

AÇÃO LARVI E MOLUSQUECIDA DO "TEGO-51" *

LAURO P. TRAVASSOS FILHO
BRUNO SOERENSEN
THEREZINHA J. H.-FONTENELLE

Seções de Parasitologia e Controle. Instituto Butantan

RESUMO — Observações iniciais, feitas com concentrações de 2,5/1.000 a 1/16.000 de: "Tego-51", portanto bem inferiores às que causariam efeitos tóxicos em camundongos, demonstraram ação letal sobre *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835) e até 1/8.000 sobre larvas e pupas de *Culex pipiens*

fatigans Wied., 1828, além de perturbar a eclosão dos adultos desse mosquito. Todas as concentrações, entretanto, mostram-se letais para os pequenos peixes *Lebistes reticulatus*.

UNITERMOS — Detergente "Tego-51". Ação larvi e molusquecida.

INTRODUÇÃO

Desenvolvendo métodos para combater vectores e invertebrados aquáticos de interesse à Saúde Pública, iniciamos com este trabalho, pesquisas experimentais com substâncias capazes de combater o vector da esquistossomose sem prejudicar as qualidades potáveis das coleções líquidas em que vivem os moluscos planorbídeos.

Tentativas nesse sentido já haviam sido feitas em 1954 por Vallejo-Freire, Ribeiro & Ribeiro⁴, empregando compostos amoniacaís e experimentando em peixes e moluscos planorbídeos.

Os planorbídeos, como moluscos pulmonados, são obrigados a respirar na superfície do meio líquido em que vivem, aí abrindo o pneumostomo, muito embora essa respiração nem sempre obedeça a frequência rápida, na dependência do teor de oxigenação do líquido. Consideramos então que emprego de substâncias tensoativas, como os detergentes, em concentrações adequadas, traria uma modificação de tensão superficial capaz de, ao envez de permitir a entrada do ar no pneumostomo, facilitasse a entrada da água, afogando o molusco.

Considerando também que, pelo mesmo mecanismo, esse processo serviria ao combate de larvas de culicídeos, com maior e mais imediato interesse no extermínio das larvas de espécies do gênero *Culex*, por se desenvolverem em

* Trabalho (n. 109, p. 81) apresentado no XVIII Congresso Brasileiro de Higiene, São Paulo, outubro de 1970.

qualquer coleção de água dos ambientes domésticos ou de áreas poluídas, resolvemos também observar se, modificada a tensão superficial, larvas e pupas de mosquitos conseguiriam o ar que veem buscar na superfície dos meios líquidos em que vivem.

As pesquisas foram iniciadas com o "Dodecyl-di (amino-etil) glicina", que é um amino ácido de grande cadeia molecular, anfotensidio conhecido pelo nome de "TEGO-51", com apreciável atividade germicida e baixo nível de toxicidade para mamíferos, propriedades bem determinadas por Soerensen, Correa e Zezza Neto, em 1969¹

Na Argentina as propriedades bactericidas foram experimentadas na preservação do leite para consumo público, por Mazza, Landolfi e Montes, em 1970², mas seu emprego foi abandonado por produzir muita espuma pela agitação no transporte.

As nossas observações foram feitas buscando-se o limite mínimo de toxicidade para planorbídeos, larvas e pupas de culicídeos e também para peixes, uma vez que o combate aos planorbídeos deve ser feito inclusive em reservatórios onde, eventualmente, também são criados peixes de interesse econômico.

As experiências iniciais, feitas com concentrações as maiores sem efeitos tóxicos para camundongos, demonstraram logo a ação esperada, ainda mais, relativamente aos culicídeos, também pareceram os adultos saídos de pupas colocadas já maduras nas soluções testes, isso porque, não conseguindo os mosquitos apoio na superfície da água, dada a baixa da tensão superficial pelo detergente, naufragavam espetacularmente.

Contudo a ação tensoativa mostrou-se muito tóxica para peixes, provavelmente interferindo no sistema de trocas metabólicas ao nível das brânquias, e os peixinhos *Lebistes*, mesmo nas concentrações mínimas empregadas logo se mostravam inquietos, perecendo em prazos curtos.

Damos em seguida os resultados obtidos nas diversas concentrações de "TEGO-51" relativos ao molusco planorbídeo *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1853), vector da esquistossomose, à larvas, pupas e adultos do mosquito comum *Culex pipiens fatigans* Wied., 1828 e também de pequenos peixes *Lebistes reticulatus*.

MATERIAL

Com vistas aos vectores da esquistossomose, foram empregados exemplares com cerca de 10 mm de diâmetro do planorbídeo *Biomphalaria tenagophila*.

Vizando o combate aos culicídeos, empregamos larvas e pupas do mosquito comum, *Culex pipiens fatigans*; as larvas foram selecionadas entre as mais desenvolvidas do último estágio, condição importante por termos verificado que, quanto menores mais sensíveis e poderiam mascarar os resultados.

As experiências com as pupas desse *Culex* foram feitas tanto com as recém-pupadas, de colorido claro, como as de evolução mais adiantada, até as pré-adultas, de colorido preto, mostrando todas elas o mesmo comportamento.

Nas observações com peixes foram empregados ♂ adultos de *Lebistes reticulatus*, com cerca de 25 mm de comprimento e com bastante tempo de vida nos tanques de criação.

Esses peixinhos foram testados separadamente porque, sendo predadores eficientes de larvas de mosquitos, antes de sentirem os efeitos do detergente atacavam e devoravam as larvas dos culicídeos.

MÉTODOS

Foram empregados frascos cilíndricos de vidro neutro, com cerca de 10,5 cm de diâmetro, nos quais o volume de 1000 ml correspondente a uma coluna líquida de 12 cm.

Foi empregada para as soluções água de grande tanque, onde habitualmente são criados moluscos pulmonados e peixes *Lebistes*, dando-se aos animais de prova o mesmo meio ambiente.

Utilizamos 8 frascos para as provas, sendo o primeiro deixado com as testemunhas, e os seguintes com as concentrações decrescentes de "TEGO-15": 2,5/1.000 — 1/1.000 — 1/2.000 — 1/4.000 — 1/8.000 — 1/16.000 — 1/20.000.

A primeira concentração, 2,5/1.000 ($=0,25\%$), foi empregada como teste de concentração excessivamente alta, porém ainda sem efeitos tóxicos para camundongos, como controle de tempo de morte dos animais observados.

Numa primeira tentativa de observação simultânea, foram dispostos 8 frascos com 500 ml de água em cada um, a metade do volume pretendido; nesse volume foram colocados os animais de provas a saber, larvas e pupas de *Culex* e os planorbídeos.

Após vinte minutos de espera, para uma boa adaptação ao novo ambiente, eram acrescentados os restantes 500 ml de água em cada frasco, com o dobro da concentração de "TEGO-51", pois com isso completávamos o volume de 1.000 ml e a concentração desejada para cada experiência.

Essa segunda parte do líquido era acrescentada lentamente por meio de fino tubo plástico no fundo do frasco de prova, sendo evitada qualquer agitação, para que a difusão se fizesse lentamente.

Todavia esse processo, além de trabalhoso e lento, apresentou o inconveniente dos animais de prova nadarem na parte de concentração dupla antes da mistura se tornar homogênea, levando a resultados pouco significativos. Por isso a técnica foi modificada para muito mais prática, tanto no preparo dos líquidos, como possibilitando a observação imediata dos resultados em todas as concentrações e com os mesmos fatores de ambiente.

Nessa segunda fase as soluções com as diversas percentagens de "TEGO-51" foram preparadas diretamente nos frascos de prova, bem agitadas para perfeita mistura e deixadas em repouso por 24 horas, possibilitando a mesma temperatura em todos os recipientes, o que era controlado nos termômetros de cada um.

Verificada a uniformidade de temperatura nos recipientes, eram então colocados em cada frasco os animais testes, simultaneamente, pois esses animais

também já haviam sido previamente separados em frascos correspondentes a cada prova, apenas em volume mínimo de água, que completou o volume total quando juntada. Isso permitiu se observar e comparar de imediato o que acontecia nas diversas concentrações e feitos os respectivos registros.

Houve necessidade de serem observações simultâneas para que as leituras fossem feitas na mesma temperatura; as variações de ação do "TEGO-51" em relação a temperatura do meio líquido serão objeto de pesquisas futuras.

Durante as observações com pupas maduras de *Culex*, verificamos que os adultos ao eclodirem não conseguindo sobre o filme de água da superfície a estabilidade necessária para o desenvolvimento e endurecimento de suas estruturas, apoio que faltava devido a ação tensoativa do "TEGO-51", naufragavam de maneira espetacular. Para estas observações foram então usados cristalizadores de maior diâmetro para maior superfície às pupas, mas os resultados foram os mesmos que os primeiros observados nos frascos das demais provas.

Devido a escassez de animais para testes, as verificações de durabilidade de ação tóxica do "TEGO-51" tiveram que ser deixadas para outra oportunidade; podemos entretanto adiantar que as mesmas soluções usadas nas provas iniciais, ainda apresentavam ação larvi, molusco e ictiocidas cerca de vinte dias após o primeiro uso. Esse efeito residual, de grande importância no combate, inclusive sob o ponto de vista econômico, será objeto de pesquisas futuras, na dependência de melhores instalações, em andamento.

RESULTADOS

(Tabela única)

Biomphalaria tenagophila (Orbigny, 1835).

Colocados os exemplos deste planorbídeo na solução de "TEGO-51" a 2,5/1.000, a morte é imediata. O molusco retrai-se na concha definitivamente, expelindo líquido amarelo por algum tempo.

Nas soluções a 1/1.000 e 1/2.000 o comportamento é quase semelhante; há uma imediata retração para dentro da concha, e apenas podem ser vistos, à lupa, lentos movimentos dos tentáculos, que cessam completamente após 80 e 120 minutos, respectivamente.

Na solução a 1/4.000, o molusco demonstra de início, forte reação ao detergente, retraindo-se na concha; posteriormente tenta, sem êxito, locomover-se pelo fragmento de folha de alface, sua alimentação predileta, colocado como estímulo ou então tenta deslocar-se pelas paredes do frasco tentando chegar a superfície do líquido.

Ao fim de 3 a 4 horas fica semiretraído na concha, com movimentos lentos dos tentáculos, que cessam ao fim de 18 horas, quando foram considerados mortos.

Idêntico procedimento foi registrado nas concentrações de 1/8.000 e 1/16.000, variando apenas o período de vida, o qual foi de 20 e 24 horas respec-

tivamente. É interessante assinalar que, embora a concentração de "TEGO-51" fosse o dobro, 1/8.000 e 1/16.000, a diferença de prazo até a morte foi mínima, apenas de 4 horas.

A última observação foi feita com concentração de 1/20.000; após 27 horas de permanência nessa solução, os moluscos se achavam no fundo do frasco, semi-retraídos nas conchas e apresentando movimentos perceptíveis apenas à lupa estereoscópica.

Larvas de *Culex pipiens fatigans* Wied., 1828

Nas soluções mais fortes, 2,5/1.000 e 1/1.000, as larvas desse mosquito mostram logo sinais de intoxicação; na mais concentrada morreram dentro de 160 minutos e, na solução seguinte morreram em 48 horas.

As larvas maduras mostraram-se bem resistentes ao "TEGO-51", só morrendo, afora as duas primeiras soluções citadas, nas de 1/2.000, 1/4.000 e 1/8.000, ao fim, respectivamente de 3, 5 e 7 dias. Há porém uma nítida intoxicação pois, não só deixam de se alimentar, como interromperam o desenvolvimento, nenhuma atingindo a fase de pupa na concentração de 1/2.000, e as poucas que se transformaram em pupas morreram nessa fase nas concentrações seguintes (1/4.000 e 1/8.000).

Larvas maduras de *C. p. fatigans* colocadas em soluções de "TEGO-51" a 1/16.000 e 1/20.000 evoluíram normalmente, passando a pupas e estas a adultos, que voaram.

Pupas de *Culex pipiens fatigans* Wied., 1828

As pupas desses mosquitos mostraram reações inesperadas no "TEGO-51", sendo muito mais sensíveis ao detergente que as larvas; isso pode ser explicado pelo metabolismo mais intenso que ocorre na fase pupal, em que praticamente só ficam na superfície, com as duas tubas respiratórias em contacto com o ar, o que é dificultado pela ação tensoativa do detergente, levando-as a afogamento mais rápido que as larvas. As observações foram feitas sempre com pupas claras, para permitir maior tempo de observação antes de passarem a adultos.

Nas soluções a 2,5/1.000, e 1/1.000, a morte das pupas verificaram-se em 90 e 150 minutos respectivamente; tão logo eram colocadas nas soluções, ficavam irrequietas, perdendo a motilidade pouco a pouco até ficarem mortas no fundo do frasco. Nas soluções a 1/2.000 e 1/4.000 morreram todas em cerca de 48 e 55 horas, respectivamente.

Nas concentrações de 1/8.000 e 1/16.000, os resultados foram semelhantes, com diferença de horas, morrendo as pupas respectivamente em 60 e 72 horas.

Na concentração de 1/8.000, de algumas pupas eclodiram adultos os quais, face a ação do detergente, não conseguiram voar. Na concentração de 1/16.000 alguns adultos dos eclodidos conseguiram voar outros não.

A concentração de "TEGO-51" a 1/20.000 não se mostrou tóxica para pupas desse culicídeo, todas evoluíram até adultos, que voaram.

Adultos de *Culex pipiens fatigans* Wied., 1828

Pupas já bem evoluídas, com a cor preta característica, quando colocadas em soluções de "TEGO-51" até a concentração de 1/8.000, na maioria morrem como já foi comentado.

Entretanto, como os mosquitos para bem eclodir dos pupários necessitam de apoio na superfície líquida, os que eclodiram na solução a 1/8.000 naufragaram justamente por lhes faltar o apoio habitual da tensão superficial, modificada pelo detergente, muitos naufragando ainda presos ao próprio pupário.

Na solução a 1/16.000 muitos adultos naufragaram, poucos conseguiram voar.

A fotografia 1 mostra a superfície da solução de "TEGO-51" a 1/8.000, vendo-se os mosquitos naufragados, alguns ainda presos aos respectivos pupários.

A fotografia 2, em outro frasco com mais exemplares, além de muitos mosquitos naufragados, larvas e pupas ainda respirando na superfície e, ao fundo, como sombras por estarem abaixo do plano focal da superfície, pupas mortas, em posição típica que assumem, como que esticadas para trás, posição oposta a de "vírgula" que apresentam quando vivas.

Peixes *Lebistes reticulatus*

Morrem rapidamente na concentração de 2,5/1.000; nas concentrações de 1/8.000 e 1/16.000 resistem apenas 38 minutos. Não foi observado na concentração de 1/20.000.

Voltaremos, em pesquisas futuras, a observar o comportamento de peixes em soluções ainda mais diluídas de "TEGO-51" quando, inclusive, estudaremos a ação do detergente em peixes maiores que *Lebistes*.

SUMMARY — Initial observations made with concentrations of 2,5/1.00 to 1/16.000 of "Tego-51", hence much lower than such as would cause toxic effects in mice, showed lethal action on *Biombalaria tenagophila* (Orbigny, 1835); concentrations of 1/8.000 had the same effect on larvi and pupae of

Culex pipiens fatigans Wied, 1828, besides disturbing the eclosion of adults of this mosquito. All concentrations, however, were lethal to the small fish *Lebistes reticulatus*.

UNITERMS — Larvicidals. Moluscicidals. "Tego-51".

TABELA ÚNICA

CONCENTRAÇÕES DE TEGO-51

	Controle	2,5/1000	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000	1/20000
<i>Biomphalaria tenagophila</i>	Comportamento e evolução normais durante 10 dias de observação.	morte imediata	morte até 1h,20'	morte até 2hs	morte até 18hs	morte até 20hs	morte até 24hs	após 27hs doentes no fundo
Larvas de <i>Culex</i>		morte até 2hs,40'	morte até 48hs	morte até 72hs	morte até 120hs	morte até 168hs	sem efeito	sem efeito
Pupas de <i>Culex</i>		morte até 1h,30'	morte até 2hs,30'	morte até 48hs	morte até 54hs	morte até 60hs	morte até 72hs	sem efeito
<i>Lebistes reticulatus</i> ♂		morte imediata	morte até 20'	morte até 24'	morte até 30'	morte até 38'	morte até 38'	



Foto 1 — Mosquitos *Culex p. fatigans* afogados após a eclosão em solução de "TEGO-51" a 1/8.000.



Foto 2 — *Culex p. fatigans*: larvas e pupas vivas respirando na superfície da solução de "TEGO-51" a 1/8.000. No fundo, já mortas, pupas na posição típica de afogamento. Na superfície adultos de ambos os sexos (ver as antenas) mortos ao eclodirem, alguns naufragando ainda presos aos respectivos pupários.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao então Serviço de Erradicação da Malária, da Secretaria da Saúde Pública, em S. Paulo, o fornecimento semanal de centenas de larvas e pupas identificadas de *Culex pipiens fatigans*, o que nos permitiu experiências sucessivas com farto material.

As reações dos animais de provas, para controle do tempo exato da colocação deles na solução até a morte, principalmente nos planorbídeos que ficavam logo quase imóveis, movendo apenas lentamente os tentáculos, foram acompanhados sob lupa estereoscópica Zeiss IV, adquirida com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas, GB, concedido a um dos autores.

As fotografias apresentadas foram feitas com aparelhagem fotográfica adaptada àquela lupa, gentilmente emprestada pela Firma C. Zeiss, SP, a quem agradecemos a colaboração.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MAZZA, D. de, LANDOLFI, M. R. & MONTES, A. L. — Ensayos sobre la acción biocida del Tego-51. *An. Soc. Ci. Argentina*, 189(1-2): 3-10, 1970.
2. SOERENSEN, B., CORREA, H. S. & ZEZZA NETO, L. — O uso do TEGO-51 nas indústrias alimentícias de origem animal — Toxidez e ação antibacteriana. *O Biológico, SP*, 35 (1): 3-7, 1969.
3. TH. GOLDSCHMIDT A.-G. CHEMISCHE FABRIKEN, Essen, Alemanha: Folhetos referentes a composição e emprego do Tego-51.
4. VALLEJO-FREIRE, A., RIBEIRO, O. F. & RIBEIRO, I. F. — Quaternary Ammonium Compounds as Molluscicides. *Science*, 119 (3093): 470-472, 1954.

Recebido para publicação em 24.X.1973.

Aceito para publicação em 06.XI.1973.

