4, p. 506–510, 1 ago. 1981.

FANG, Lanlan; HU, Wan; PAN, Guixia. **Meteorological factors cannot be ignored in machine learning-based methods for predicting dengue, a systematic review.** **International Journal of Biometeorology** Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, , 1 mar. 2024.

FAO, food and agriculture organization of the united nations. **New standards to curb the global spread of plant pests and diseases.**

FARNESI, Luana Cristina *et al.* Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 124–126, fev. 2009.

FELLNER, Andreas *et al.* Fly into the light: eliminating *Drosophila melanogaster* with chlorophyllin-based Photodynamic Inactivation. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 23, n. 6, p. 1155–1166, 1 jun. 2024.

FELLNER, Andreas *et al.* Ecofriendly control of *Drosophila suzukii* via the photoinsecticide chlorophyllin. **Pest Management Science**, 2025.

FERNANDES, Kenner Morais *et al.* *Aedes aegypti* midgut remodeling during metamorphosis. **Parasitology International**, v. 63, n. 3, p. 506–512, jun. 2014.

FERNANDES, Thaís C. C.; MAZZEO, Dânia Elisa C.; MARIN-MORALES, Maria A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, jul. 2007.

FIGUEIREDO-GODOI, Livia M. A. *et al.* Antimicrobial Photodynamic Therapy Mediated by Fotenticine and Methylene Blue on Planktonic Growth, Biofilms, and Burn Infections of *Acinetobacter baumannii*. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 619, 4 maio 2022.

FIGUEIREDO-GODOI, Livia Mara Alves *et al.* Exploring the *Galleria mellonella* model to study antifungal photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 27, p. 66–73, set. 2019.

FRACAROLLI, Leticia *et al.* Inactivation of plant-pathogenic fungus *Colletotrichum acutatum* with natural plant-produced photosensitizers under solar radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 402–411, set. 2016.

FREEMAN, Benjamin G. *et al.* Climate change causes upslope shifts and mountaintop extirpations in a tropical bird community. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 47, p. 11982–11987, 20 nov. 2018.

FREIRE, Carmen; KOIFMAN, Rosalina Jorge; KOIFMAN, Sergio. Hematological and Hepatic Alterations in Brazilian Population Heavily Exposed to Organochlorine Pesticides. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 78, n. 8, p. 534–548, 18 abr. 2015.

FUJIBE, Fumiaki. Detection of urban warming in recent temperature trends in Japan. **International Journal of Climatology**, v. 29, n. 12, p. 1811–1822, 17 out. 2009.

FURTADO, Roselayne F. *et al.* Atividade larvívica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843–847, out. 2005.

GARBUIO, Matheus *et al.* Formulations of curcumin and d-mannitol as a photolarvicide against *Aedes aegypti* larvae: Sublethal photolarvicidal action, toxicity, residual evaluation, and small-scale field trial. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, p. 102740, 2022.

GARBUIO, Matheus *et al.* Influence of temperature combined with photodynamic inactivation on the development of *Aedes aegypti*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 45, p. 103977, fev. 2024.

GARBUIO, Matheus *et al.* Curcumin Microcapsule Formulations for Prolong Persistence in the Photodynamic Inactivation of *Aedes aegypti* Larvae. **Pharmaceutics**, v. 17, n. 4, 1 abr. 2025.

GNANASAMBANDAM, R. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 327–332, 15 fev. 2000.

GOMES, Isabela Castro Pereira *et al.* Daylight photodynamic inactivation of cattle tick *Rhipicephalus microplus* by porphyrins: An alternative for the ectoparasite control. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 251, p. 112847, fev. 2024.

GUO, Jiayue *et al.* Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. **LWT**, v. 132, p. 109892, out. 2020.

HALES, Simon *et al.* Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. **The Lancet**, v. 360, n. 9336, p. 830–834, set. 2002.

HERATH, J. M. Manel K. *et al.* Efficacy of the insect growth regulator novaluron in the control of dengue vector mosquitoes *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 1 dez. 2024.

HIROTO, Satoru; MIYAKE, Yoshihiro; SHINOKUBO, Hiroshi. Synthesis and Functionalization of Porphyrins through Organometallic Methodologies. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 4, p. 2910–3043, 22 fev. 2017.

HUANG, Elaine *et al.* Co-encapsulation of coenzyme Q10 and vitamin E: A study of microcapsule formation and its relation to structure and functionalities using single droplet drying and micro-fluidic-jet spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 247, p. 45–55, abr. 2019.

HUANG, Liyi; DAI, Tianhong; HAMBLIN, Michael R. Antimicrobial Photodynamic Inactivation and Photodynamic Therapy for Infections. *In: [S.l.: S.n.]*. p. 155–173.

HUANG, Qingchun *et al.* Antioxidative cellular response of lepidopteran ovarian cells to photoactivated alpha-terthienyl. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 137, p. 1–7, abr. 2017.

IGNASIAK, Katarzyna; MAXWELL, Anthony. *Galleria mellonella* (greater wax moth) larvae as a model for antibiotic susceptibility testing and acute toxicity trials. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, 29 ago. 2017.

ISLAM, Md Shahidul *et al.* Mathematical analysis and prediction of future outbreak of dengue on time-varying contact rate using machine learning approach. **Computers in Biology and Medicine**, v. 178, p. 108707, ago. 2024.

JAGANNATHAN, Ramya; ABRAHAM, Priya Mary; PODDAR, Pankaj. Temperature-Dependent Spectroscopic Evidences of Curcumin in Aqueous Medium: A Mechanistic Study of Its Solubility and Stability. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 50, p. 14533–14540, 20 dez. 2012.

JAO, Ying; DING, Shinn-Jyh; CHEN, Chun-Cheng. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of oral infections: A systematic review. **Journal of Dental Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1453–1466, out. 2023.

JEAN-BERNARD DUCHEMIN *et al.* Efficacy and selectivity of *Sextonia rubra* wood extracts and formulation in the control of *Aedes aegypti* strains. **Journal of Pest Science**, p. 1–17, 2024.

JEFFREY GUTIÉRREZ, Eileen H. *et al.* Size as a Proxy for Survival in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Mosquitoes. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 4, p. 1228–1238, 4 jul. 2020.

JIANG, Libin *et al.* Inhibition of the Citrus Canker Pathogen Using a Photosensitizer Assisted by Sunlight Irradiation. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 17 nov. 2020.

JORI, Giulio. Tumour photosensitizers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 36, n. 2, p. 87–93, nov. 1996.

JORI, Julio. Molecular and cellular mechanisms in photomedicine: Porphyrins in microheterogeneous environments. In Primary Photoprocesses in Biology and Medicine. In: **Primary Photo-Processes in Biology and Medicine**. Plenum Pre ed. New York and London: [S.n.].

JORI, Julio. Molecular and cellular mechanisms in photomedicine: Porphyrins in microheterogeneous environments. In Primary Photoprocesses in Biology and Medicine. In: **Primary Photo-Processes in Biology and Medicine**. Plenum Pre ed. New York and London: [S.n.].

JULIANO, Steven A. *et al.* She's a femme fatale: low-density larval development produces good disease vectors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 8, p. 1070–1077, dez. 2014.

KARAMI-MOHAJERI, Somayyeh; ABDOLLAHI, Mohammad. Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 9, p. 1119–1140, 11 set. 2011.

KARUNARATNE, S. H. P. P.; SURENDRAN, S. N. Mosquito control: A review on the past, present and future strategies. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 50, n. 0, p. 277, 10 nov. 2022.

KAUR, Rajpreet *et al.* Keto-Enol Tautomerism of Temperature and pH Sensitive Hydrated Curcumin Nanoparticles: Their Role as Nanoreactors and Compatibility with Blood Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 45, p. 11974–11980, 14 nov. 2018.

KAZAKOVA, Olga; LIPKOVSKA, Natalia; BARVINCHENKO, Valentyna. Keto-enol tautomerism of curcumin in the preparation of nanobiocomposites with fumed silica. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 277, p. 121287, set. 2022.

KHARWADKAR, Sahil; HERATH, Nipun. Clinical manifestations of dengue, Zika and chikungunya in the Pacific Islands: A systematic review and meta-analysis. **Reviews in Medical Virology**, v. 34, n. 2, 10 mar. 2024.

KIELMANN, Marc *et al.* Synthesis of a Family of Highly Substituted Porphyrin Thioethers via Nitro Displacement in 2,3,7,8,12,13,17,18-Octaethyl-5,10,15,20-tetranitroporphyrin. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 82, n. 10, p. 5122–5134, 19 maio 2017.

KIRK, John TO. Estimation of the absorption and the scattering coefficients of natural waters by use of underwater irradiance measurements. **Applied optics**, v. 33, n. 15, p. 3276–3278, 1994.

KIZIL, Ramazan; IRUDAYARAJ, Joseph; SEETHARAMAN, Koushik. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3912–3918, 1 jul. 2002.

LABBÉ, Pierrick *et al.* Evolution of Resistance to Insecticide in Disease Vectors. In: **Genetics and Evolution of Infectious Disease**. [S.l.]: Elsevier, 2011. p. 363–409.

LIANG, Jie *et al.* Study on photoactivatable toxicity of phycobiliprotein from *Microcystis aeruginosa* as potential photoinsecticide. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 4, p. 2387–2396, 19 ago. 2016.

LIMA, A. R. *et al.* Photoinactivation of *Aedes aegypti* larvae using riboflavin as photosensitizer. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 39, p. 103030, set. 2022a.

LIMA, Alessandra *et al.* Evaluation of Eosin-Methylene Blue as a Photosensitizer for Larval Control of *Aedes aegypti* by a Photodynamic Process. **Insects**, v. 9, n. 3, p. 109, 30 ago. 2018a.

- LIMA, Alessandra R. *et al.* Evaluation of Eosin-Methylene Blue as a Photosensitizer for Larval Control of *Aedes aegypti* by a Photodynamic Process. **Insects**, v. 9, n. 3, 30 ago. 2018b.
- LIMA, Alessandra R. *et al.* Evaluation of Eosin-Methylene Blue as a Photosensitizer for Larval Control of *Aedes aegypti* by a Photodynamic Process. **Insects** **2018**, Vol. 9, Page 109, v. 9, n. 3, p. 109, 30 ago. 2018c.
- LIMA, Alessandra R. *et al.* A look at photodynamic inactivation as a tool for pests and vector-borne diseases control. **Laser Physics Letters**, v. 19, n. 2, p. 025601, 1 fev. 2022b.
- LIMA, Alessandra R. *et al.* Environmentally Safe Photodynamic Control of *Aedes aegypti* Using Sunlight-Activated Synthetic Curcumin: Photodegradation, Aquatic Ecotoxicity, and Field Trial. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5699, 4 set. 2022c.
- LIMA, Alessandra R. *et al.* Environmentally Safe Photodynamic Control of *Aedes aegypti* Using Sunlight-Activated Synthetic Curcumin: Photodegradation, Aquatic Ecotoxicity, and Field Trial. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5699, 4 set. 2022d.
- LIN, Jinmei *et al.* Low Cytotoxic D-mannitol Isolated from the Industrial Wastewater of *Agaricus bisporus*. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 4, n. 9, p. 610–614, 2016.
- LINDSEY, Nicole P. *et al.* Yellow fever resurgence: An avoidable crisis? **npj Vaccines**, v. 7, n. 1, p. 137, 2 nov. 2022.
- LIU, Chen *et al.* Natural synergy: Oleanolic acid-curcumin co-assembled nanoparticles combat osteoarthritis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 245, p. 114286, jan. 2025.
- LIU, Xingxun *et al.* Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions. **Starch/Stärke**, v. 65, n. 1–2, p. 48–60, 2013.
- LOH, Jacelyn MS *et al.* *Galleria mellonella* larvae as an infection model for group A streptococcus. **Virulence**, v. 4, n. 5, p. 419–428, 3 jul. 2013.
- LONG, Yuhan *et al.* Photosensitization of riboflavin reduces the susceptibility to gray mold in postharvest kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 212, n. March, p. 112836, 2024.
- LORENZO, Marcelo G.; VIDAL, Diogo M.; ZARBIN, Paulo H. G. Control of Neglected Disease Insect Vectors: Future Prospects for the Use of Tools Based on Behavior Manipulation-Interference. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.
- LOZANO, Rafael *et al.* Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2095–2128, dez. 2012.
- LUCANTONI, Leonardo *et al.* Novel, Meso-Substituted Cationic Porphyrin Molecule for Photo-Mediated Larval Control of the Dengue Vector *Aedes aegypti*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 12, p. e1434, dez. 2011a.
- LUCANTONI, Leonardo *et al.* Novel, Meso-Substituted Cationic Porphyrin Molecule for Photo-Mediated Larval Control of the Dengue Vector *Aedes aegypti*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 12, p. e1434, 20 dez. 2011b.
- LUCAS, Jade *et al.* A new approach for the microencapsulation of curcumin by a spray drying method, in order to value food products. **Powder Technology**, v. 362, p. 428–435, fev. 2020.
- LUKŠIENĖ, Živilė *et al.* Towards environmentally and human friendly insect pest control technologies: Photosensitization of leafminer flies *Liriomyza bryoniae*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 89, n. 1, p. 15–21, nov. 2007.

- LUNA, Jonny E. Duque *et al.* Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides , Brazil. v. 38, n. 6, p. 2003–2004, 2004.
- MACORIS, M. DE L.; MARTINS, A. J.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; LIMA, J. B. P.; VALLE, D. Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *Aedes aegypti* in governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 3, p. 1–18, 2018.
- MAGALHÃES, Arthur Ramalho *et al.* Neglected tropical diseases risk correlates with poverty and early ecosystem destruction. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2023.
- MANGAN, Robert L.; MORENO, Daniel S. PhotoActive Dye Insecticide Formulations: Adjuvants Increase Toxicity to Mexican Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 1, p. 150–156, 1 fev. 2001.
- MARIN-MORALES, Maria. Ultiização de Allium cepa como organismo teste para detecção de genotoxicidade ambiental. In: **Unesp-Rio Claro/SP. [S.l.: S.n.]**. p. 54.
- MARTINS, Diana *et al.* Photoinactivation of *Pseudomonas syringae* pv. actinidiae in kiwifruit plants by cationic porphyrins. **Planta**, v. 248, n. 2, p. 409–421, 11 ago. 2018.
- MARTINS, Thércia Gabrielle Teixeira *et al.* Atividade larvica do óleo essencial de Pimenta dioica Lindl. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e151985518, 28 jun. 2020.
- MEIER, Cole J.; HILLYER, Julián F. Larvicidal activity of the photosensitive insecticides, methylene blue and rose bengal, in *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquitoes. **Pest Management Science**, v. 80, n. 2, p. 296–306, 2024a.
- MEIER, Cole J.; HILLYER, Julián F. Larvicidal activity of the photosensitive insecticides, methylene blue and rose bengal, in *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* mosquitoes. **Pest Management Science**, v. 80, n. 2, p. 296–306, 19 fev. 2024b.
- MELO-SANTOS, M. A. V. *et al.* Resistance to the organophosphate temephos: Mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. **Acta Tropica**, v. 113, n. 2, p. 180–189, 2010.
- MEZZACAPPO, Natasha F. *et al.* Curcumin/d-mannitol as photolarvicide: induced delay in larval development time, changes in sex ratio and reduced longevity of *Aedes aegypti* . [S.l.: S.n.].
- MEZZACAPPO, Natasha Ferreira *et al.* Curcumin/d-mannitol as photolarvicide: induced delay in larval development time, changes in sex ratio and reduced longevity of *Aedes aegypti* . **Pest Management Science**, v. 77, n. 5, p. 2530–2538, 21 maio 2021b.
- MEZZACAPPO, Natasha Ferreira *et al.* Curcumin/d-mannitol as photolarvicide: induced delay in larval development time, changes in sex ratio and reduced longevity of *Aedes aegypti* . **Pest Management Science**, v. 77, n. 5, p. 2530–2538, 21 maio 2021c.
- MIDDEN, W. Robert; DAHL, Thomas A. Biological inactivation by single oxygen: distinguishing O₂(1Δg) and O₂(1Σg⁺). **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1117, n. 2, p. 216–222, set. 1992.
- MOHAMMED, Shaimaa H. *et al.* Acaricide resistance and novel photosensitizing approach as alternative acaricides against the camel tick, *Hyalomma dromedarii*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 87–101, 21 set. 2022.
- MONATH, Thomas P. Yellow fever: an update. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 11–20, ago. 2001.

MONATH, Thomas P.; VASCONCELOS, Pedro F. C. Yellow fever. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 160–173, mar. 2015.

MORDECAI, Erin A. *et al.* Detecting the impact of temperature on transmission of Zika, dengue, and chikungunya using mechanistic models. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 4, p. e0005568, 27 abr. 2017.

MORDECAI, Erin A. *et al.* Climate change could shift disease burden from malaria to arboviruses in Africa. **The Lancet Planetary Health**, v. 4, n. 9, p. e416–e423, set. 2020.

MOURA, Lidia *et al.* Be quick or be dead: high temperatures reduce *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larval development time and pyriproxyfen larvicide efficiency in laboratory conditions. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, n. 2, p. 1667–1672, 7 jun. 2021.

MÜLLER, Rainer H. **Colloidal carriers for controlled drug delivery and targeting: Modification, characterization and in vivo distribution.** [*S.l.: S.n.*].

MUTURI, Ephantus J.; ALTO, Barry W. Larval Environmental Temperature and Insecticide Exposure Alter *Aedes aegypti* Competence for Arboviruses. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 8, p. 1157–1163, ago. 2011.

NAISH, Suchithra *et al.* Climate change and dengue: A critical and systematic review of quantitative modelling approaches. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, 26 mar. 2014.

NARDO, Luca *et al.* Studies on Curcumin and Curcuminoids. XXXIX. Photophysical Properties of Bisdemethoxycurcumin. **Journal of Fluorescence**, v. 21, n. 2, p. 627–635, mar. 2011a.

NARDO, Luca *et al.* Studies on Curcumin and Curcuminoids. XXXIX. Photophysical Properties of Bisdemethoxycurcumin. **Journal of Fluorescence**, v. 21, n. 2, p. 627–635, 16 mar. 2011b.

NATA, Iryanti Fatyasari; CHEN, Kuan-Jung; LEE, Cheng-Kang. Facile microencapsulation of curcumin in acetylated starch microparticles. **Journal of Microencapsulation**, v. 31, n. 4, p. 344–349, 3 jun. 2014.

NAYAR, J. K.; SAUERMAN, D. M. A comparative study of flight performance and fuel utilization as a function of age in females of Florida mosquitoes. **Journal of Insect Physiology**, v. 19, n. 10, p. 1977–1988, out. 1973.

Neglected tropical diseases. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/neglected-tropical-diseases>>.

NERIS, Romulo L. S. *et al.* Co-protoporphyrin IX and Sn-protoporphyrin IX inactivate Zika, Chikungunya and other arboviruses by targeting the viral envelope. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 9805, 28 dez. 2018.

NETO, PETER LÖWENBERG; MÁRIO A. NAVARRO-SILVA. SYSTEMATICS , MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY: Development , Longevity , Gonotrophic Cycle and Oviposition of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae) under Cyclic Temperatures. **Blood**, n. February, p. 29–33, 2004.

NICOLOPOULOU-STAMATI, Polyxeni *et al.* Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Frontiers in Public Health**, v. 4, 18 jul. 2016.

OECD. Fish, Acute Toxicity Test. **Oecd**, n. July, p. 1–9, 1992.

OLADIPO, Habeebullah Jayeola *et al.* Increasing challenges of malaria control in sub-Saharan Africa: Priorities for public health research and policymakers. **Annals of Medicine & Surgery**, v. 81, set. 2022.

OMUMBO, Judith A. *et al.* Raised temperatures over the Kericho tea estates: Revisiting the climate in the East African highlands malaria debate. **Malaria Journal**, v. 10, 2011.

ÖZKARA, Arzu; AKYIL, Dilek; KONUK, Muhsin. Pesticides, Environmental Pollution, and Health. *In: Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species*. [S.l.]: InTech, 2016. p. 1–27.

PARIS, Margot; DAVID, Jean-Philippe; DESPRES, Laurence. Fitness costs of resistance to Bti toxins in the dengue vector *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 6, p. 1184–1194, 3 ago. 2011.

PARMESAN, Camille; YOHE, Gary. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. **Nature**, v. 421, n. 6918, p. 37–42, jan. 2003.

PARVEEN, Shakeela *et al.* Dengue hemorrhagic fever: a growing global menace. **Journal of Water and Health**, 20 out. 2023.

PASCUAL, M. *et al.* Malaria resurgence in the East African highlands: Temperature trends revisited. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 15, p. 5829–5834, 11 abr. 2006.

PAZ-BAILEY, Gabriela *et al.* Dengue. **The Lancet**, v. 403, n. 10427, p. 667–682, fev. 2024.

PEDRO DO VALLE VARELA, João *et al.* THE INCREASE IN THE NUMBER OF DENGUE CASES IN BRAZIL AND THE CORRELATION WITH DEFORESTATION AND GLOBALIZATION. **Health and Society**, v. 4, n. 02, p. 23–34, 5 mar. 2024.

PERERA, Kalindu D. C. *et al.* Study of concentration dependent curcumin interaction with serum biomolecules using ATR-FTIR spectroscopy combined with Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Square Regression (PLS-R). **Vibrational Spectroscopy**, v. 116, p. 103288, set. 2021.

PHILLIP, J. N. Physico-chemical Properties of Porphyrins. *In: MARCEL FLORKIN, ELMER H. STOTZ (Org.). Comprehensive Biochemistry*. [S.l.: S.n.]. p. 34–72.

PHILIPS, E. J. *et al.* Relationships between light availability, chlorophyll a, and tripton in a large, shallow subtropical lake. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 2, p. 416–421, 22 mar. 1995.

PIATEK, Magdalena; SHEEHAN, Gerard; KAVANAGH, Kevin. *Galleria mellonella*: The Versatile Host for Drug Discovery, In Vivo Toxicity Testing and Characterising Host-Pathogen Interactions. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1545, 17 dez. 2021.

PIMENTEL, David. Pesticides and Pest Control. *In: Integrated Pest Management: Innovation-Development Process*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009. p. 83–87.

PIMPRIKAR, Gajanan D.; NORMENT, Bev R.; HEITZ, James R. Toxicity of rose bengal to various instars of *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Aedes triseriatus*. **Environmental Entomology**, v. 8, n. 6, p. 856–859, 1979.

PLAETZER, K. *et al.* Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers in Medical Science**, v. 24, n. 2, p. 259–268, 5 mar. 2009.

PRIYADARSINI, K. Indira. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81–95, jun. 2009.

PRIYADARSINI, Kavirayani. The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 20091–20112, 1 dez. 2014.

RADY, Magda H. *et al.* Semi-Field Evaluation and Genotoxicity of Chlorophyllin Applied Against *Aedes aegypti* Larvae (Diptera, Culicidae). **Insects**, v. 16, n. 3, 1 mar. 2025.

RAUL R. BRAGA, George G. Brown, Camila F. Castro, Claudiano C. Cruz Neto, Ana Clara S. Franco, Gustavo Heringer, André L. B. Magalhães, Ricardo J. Miranda, Roger P. Mormul, Igor Oliveira, Hugo H. L. Saulino, Dalva

M. Silva Matos. IMPACTOS DE ESPÉCIES EXÓTICAS INVASORAS SOBRE AS CONTRIBUIÇÕES DA NATUREZA PARA AS PESSOAS (CNP), O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E A BOA QUALIDADE DE VIDA. *In: Relatório temático sobre espécies exóticas invasoras, biodiversidade e serviços ecossistêmicos. [S.l.: S.n.].* p. 133–184.

RAYA, Kathryn *et al.* Growth and differentiation of the larval mosquito midgut. **Journal of Insect Science**, v. 9, n. 55, p. 1–13, 2009.

REINHOLD, Joanna M.; LAZZARI, Claudio R.; LAHONDÈRE, Chloé. Effects of the environmental temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes: A review. **Insects**, v. 9, n. 4, 2018.

ROBINSON, J. R. **Photodynamic insecticides: A review of studies on photosensitizing dyes as insect control agents, their practical application, hazards, and residues.** [S.l.: S.n.]. v. Vol. 88

ROCKLÖV, Joacim; TOZAN, Yesim. Climate change and the rising infectiousness of dengue. **Emerging Topics in Life Sciences**, v. 3, n. 2, p. 133–142, 10 maio 2019.

ROSHAN, Zahra *et al.* Curcumin-Encapsulated Poly(lactic- co -glycolic acid) Nanoparticles: A Comparison of Drug Release Kinetics from Particles Prepared via Electrospray and Nanoprecipitation. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 309, n. 7, 15 jul. 2024.

ROSSI, Grazielle Guidolin *et al.* Peripheral tetra-cationic Pt(II) porphyrins photo-inactivating rapidly growing mycobacteria: First application in mycobacteriology. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, p. 104455, nov. 2020.

RYAN, S. J. *et al.* Global expansion and redistribution of *Aedes*-borne virus transmission risk with climate change. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 3, 2019.

SADOINE, Margaux L. *et al.* Predicting malaria risk considering vector control interventions under climate change scenarios. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 1 dez. 2024.

SALAMA, Elham M. Site of action of hematoporphyrin (a photo-activated insecticide) in *Culex pipiens* larvae. n. January 2002, 2014.

SALINAS, Wendy S.; FERIA-ARROYO, Teresa P.; VITEK, Christopher J. Temperatures influence susceptibility to insecticides in *aedes aegypti* and *aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. **Pathogens**, v. 10, n. 8, 2021.

SAMMARRO SILVA, Kamila Jessie *et al.* Hydrogen peroxide-assisted pasteurization: An alternative for household water disinfection. **Journal of Cleaner Production**, v. 357, p. 131958, jul. 2022.

SANTOS, Emylle Emediato *et al.* Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. **Food Hydrocolloids**, v. 107, p. 105921, out. 2020.

SARI, A. *et al.* Erythritol tetra myristate and erythritol tetra laurate as novel phase change materials for low temperature thermal energy storage. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects**, v. 35, n. 14, p. 1285–1295, 2013.

SASMITA, Hadian Iman *et al.* Effects of larval diets and temperature regimes on life history traits, energy reserves and temperature tolerance of male *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): optimizing rearing techniques for the sterile insect programmes. **Parasites & vectors**, v. 12, p. 1–16, 2019.

SCHÄFER, M. *et al.* Systematic study of parameters influencing the action of Rose Bengal with visible light on bacterial cells: comparison between the biological effect and singlet-oxygen production. **Photochemistry and photobiology**, v. 71, n. 5, p. 514–23, maio 2000.

- SCHAGEN, F. H. E. *et al.* Photodynamic treatment of adenoviral vectors with visible light: an easy and convenient method for viral inactivation. **Gene Therapy** **1999** **6:5**, v. 6, n. 5, p. 873–881, maio 1999.
- SHA, Haichao *et al.* Comprehensive review of ecological risks and toxicity mechanisms of microplastics in freshwater: Focus on zebrafish as a model organism. **Aquatic Toxicology**, v. 284, p. 107397, jul. 2025.
- SHIAO, Shin-Hong *et al.* Novel phthalocyanines activated by dim light for mosquito larva- and cell-inactivation with inference for their potential as broad-spectrum photodynamic insecticides. **PLOS ONE**, v. 14, n. 5, p. e0217355, 29 maio 2019.
- SILVA, C. M. *et al.* Photodynamic control of *Aedes aegypti* larvae with environmentally-friendly tetra-platinated porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 224, p. 112323, nov. 2021a.
- SILVA, C. M. *et al.* Photodynamic control of *Aedes aegypti* larvae with environmentally-friendly tetra-platinated porphyrin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 224, p. 112323, 1 nov. 2021b.
- SILVA DE SÁ, Igor *et al.* In vitro and in vivo evaluation of enzymatic and antioxidant activity, cytotoxicity and genotoxicity of curcumin-loaded solid dispersions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 125, p. 29–37, 1 mar. 2019.
- SILVA, Natalia Ingrid Oliveira *et al.* Recent sylvatic yellow fever virus transmission in Brazil: the news from an old disease. **Virology Journal**, v. 17, n. 1, p. 9, 23 dez. 2020.
- SMITH, David L. *et al.* Ross, Macdonald, and a Theory for the Dynamics and Control of Mosquito-Transmitted Pathogens. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 4, p. e1002588, 5 abr. 2012.
- STEINWASCHER, Kurt. Competition among *Aedes aegypti* larvae. **PLOS ONE**, v. 13, n. 11, p. e0202455, 15 nov. 2018.
- STRACKE, F.; HEUPEL, Ma; THIEL, E. Singlet molecular oxygen photosensitized by Rhodamine dyes: Correlation with photophysical properties of the sensitizers. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 126, n. 1–3, p. 51–58, 1999.
- SUETH-SANTIAGO, Vitor *et al.* Curcumin, the golden powder from turmeric: insights into chemical and biological activities. **Química Nova**, 2015.
- SUMAN, Devi S. *et al.* Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. **Acta Tropica**, v. 128, n. 1, p. 103–109, 2013.
- SUN, Xiao-Zhu *et al.* Electrospun curcumin-loaded fibers with potential biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 94, n. 1, p. 147–153, abr. 2013.
- TAO, Yuting *et al.* Effects of spray drying temperature on physicochemical properties of grapeseed oil microcapsules and the encapsulation efficiency of pterostilbene. **LWT**, v. 193, p. 115779, fev. 2024.
- TARDIVO, João Paulo *et al.* Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 2, n. 3, p. 175–91, set. 2005.
- TAYLOR, Luke. Dengue fever: Brazil rushes out vaccine as climate change fuels unprecedented surge. **BMJ**, p. q483, 26 fev. 2024.
- TOLUN, Aysu; SHARIFUZZAMAN, Md; ALTINTAS, Zeynep. Electrospun nanofibers of curcumin/HP-beta-CD/pullulan complex with enhanced solubility and controlled release in food and drug delivery applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 300, p. 140064, abr. 2025.
- TSENG, S. C. G.; FEENSTRA, R. P. G.; WATSON, B. D. Characterization of photodynamic actions of rose bengal on cultured cells. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 35, n. 8, p. 3295–3307, 1994.

VAN GOMPEL, Alfons; VAN BORTEL, Wim. Emerging Pests and Vector-borne Diseases in Europe. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 11, p. 1827–1828, nov. 2008.

VAN LEEUWEN, Magda *et al.* The photochemistry and photophysics of a series of alpha octa(alkyl-substituted) silicon, zinc and palladium phthalocyanines. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v. 13, n. 1, p. 62–69, 2014.

VARA, Jimena *et al.* Evaluation of physicochemical properties and bacterial photoinactivation of phenothiazine photosensitizers. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1576–1586, 2019.

V.-BALOGH, Katalin; NÉMETH, Balázs; VÖRÖS, Lajos. Specific attenuation coefficients of optically active substances and their contribution to the underwater ultraviolet and visible light climate in shallow lakes and ponds. **Hydrobiologia**, v. 632, n. 1, p. 91–105, 15 out. 2009.

VENKATESAN, Priya. Global upsurge in dengue in 2024. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 10, 2024.

VENTURINI, Francine Perri *et al.* Environmental safety and mode of action of a novel curcumin-based photolarvicide. v. 27, p. 29204–29217, maio 2020a.

VENTURINI, Francine Perri *et al.* Environmental safety and mode of action of a novel curcumin-based photolarvicide. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 23, p. 29204–29217, 20 ago. 2020b.

WAINWRIGHT, Mark. Dyes, flies, and sunny skies: photodynamic therapy and neglected tropical diseases. **Coloration Technology**, v. 133, n. 1, p. 3–14, 2017.

WAINWRIGHT, Mark *et al.* Photoantimicrobials—are we afraid of the light? **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. e49–e55, fev. 2017.

WAINWRIGHT, Mark; GRICE, Nicola J.; PYE, Lynnette E. C. Phenothiazine photosensitizers: part 2. 3,7-Bis(arylamino)phenothiazines. **Dyes and Pigments**, v. 42, n. 1, p. 45–51, abr. 1999.

WANG, Ying Jan *et al.* Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 15, n. 12, p. 1867–1876, 1997.

WANG, Yu *et al.* Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 1, p. 71–74, nov. 2009.

WANI, Khalid Mehmood; UPPALURI, Ramagopal V. S. Efficacy of ionic gelation based encapsulation of bioactives from papaya leaf extract: characterization and storage stability. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, n. 16, p. 19911–19928, 23 ago. 2024.

WARREN, Frederick J.; GIDLEY, Michael J.; FLANAGAN, Bernadine M. Infrared spectroscopy as a tool to characterise starch ordered structure—a joint FTIR–ATR, NMR, XRD and DSC study. **Carbohydrate Polymers**, v. 139, p. 35–42, mar. 2016.

WATERFIELD, Gina; ZILBERMAN, David. Pest Management in Food Systems: An Economic Perspective. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 37, n. 1, p. 223–245, 21 nov. 2012.

WEAVER, Joseph E.; BUTLER, Linda; YOHO, Tim P. Photodynamic Action in Insects: Volumetric Changes in the Hemolymph and Crop Contents of Dye-treated, Light-exposed Cockroaches 1, 2. **Environmental Entomology**, v. 5, n. 5, p. 840–844, 1 out. 1976.

WHO. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. **World Health Organization**, p. 1–41, 2005.

WHO, World Health Organisation. **Vector-borne diseases**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-disease>>.

WILSON, Anne L. *et al.* The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 1, p. e0007831, 16 jan. 2020.

WISNER, B.; ADAMS, J. 10. Vector and pest control. **Environmental Health in Emergencies and Disasters: a Practical Guide**, p. 158–167, 2003.

WOHLLEBE, S. *et al.* Photodynamic control of human pathogenic parasites in aquatic ecosystems using chlorophyllin and pheophorbide as photodynamic substances. **Parasitology Research**, v. 104, n. 3, p. 593–600, 14 fev. 2009.

WU, ChienHsing *et al.* Open data mining for Taiwan's dengue epidemic. **Acta Tropica**, v. 183, p. 1–7, jul. 2018.

XU, Qi; FENG, Hao; SHAO, Xusheng. Light-induced activities of novel naphtho[1,8-ef]isoindole-7,8,10(9H)-trione and oxoisoaporphine derivatives towards mosquito larvae. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 48, p. 128225, set. 2021.

YANIK, Hülya *et al.* Peripheral and non-peripheral tetrasubstituted aluminium, gallium and indium phthalocyanines: Synthesis, photophysics and photochemistry. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 206, n. 1, p. 18–26, jul. 2009.

ZHAO, Naizhuo *et al.* Machine learning and dengue forecasting: Comparing random forests and artificial neural networks for predicting dengue burden at national and sub-national scales in Colombia. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 9, p. e0008056, 24 set. 2020.