

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA - UNIR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EXPERIMENTAL
PGBIOEXP

DAIANE SILVA BARBOSA

**AVALIAÇÃO DE ISCAS ATRAENTES AÇUCARADAS TÓXICAS
CONTRA *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EM LABORATÓRIO**

PORTO VELHO – RO
2016

DAIANE SILVA BARBOSA

**AVALIAÇÃO DE ISCAS ATRAENTES AÇUCARADAS TÓXICAS
CONTRA *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EM LABORATÓRIO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biologia Experimental da Universidade Federal de
Rondônia, como requisito para obtenção do título de
mestre em Biologia Experimental.**

Orientador: Alexandre de Almeida e Silva

PORTO VELHO –RO

2016

FICHA CATALOGRÁFICA
BIBLIOTECA PROF. ROBERTO DUARTE PIRES

Barbosa, Daiane Silva.

B238a

Avaliação de iscas atraentes açucaradas tóxicas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em laboratório. / Daiane Silva Barbosa, Porto Velho, 2016.

68f.; il.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre de Almeida e Silva

Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2016.

1. Inseticida. 2. Controle vetorial. 3. Frutas. I. Fundação Universidade Federal de Rondônia. II. Título.

CDU: 595.771

Bibliotecário responsável: Luã Silva Mendonça- CRB11/905

FOLHA DE APROVAÇÃO

DAIANE SILVA BARBOSA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental do Núcleo de Saúde da Universidade Federal de Rondônia para obtenção do título de Mestre.

AVALIAÇÃO DE ISCAS ATRAENTES AÇUCARADAS TÓXICAS
CONTRA *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) EM LABORATÓRIO

Defesa Pública realizada em 08 de junho de 2016

Comissão Examinadora

Dr. Alexandre de Almeida e Silva

Dra. Genimar Julião

Dra. Maria Aurea Pinheiro Silveira

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me ter proporcionado mais esta conquista, com certeza se não fosse a minha fé eu não teria conseguido.

À minha família por sempre ter me incentivado a estudar, essa conquista também é de vocês, porque sempre me motivaram.

À Universidade Federal de Rondônia e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Experimental pela oportunidade a mim oferecida;

À CAPES, pelo auxílio financeiro;

Ao Professor Alexandre de Almeida e Silva do Laboratório de Bioecologia de Insetos (LaBEIn) pela orientação e pela confiança em mim depositada;

Aos professores do Programa Pós-Graduação em Biologia Experimental pelo conhecimento adquirido durante a realização das disciplinas;

Ao Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia (LACEN –RO) e ao professor Eduardo Honda, que me auxiliou na identificação de arboviroses nos mosquitos;

Aos amigos de Pós-Graduação em Biologia Experimental, turma de 2014 e em especial a Cristiane Mattos e a Carolina Minuzzi, que mesmo após o término das disciplinas continuaram fazendo parte da minha vida;

Aos colegas de laboratório e em especial Alyne Cunha e Aline Andriolo, que me ajudaram muito na aquisição de conhecimentos acerca dos mosquitos;

A colega de turma e de laboratório, Glaucilene da Silva Costa, que foi muito importante durante a realização desse mestrado, foi uma grande amiga e com certeza essa amizade irei levar pela vida inteira. Você esteve comigo nos momentos mais difíceis e sem a sua ajuda, física e psicológica, eu não teria conseguido;

Ao meu esposo, Saulo Gruppi Albertoni, que sempre esteve ao meu lado durante esses dois anos, compartilhando comigo as alegrias e frustrações;

E a todos que direta e indiretamente me ajudaram de alguma forma na conclusão de mais essa etapa na minha vida.

Muitas pessoas pensam que a felicidade somente será possível depois de alcançar algo, mas a verdade é que deixar para ser feliz amanhã é uma forma de ser infeliz. Roberto Shinyashiki

RESUMO

No Brasil, dengue, chikungunya e zika são transmitidas pela picada do *Aedes aegypti*. O combate a essas infecções é feito principalmente com a eliminação do vetor, através de inseticidas. Estudos recentes relataram a resistência do mosquito a maioria dos compostos utilizados, sendo necessário o desenvolvimento de outras estratégias de controle. Iscas tóxicas são utilizadas no controle de formigas e baratas e vem apresentando sucesso para mosquitos vetores. Produzidas com substâncias atraentes, um inseticida oral e açúcar como fagoestimulante, a isca utiliza o comportamento de alimentação açucarada natural do mosquito. O objetivo desse trabalho foi avaliar, em laboratório, o efeito das iscas atraentes açucaradas tóxicas em *Ae. Aegypti*, determinando as concentrações letais do ácido bórico (CLs 50 e 90), os efeitos das iscas produzidas com goiaba, manga e cupuaçu, na ingestão e mortalidade do mosquito em laboratório e borrifadas em plantas em ambiente doméstico simulado. Os CLs (50 e 90) foram determinados com a mortalidade dos adultos após 48 horas, utilizando análise de Probit. As iscas foram preparadas utilizando açúcar mascavo (15%), concentrados de frutas e água (proporção 3:1), ácido bórico (4%) e corante de alimentos (3%). O controle foi a formulação acima descrita sem inseticida. As iscas foram oferecidas aos mosquitos em discos de algodão. Verificou-se: (i) proporção de mosquitos ingurgitados; (ii) proporção de mosquitos mortos com e sem o inseticida e (iii) proporção de mortalidade entre as diferentes frutas. Plantas (*Kalanchoe*) foram borrifadas com iscas preparadas com diferentes frutas e colocadas em caixas plásticas (57 x 39 x 33cm) teladas em um ambiente doméstico simulado e após 48 horas, observou-se a diferenças na (i) proporção de mosquitos mortos entre as diferentes frutas e (ii) proporção de mosquitos mortos na gaiola com isca de manga com inseticida. Utilizou-se ANOVA de dois fatores seguida por teste de Tukey (*post hoc*) para avaliar o efeito entre frutas e o sexo do mosquito nas variáveis observadas. Os CL₅₀ e CL₉₀ em 48hs foram, respectivamente, 0,57 e 1,67% para os machos e 0,53 e 1,81% para as fêmeas. No experimento de laboratório, houve diferença significativa na proporção de mosquitos ingurgitados entre os diferentes tratamentos ($P < 0,05$), sendo a menor proporção de machos ingurgitados na isca com o cupuaçu e fêmeas na isca de manga. Em ambos os sexos, o inseticida adicionado na concentração de 4% causou mortalidade entre 92-100%. No teste que simulou o ambiente doméstico a mortalidade ficou entre 75,3 a 88,5% de machos e 55,3 a 67,3% fêmeas e não houve diferença de mortalidade entre as iscas com diferentes frutas. Na isca de manga com inseticida a mortalidade foi significativamente maior

do que no controle. O ácido bórico apresentou toxicidade para machos e fêmeas de *Ae. aegypti*. A manga, goiaba e o cupuaçu podem ser utilizadas na confecção de iscas tóxicas, que borrifadas em plantas em condições de ambiente doméstico simulado são capazes de matar o mosquito *Ae. aegypti*, podendo ser usada em novas estratégias de controle.

Palavras-chave: Inseticída; controle vetorial; frutas.

ABSTRACT

In Brazil, dengue, chikungunya and zika are transmitted through the bite of *Aedes aegypti*. The fight against these infections is mostly done through the elimination of the vector using insecticides. Recent studies have reported mosquito resistance to most of the compounds used, making the development of other control strategies necessary. Toxic baits are used to control ants and cockroaches and have proven successful for mosquito vectors. Produced with attractive substances, an oral insecticide and sugar as a phagostimulant, the bait uses the natural sugary feeding behavior of mosquitoes. The objective of this study was to evaluate, in the laboratory, the effect of attractive toxic sugar baits on *Ae. Aegypti*, determining the lethal concentrations of boric acid (LCs₅₀ and ₉₀), the effects of baits produced from guava, mango and cupuaçu, on the intake and mortality of the mosquito in the laboratory and sprayed on plants in a simulated domestic environment. LCs (50 and 90) were determined using adult mortality after 48 hours and Probit analysis. Baits were prepared using brown sugar (15%), fruit concentrates and water (3:1 ratio), boric acid (4%) and food coloring (3%). The control was the mixture described above with no insecticide. Baits were offered to mosquitoes in cotton balls. The following items were recorded: (i) proportion of engorged mosquitoes; (ii) proportion of dead mosquitoes with and without the insecticide and (iii) proportion of mortality among the different fruits. Plants (*Kalanchoe*) were sprayed with baits prepared from different fruits and placed in plastic boxes (57 x 39 x 33cm) screened in a simulated domestic environment and after 48 hours, differences in (i) the proportion of dead mosquitoes among different fruits and (ii) the proportion of dead mosquitoes in the cage with bait containing mango and insecticide, were observed. Two-way ANOVA was used followed by the Tukey test (*post hoc*) to evaluate the effect of fruit and mosquito sex on the observed variables. LC₅₀ and LC₉₀ for 48 hours were, respectively, 0.57 and 1.67% for males and 0.53 and 1.81% for females. In the laboratory experiment, there was a significant difference in the proportion of engorged mosquitoes among the different treatments ($P < 0.05$), and the lowest proportion of engorged males was in the bait with cupuaçu and for females, the bait with mango. In both sexes, the insecticide added at a concentration of 4% caused mortality between 92-100%. In the test that simulated a domestic environment, mortality was between 75.3 and 88.5% of males and 55.3 to 67.3% of females and there was no difference in mortality among the baits with different fruits. Mortality in the bait containing mango and insecticide was significantly higher than the control. Boric acid showed toxicity for *Ae.*

aegypti males and females; mango, guava and cupuaçu may be used in the manufacture of these toxic baits and these baits sprayed on plants in simulated domestic environment conditions were able to kill *Ae. aegypti* mosquitoes and therefore have the potential to be used in new control strategies.

Keywords: *Aedes aegypti*; vector control; toxic baits

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de ocorrência de <i>Aedes aegypti</i> no mundo, no período de 1960-2014	15
Figura 2. Ciclo de desenvolvimento do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	16
Figura 3. Diferenças entre as espécies <i>Aedes albopictus</i> e <i>Aedes aegypti</i>	16
Figura 4. Distribuição das áreas de risco de transmissão de dengue no mundo.....	18
Figura 5. Número médio de casos de dengue de 2004-2010 nos 30 países considerados endêmicos.....	19
Figura 6. Distribuição dos casos importados e dos casos autóctones de Febre de Chikungunya, por município e Unidade da Federação, Brasil, 2014 a 2016	22
Figura 7. A dispersão do vírus Zika, que até 2007 estava restrito a regiões da África e da Ásia (no detalhe) e sua movimentação pelos continentes.	23
Figura 8. Casos de Microcefalia nos estados brasileiros de 2010-2014 e no ano 2015.	24
Figura 9. Estados brasileiros com casos autóctones de febre pelo vírus Zika com confirmação laboratorial em 2016	25
Figura 10. Aparelho bucal dos mosquitos e a localização das sensilas gustativas envolvidas na estimulação da alimentação açucarada.....	30
Figura 11. Aparelho bucal de mosquitos. A: estruturas picadoras das fêmeas; B: Flexão do lábio durante a alimentação.....	30
Figura 12. Comportamentos dos mosquitos e o olfato.	31
Figura 13. Representação esquemática dos critérios de classificação dos aleloquímicos.....	32
Figura 14. Localização dos receptores olfativos nos mosquitos.	32
Figura 15. Formas de aplicação da isca tóxica	35
Figura 16. Forma de aplicação da isca tóxica em ambiente doméstico.....	36
Figura 17. Gaiola utilizada na criação de <i>Aedes aegypti</i> , contendo larvas, pupas e adultos.	38
Figura 18. Bioensaio de ingestão para avaliação da toxicidade do ácido bórico em machos e fêmeas de <i>Ae. aegypti</i>	41
Figura 19. Representação esquemática do bioensaio para avaliação do efeito de três diferentes frutas (goiaba, manga e cupuaçu) na formulação de iscas tóxicas para <i>Aedes aegypti</i>	43
Figura 20. Aplicação da isca tóxica na plantas e condições de ambiente doméstico simulado	44
Figura 21. Mortalidade de machos <i>Aedes aegypti</i> nas diferentes concentrações de ácido bórico, durante o intervalo de tempo de 24h e 48h.	47

Figura 22. Mortalidade de fêmeas <i>Aedes aegypti</i> nas diferentes concentrações de ácido bórico, durante o intervalo de tempo de 24h e 48h.....	47
Figura 23. Proporção de machos de <i>Aedes aegypti</i> ingurgitados nas iscas com os diferentes sucos de fruta.....	48
Figura 24. Proporção de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> ingurgitadas nas iscas com e sem ácido bórico com os diferentes sucos de fruta.	49
Figura 25. Proporção de machos de <i>Aedes aegypti</i> mortos nas iscas com e sem inseticida e entre diferentes sucos de fruta.....	50
Figura 26. Proporção de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> mortos nas iscas com e sem inseticida e entre diferentes sucos de fruta.....	50
Figura 27. Iscas tóxicas borrifadas em plantas em ambiente doméstico simulado	51
Figura 28. Proporção de machos e fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> mortos em gaiolas com plantas borrifadas com iscas contendo diferentes frutas	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de <i>Aedes aegypti</i> machos e fêmeas utilizados no experimento em condições de ambiente doméstico simulado	44
Tabela 2. Concentrações Letais (CL) do ácido bórico em laboratório para machos e fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> durante o intervalo de 24h e 48h.....	46

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 <i>Aedes aegypti</i>	14
1.1.1 Breve histórico.....	14
1.1.2 Aspectos biológicos.....	15
1.1.3 Importância para a saúde pública.....	17
1.2 Controle Vetorial.....	25
1.2.1 Controle químico.....	26
1.2.2 Iscas atraentes açucaradas tóxicas.....	27
1.2.3 Iscas tóxicas no controle de insetos vetores.....	35
2. Objetivos.....	37
2.1 Objetivo geral.....	37
2.2 Objetivos específicos.....	37
3. Material e Métodos.....	38
3.1 Coleta e criação dos insetos.....	38
3.2 Cálculo das Concentrações Letais (LC50 e 90) do ácido bórico.....	39
3.3 Preparação das iscas tóxicas e o efeito de diferentes frutas na sua formulação para <i>Aedes aegypti</i>	41
3.4 Efeito da aplicação da isca tóxica em plantas em condições de ambiente doméstico simulado.....	43
3.5 Análises Estatísticas.....	44
4. Resultados.....	46
4.1 Concentrações Letais (CLs 90 e 50) do ácido bórico para <i>Aedes aegypti</i>	46
4.2 Efeito de diferentes frutas na formulação de iscas tóxicas na mortalidade de <i>Aedes aegypti</i>	47
4.2.1 Ingurgitamento.....	47
4.2.2 Mortalidade.....	49
4.3 Aplicação da isca tóxica em plantas em ambiente doméstico simulado.....	51

5. Discussão	53
5.1 Toxicidade do ácido bórico	53
5.2 Ingurgitamento das iscas e mortalidade dos mosquitos no laboratório	54
5.3 Aplicação da isca tóxica em plantas em ambiente doméstico simulado	56
6. CONCLUSÕES	60
7. REFERÊNCIAS	61

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Aedes aegypti*

1.1.1 Breve histórico

O *Aedes aegypti* é um mosquito que pertence a ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Culicinae e tem grande importância epidemiológica, por ser vetor de doenças (FORATTINI, 2002). A espécie é alvo de pesquisa em todas as partes do mundo devido a sua relação com transmissão de arboviroses, como o vírus da Febre Amarela, Dengue e outros (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1998).

O mosquito foi introduzido no Brasil no século XVI, trazido do continente africano com o comércio de escravos (FIGUEIREDO, 2003). A espécie foi nomeada de acordo com o lugar de origem, no Egito, provavelmente da região etíópica. O mosquito tem acompanhado a migração humana e sua proliferação e permanência estão relacionadas as modificações causadas pelo homem. O *Ae. aegypti* é encontrado nas regiões tropicais e subtropicais com distribuição que pode estar entre os paralelos (latitudes) 45° N e 35° S e dentro das isotermas de 20°C. A espécie tem preferência por ambiente urbano, nas regiões do peridomicílio e domicílio, em ambientes onde a população é menos concentrada, o mosquito raramente é encontrado (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1998).

Acredita-se que os primeiros registros de doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti* ocorreu em 1648, na península de Yucatan, onde espanhóis foram acometidos de uma doença febril. No Brasil, os relatos de doenças transmitidas por esse vetor começaram em 1685, com uma epidemia de febre amarela no estado de Pernambuco. A doença se propagou pelo país e até o ano de 1899 atingiu desde o Estado Amazonas até Estado Rio Grande do Sul (BRASIL, 2004).

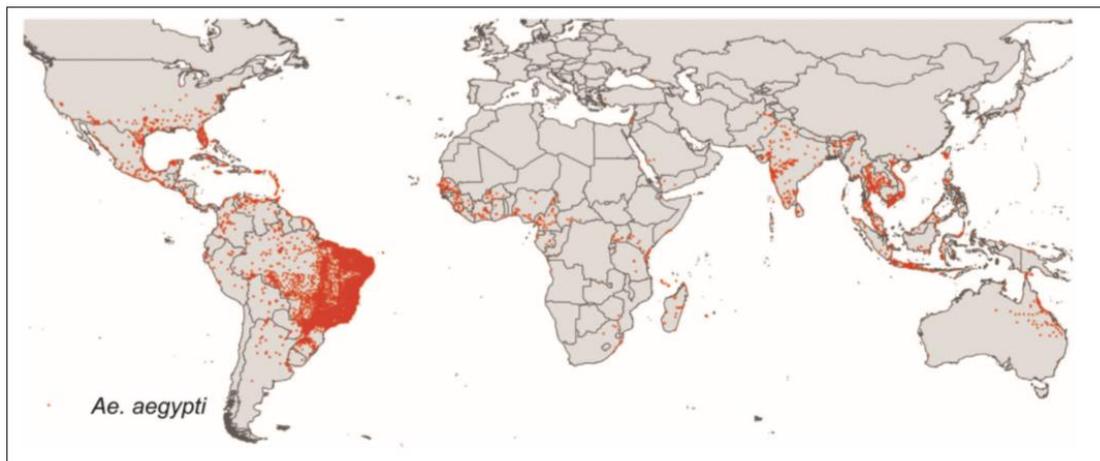
Em 1904, Oswaldo Cruz deu início a campanhas de erradicação do *Ae. aegypti*. Alguns anos depois, com o apoio técnico e financeiro da Fundação Rockefeller essa campanha teve sucesso e a confirmação da erradicação do mosquito se deu em 1955 (FIGUEIREDO, 2003).

A reintrodução do mosquito no Brasil ocorreu na década de 1970, possivelmente vindo de países fronteiriços, como as Guianas e Venezuela, além de outros países como Estados Unidos da América e Cuba que não erradicaram o mosquito. Falhas na vigilância epidemiológica e as mudanças ambientais e sociais decorrentes da urbanização acelerada, que ocorreram naquela época, também contribuíram para reintrodução do *Aedes aegypti* no Brasil (BRAGA; VALLE, 2007). O Pará foi o primeiro estado brasileiro a ser reinfestado pelo mosquito e nos anos seguintes espalhou-se pelo Nordeste e demais regiões. Entre 1978 a 1984

quase todos os estados do Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste estavam infestados (FIGUEIREDO, 2003).

O mosquito pode ser encontrado em mais de 150 países, a circulação de mercadorias contendo ovos contribui fortemente para essa dispersão (WHO, 2012). Kraemer e colaboradores (2015) elaboraram um banco de dados geográficos da ocorrência global do mosquito, no período de 1960-2014, que mostra a distribuição atual do *Ae. aegypti* (Figura 1).

Figura 1. Mapa de ocorrência de *Aedes aegypti* no mundo, no período de 1960-2014.



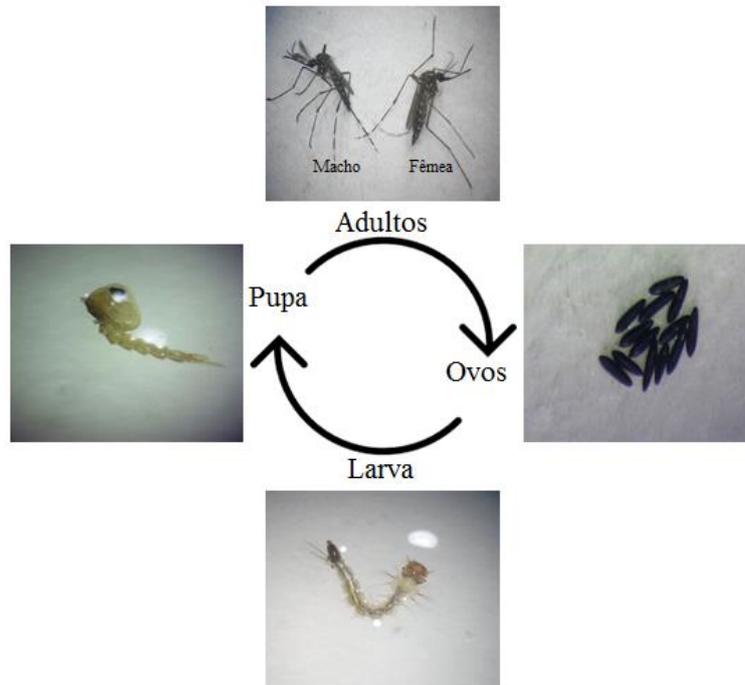
Fonte: Kraemer et al. 2015.

1.1.2 Aspectos biológicos

O *Aedes aegypti* tem um desenvolvimento do tipo holometábolo, no qual o inseto passa por quatro estágios, ovo, larva pupa e adultos. Os ovos são depositados em criadouros contendo água parada e com pouca matéria orgânica, como pneus, latas, vasos, recipientes plásticos e outros (FORATTINI, 2002). Entretanto, relatos de criadouros atípicos como fossas negras, bueiros, coleções de água com resíduos de óleo, ferrugem, tinta, sal e grande concentração de matéria orgânica estão aparecendo na literatura (ARDUINO; AVILA 2015).

Em condições favoráveis, a eclosão dos ovos ocorre cerca de dois dias após a oviposição, ovos podem permanecer por mais de um ano em locais secos, sendo, resistentes à dessecação. Em contato com a água, as larvas emergem passando por quatro estádios larvais (L1, L2, L3 e L4) e logo após o desenvolvimento larval se inicia a fase de pupa, na qual o imaturo não se alimenta. Em condições ideais de temperatura (27 a 38°C) o mosquito emerge entre um e três dias (CONSOLI; LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Figura 2. Ciclo de desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Barbosa, D.S

Os adultos são alados, apresentam tórax enegrecido e o corpo coberto por escamas brancas prateadas. Tais ornamentações se prolongam até o escutelo, onde, geralmente, predominam as escamas claras. As pernas são de aspecto listrado, pois a maioria dos segmentos tarsais, e muitas vezes o fêmur e a tíbia apresentam manchas brancas. A espécie *Ae. aegypti* diferencia-se de *Aedes albopictus* pelas escamas brancas prateadas no tórax, que são em forma de lira. Na espécie *Ae. albopictus* essas escamas formam uma faixa longitudinal (CONSOLI; LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Figura 3. Diferenças entre a espécie *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*.



Características morfológicas externas de *Ae. albopictus* (a esquerda) e *Ae. aegypti* (a direita). Fonte: <http://www.ioc.fiocruz.br/Documentario_II/portugues/portugues.html>.

As fêmeas são hematófagas apresentam hábitos diurnos e elevada antropofilia. A espécie alimenta-se preferencialmente no intradomicílio (endofagia) e permanece em seu

interior (endofilia) (Baker et al. 2010). Os machos também são diurnos e buscam substâncias açucaradas e fêmeas para a cópula (FORATTINI, 2002; CLEMENTS, 1992).

As fêmeas podem se alimentar mais de uma vez, em diferentes pessoas (WHO, 2012), e compartilham os mesmos ambientes e horários de atividade com o homem, o que aumenta a sua capacidade de transmissão de doenças (CONSOLI; LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

1.1.3 Importância para a saúde pública

O *Ae. aegypti* tem grande importância para a saúde pública devido a sua relação com as arboviroses. São definidos como arbovírus, os vírus que se replicam em artrópodes e são transmitidos para vertebrados através da picada do inseto. O mosquito se infecta durante a alimentação sanguínea em um vertebrado infectado, que tem o vírus circulante nos vasos sanguíneos periféricos. Durante a alimentação sanguínea em hospedeiros humanos, as fêmeas de *Ae. aegypti* podem transmitir uma série de doenças como Febre Amarela, Dengue e Chikungunya (BECKER et al 2010).

Recentemente, o vírus Zika, antes restrito a apenas algumas regiões da África e que também pode ser transmitido por esse mosquito, disseminou-se para outros continentes e tem causado preocupações aos órgãos de saúde (ENSERIN, 2015).

Dengue

A dengue é uma arbovirose causada por um Flavivírus e atualmente são conhecidos quatro sorotipos distintos do vírus (DENV-1 a 4) (WHO, 2012). Segundo Oliveira et al (2014), recentemente foi descoberto um novo sorotipo chamado DENV-5, que foi anunciado na terceira conferência internacional da Dengue e febre hemorrágica da Dengue, por um grupo de médicos da Universidade do Texas.

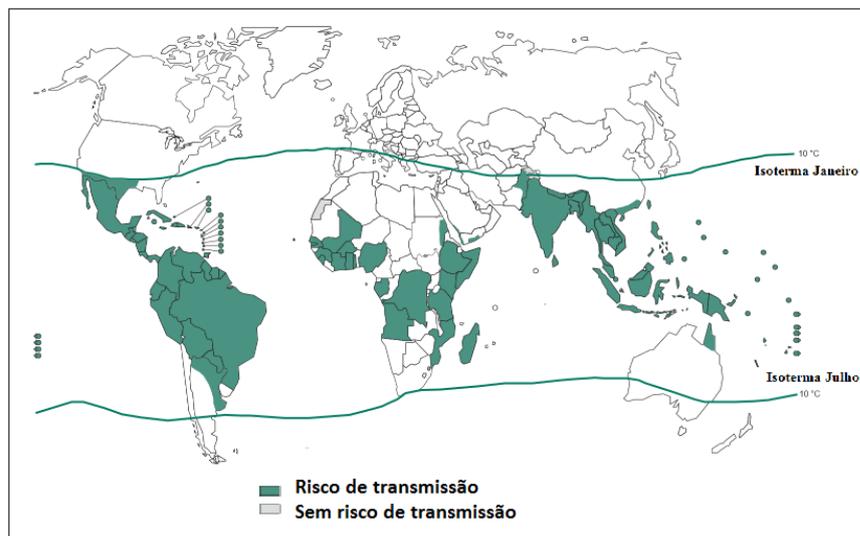
A doença causa intensa mialgia e artralgia e o nome dengue é devido as contrações musculares que a caracterizam (FIGUEIREDO, 2003). É uma doença febril que ataca lactentes, crianças, jovens e adultos e os sintomas podem aparecer de 3 a 14 dias após a picada do mosquito infectado. As manifestações clínicas podem variar de uma febre ligeira, para uma febre alta e incapacitante, fortes dores de cabeça, dor atrás dos olhos e erupções na pele. Na dengue grave, antes conhecida como dengue hemorrágica, ocorre febre, dor abdominal, vômitos, sangramentos e dificuldades para respirar, podendo levar a uma complicação letal (WHO, 2016).

As primeiras epidemias de dengue ocorreram na Ásia, África e América do Norte entre 1779-1780. Em mais de 200 anos a dengue teve uma rápida propagação, sendo

endêmica em mais de 100 países, afetando viajantes e as comunidades locais em todo mundo (BECKER et al. 2010).

Sua disseminação pelos continentes foi motivada pelo aumento das populações do mosquito *Ae. aegypti*, que é seu principal vetor. Atualmente a dengue é predominante nos trópicos, os locais de riscos de transmissão sofrem variações espaciais, sendo fortemente influenciadas pela precipitação, temperatura e grau de urbanização. Os locais de maior risco de transmissão são os locais onde o *Ae. aegypti* é encontrado durante todo o ano (WHO, 2015) (Figura 4).

Figura 4. Distribuição das áreas de risco de transmissão de dengue no mundo.

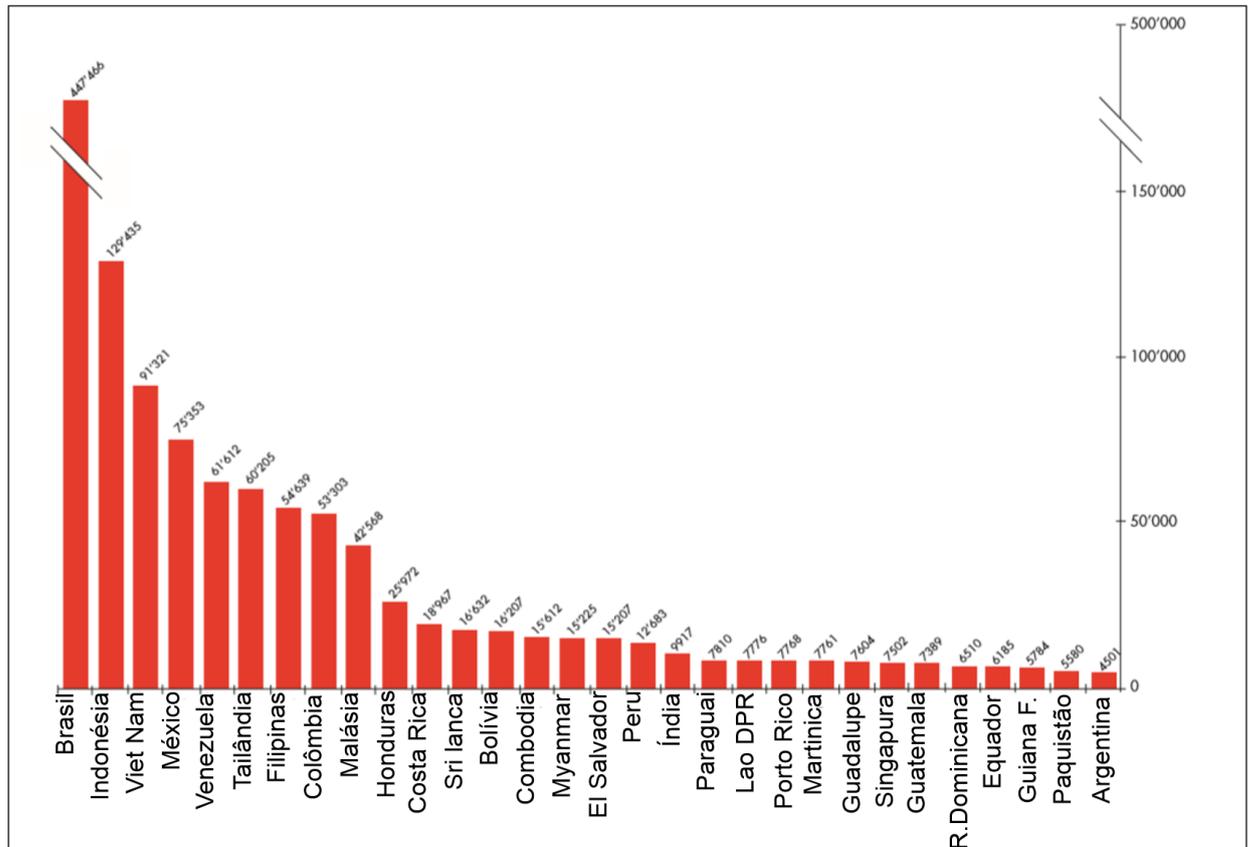


(WHO, 2015 modificada)

Levantamentos recentes da Organização Mundial de Saúde apontam que são cerca de 390 milhões de infecções por ano, das quais 96 milhões apresentam as manifestações clínicas mais graves da doença. (WHO, 2015).

No Brasil os primeiros relatos de surtos de dengue começaram no século XIX, numa epidemia que ocorreu no Estado do Rio de Janeiro em 1846. Muitas epidemias ocorreram nos últimos anos, o vírus e o vetor se espalharam por todo país, nas áreas mais povoadas (FIGUEIREDO, 2003). Um grande surto ocorreu em 2008, onde só no estado do Rio de Janeiro foram relatados 158.000 casos, com 9.000 internações e 230 mortes, entre os meses janeiro e abril. Mesmo com alguns esforços para controlar a doença, em 2010 foram notificados mais de 1,2 milhões de casos. No período de 2004-2010, o país registrou a maior média de notificações e liderou o ranque dos 30 países onde a dengue é considerada endêmica (WHO, 2012) (Figura 5).

Figura 5. Número médio de casos de dengue de 2004-2010 nos 30 países considerados endêmicos.



(WHO,2012)

Em 2015, o Brasil registrou 1.649.008 casos de dengue, comparando com o ano de 2014, onde foram 589.160 casos, a quantidade aumentou significativamente em três vezes ao que foi encontrado no ano anterior. Nesse mesmo período em 2015 foram registrados 863 óbitos, um aumento de 80%, em comparação com o ano de 2014, quando foram confirmados 473 óbitos (BRASIL, 2016 a). Em 2016, até o final de Fevereiro já foram registrados 396.582 casos notificados (BRASIL, 2016b).

No estado de Rondônia, foram notificados 71.541 casos de dengue, no período de 2001 a 2010. A maior incidência da doença foi notificada em 2010, 131/100.000 habitantes, e a menor incidência foi em 2002, com 11/100.000 habitantes. Apesar de Rondônia não ser um estado com a maior incidência de dengue no Brasil, algumas cidades apresentaram mais de 4.000 casos/ 100.000 habitantes. Estes resultados podem estar associados a presença de vias navegáveis, estradas, portos, aeroportos e fronteiras, onde circulam pessoas de várias localidades (OLIVEIRA et al., 2014). Em 2015, o estado registrou 34.110 casos, esse número foi inferior ao observado em 2014, quando foram notificados 48,376 casos (BRASIL, 2016a).

O tratamento dos doentes e a eliminação do mosquito *Ae. aegypti* são medidas importantes para acabar com a dengue e são intervenções que fazem parte da estratégia global

para prevenção da dengue, lançada pela Organização Mundial de Saúde, cuja a meta é reduzir até 2020, 50% da mortalidade e 25% da morbidade provocada por esta doença (WHO, 2012).

Febre amarela

A descoberta de que o *Ae. aegypti* era o agente transmissor da Febre amarela urbana foi realizada pelo médico cubano Carlos Finlay em 1881 (REZENDE, 2009). A doença é, historicamente, a mais importante e a mais severa das arbovirose. Ela é causada por um Flavivírus que provoca infecções graves e o seu nome é atribuído devido a sintomas de icterícia apresentado por alguns pacientes (BACKER et al. 2010).

No século XVII, essa virose dizimou muitas vidas em extensas epidemias na África e nas Américas e o desenvolvimento de vacinas eficazes contribuíram para que essa virose não tenha sido registrada em áreas urbanas na América do Sul nos últimos anos. No Brasil, essa arbovirose ficou conhecida em 1685, quando registrou-se a primeira epidemia no estado do Pernambuco, que foi responsável por muitas mortes e grandes perdas econômicas e sociais. No Brasil, o último caso descrito foi em 1942, em Sena Madureira, Acre (FUNASA, 2001).

Apesar dos trabalhos realizados durante várias décadas, devido o ciclo silvestre de transmissão da febre amarela, casos esporádicos são registrados em populações rurais não imunes (BRASIL, 1999).

Chikungunya

O Chikungunya é um arbovírus do gênero Alphavirus que pertence à família Togaviridae. O nome descreve a aparência encurvada das pessoas infectadas que sofrem de artralgia intensa, a palavra vem do dialeto Makonde, língua falada pela população que vive no sudeste da Tanzânia e no norte de Moçambique, que significa “aqueles que se dobram” (PAHO, 2011).

O primeiro relato de infecção por esse vírus foi na Tanzânia em 1952, depois se distribuiu amplamente, causando surtos esporádicos na África e Ásia até 1970. Até a década de 1980, o vírus estava restrito a esses países e nos últimos anos tem se espalhado para outras regiões, sendo reconhecido pelos órgãos de saúde pública como um patógeno emergente (NASCI, 2014).

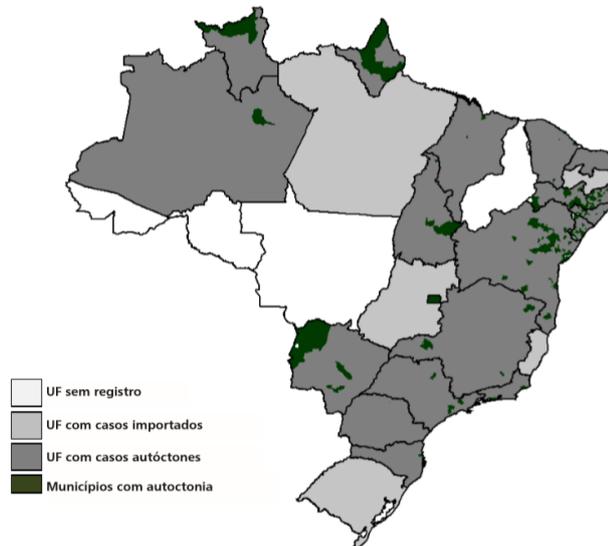
Em 2006, mais de 1,39 milhões de pessoas foram infectadas na Índia, em 2010 o vírus já havia se disseminado para a Indonésia, Myanmar, Tailândia, Maldivas, Taiwan, França, Estados Unidos e Brasil. Em 2010 foi relatado um caso de infecção por este vírus no Brasil, se tratava de um caso importado, onde o paciente havia retornado de uma viagem à Indonésia,

que é considerada área endêmica (ALBUQUERQUE et al. 2012). Em surtos no Caribe, Estados Unidos e Guiana Francesa, foram isolados o vírus CHIKV em pessoas que também retornaram de áreas onde a doença é endêmica ou epidêmica (BRASIL, 2014). Em outubro de 2014 foram mais de 77.600 suspeitas de casos da doença, com 152 mortes nas ilhas do Caribe, países latino-americanos e alguns países sul-americanos. Nessa mesma época a França teve quatro casos de infecção adquiridos em Montpellier (WHO, 2015). Em julho de 2014 foi detectada novamente a presença do vírus chikungunya no Brasil, o vírus se espalhou pelo país após ter entrado no Caribe em dezembro de 2013 (VASCONCELOS, 2015).

O risco de transmissão de Febre Chikungunya nas Américas é agravado pela presença do vetor e hospedeiros susceptíveis nessas áreas. Devido a capacidade do vírus se propagar a novas áreas, foi implantado e aprimorado ações de vigilância do vírus no Brasil (BRASIL, 2014).

Em 2014 foram notificados 3.657 casos autóctones suspeitos de febre de Chikungunya, as notificações ocorreram nos estados da Bahia, Amapá, Roraima, Mato Grosso do Sul e no Distrito Federal. Também foram registrados casos importados no Amazonas, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo. Em 2015, foram notificados 20.661 casos autóctones suspeitos de febre de chikungunya. Foram confirmados 7.823 e 10.420 continuam em investigação (BRASIL, 2016a). Em 2016, até o mês de fevereiro já foram notificados 3.748 casos autóctones suspeitos dessa virose em 18 estados, 284 já foram confirmados e 3.281 continuam em investigação (BRASIL, 2016b).

Figura 6. Distribuição dos casos importados e dos casos autóctones de Febre de Chikungunya, por município e Unidade da Federação, Brasil, 2014 a 2016.



Fonte: Sinan e Secretarias Estaduais de Saúde (atualizado em 25/02/2016).

Fonte: (BRASIL, 2016b).

Virus Zika

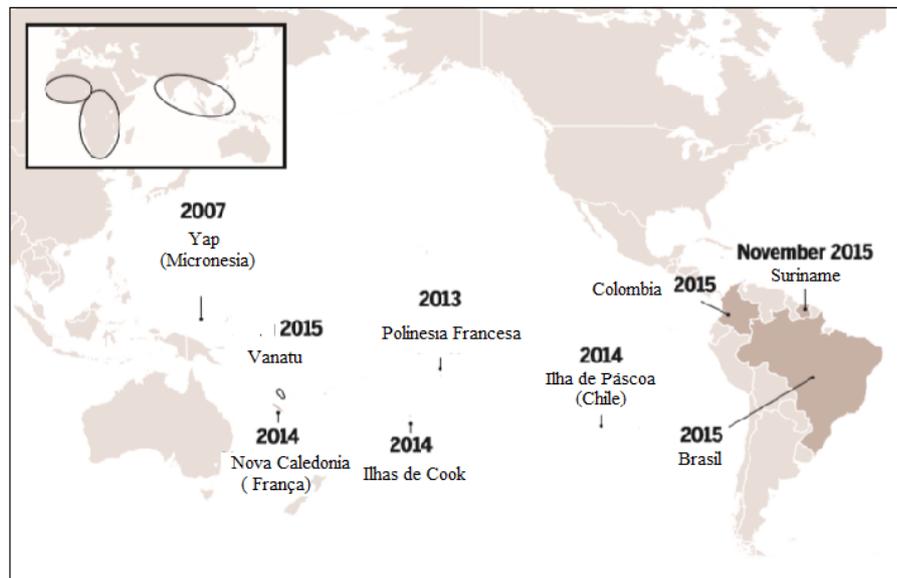
O vírus Zika é um Flavivírus, sua denominação refere-se ao lugar onde vírus foi isolado, na floresta Zika em Uganda (BRASIL, 2015). Os sintomas mais comuns são febre, erupção cutânea, dor nas articulações e olhos vermelhos. Surtos dessa virose são comuns na África, sudeste da Ásia e ilhas do Pacífico. (CDC, 2015). Esse vírus, antes restrito a essas regiões, se espalhou para outros continentes, sendo encontrado na Oceania e até nas Américas (ENSERIN, 2015) (Figura 7).

Em 2007 foram notificados casos de Zika na ilha de Yap, na Micronésia, esse foi o primeiro caso de infecção por esse vírus fora da África e Ásia (DUFFY, et al. 2009). Em 2014, ele chegou na Polinésia Francesa, onde 30 mil pessoas foram infectadas. Durante esse surto, manifestações não benignas foram observadas, pessoas foram hospitalizadas com agravamentos da doença e em algumas foi observado a Síndrome de Guillain-Barré (ENSERIN, 2015).

Em maio de 2015, o vírus foi detectado no Brasil e a Organização Panamericana de saúde (PAHO, 20015a) emitiu um alerta sobre o primeiro caso de infecção por vírus Zika no país. No Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências da Saúde (ICS/UFBA), o vírus foi identificado em amostras de sangue de pacientes de Camaçari – BA. O Instituto Evandro Chagas confirmou 16 casos suspeitos para o vírus, metade das amostras eram provenientes da

Bahia e a outra metade do Rio Grande do Norte. A comunicação da introdução do Zika vírus na parte continental das Américas foi realizada pelo Ministério da Saúde, através dos procedimentos estabelecidos pela Organização Panamericana de Saúde (PAHO, 2015a). Segundo Vasconcelos (2015) o vírus Zika, possivelmente, foi introduzido no Brasil, em 2014, durante o período da Copa do Mundo.

Figura 7. A dispersão do vírus Zika, que até 2007 estava restrito a regiões África e Ásia (no detalhe) e sua movimentação pelos continentes.

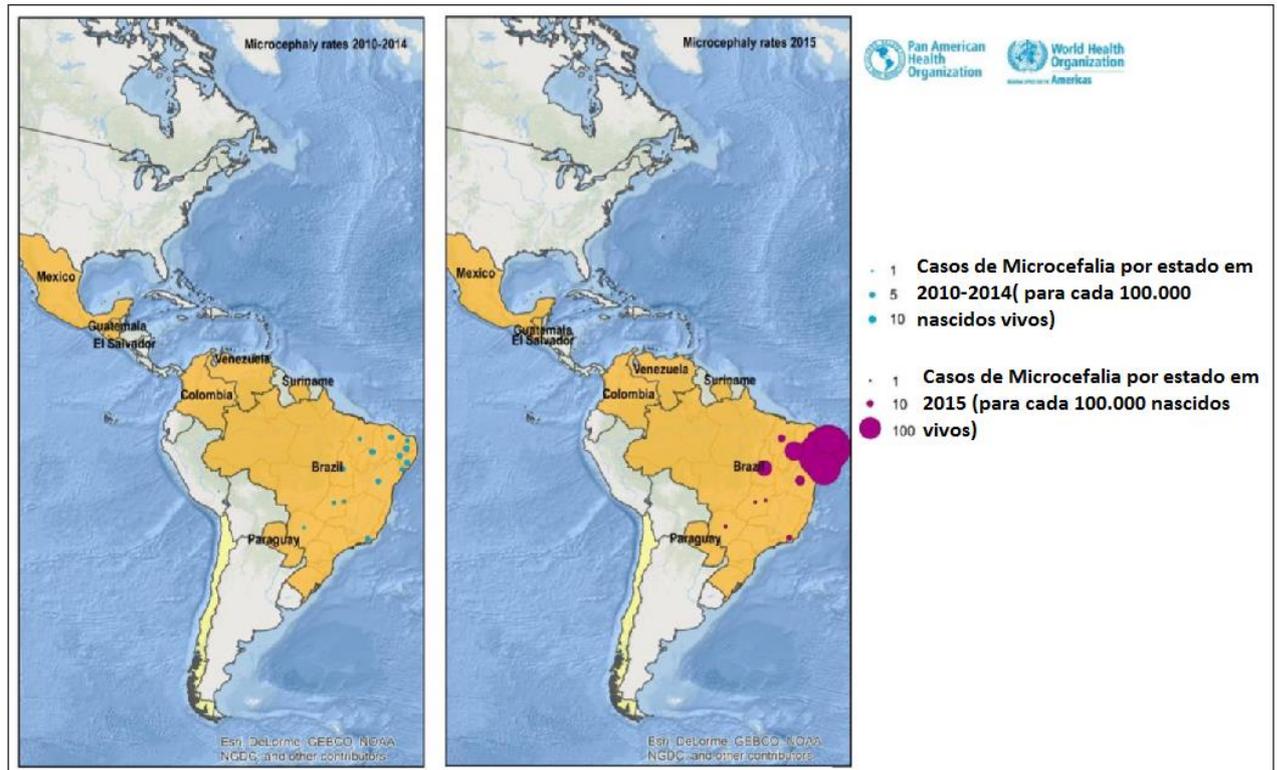


<<http://news.sciencemag.org/biology/2015/11/obscure-mosquito-borne-disease-goes-global>>. (Modificado).

Até pouco tempo, não se tinha muito conhecimento sobre o vírus Zika, pouco se sabia sobre as infecções causadas por esta virose e suas complicações. Com a sua dispersão veio também novas descobertas. Na Polinésia Francesa, ele foi encontrado no sêmen de um paciente, no Taiti foi documentado um caso de transmissão de mãe para filho, durante o parto e o vírus também foi encontrado em doadores de sangue assintomáticos (ENSERIN, 2015).

Recentemente foi enviado um alerta Epidemiológico da Organização Mundial de Saúde e Organização Panamericana de Saúde relacionando um aumento no número de síndromes neurológicas e anomalias congênitas, com infecções por vírus Zika. No Brasil foi registrado um aumento no número de casos de microcefalia em 2015. Em 14 estados brasileiros foram 1.248 casos notificados até novembro de 2015, que corresponde a 99,7/100.000 nascidos vivos. No ano de 2010 a incidência foi de 5,7 casos/ 100.000 nascidos vivos, e em 2000, 5,5/100 nascidos vivos (PAHO, 2015b). (Figura 8).

Figura 8. Casos de Microcefalia nos estados brasileiros de 2010-2014 e no ano 2015.



Fonte: PAHO, 2015b (modificada)

A associação do vírus Zika com a microcefalia foi sugerida depois que o seu genoma foi encontrado em amostras de líquido amniótico de duas mulheres grávidas na Paraíba, onde os fetos haviam sido diagnosticados com microcefalia. A relação entre o aumento da ocorrência de microcefalia e infecção pelo vírus Zika foi confirmada, quando o genoma do vírus foi encontrado em amostras de sangue e tecidos de um bebê, no estado do Pará. A criança apresentava microcefalia e outras anomalias congênicas e morreu pouco tempo depois de nascer (PAHO, 2015b). No Brasil esse vírus também foi associado a doenças neurológicas, dentre elas a Síndrome de Guillain-Barré e alguns óbitos foram confirmados (PAHO, 2015b).

Em 2016 a transmissão autóctone de febre pelo vírus Zika continua sendo identificada (Figura 9). Três óbitos já foram notificados, um no estado do Maranhão, um no Pará e outro no Rio Grande do Norte (BRASIL, 2016b).

Figura 9. Estados brasileiros com casos autóctones de febre pelo vírus Zika com confirmação laboratorial em 2016.



Fonte: Sinan e Secretarias Estaduais de Saúde (atualizado em 10/02/2016).

Fonte: BRASIL, 2016b

1.2 Controle Vetorial

A descoberta de que insetos e outros artrópodes estavam associados a transmissão de doenças ocorreu no final do século XIX e nessa época vacinas e medicamentos para prevenção e tratamento nem sempre estavam disponíveis, muitas vezes o controle do vetor era o principal método utilizado para controlar a transmissão de doenças (WHO, 1997).

O controle vetorial é definido como um processo para diminuir a população de um vetor, limitando a sua capacidade de transmissão de doenças (WHO, 1992). Pode ser feito aplicando-se diferentes estratégias, que podem ser mecânicas, químicas ou biológicas. No controle mecânico ou controle ambiental, o ambiente é modificado para impedir a sobrevivência dos mosquitos, como por exemplo evitar o acúmulo de água e formação de criadouros. O controle químico é feito com a aplicação de substâncias químicas, denominadas inseticidas. No controle biológico, utiliza-se organismos vivos, considerados inimigos naturais, para eliminar ou reduzir a proliferação dos insetos, como exemplo temos a utilização de peixes larvívoros e as bactérias. A integração de todas essas medidas forma o denominado controle integrado de vetores, que foi proposto pelos órgãos de saúde para obtenção de um controle mais eficaz, econômico e seguro (PAHO, 1995).

Alguns laboratórios estão desenvolvendo o controle genético, que utiliza machos estéreis para reduzir a fertilidade da população de insetos e a produção de cepas não susceptíveis aos agentes causadores das doenças. Esses métodos ainda estão em estudo e não

foram incorporados aos programas de controle (FUNASA, 2001). O controle químico, com o uso de inseticidas é uma das principais ferramentas adotadas no controle integrado de vetores nos Programas de Saúde Pública (WHO, 1997). Nas últimas décadas, os inseticidas foram uma importante ferramenta na luta contra as doenças transmitidas por vetores, salvando milhares de vidas. Foi uma das estratégias utilizadas para a erradicação do *Ae. aegypti*, em 1955 (FUNASA, 2001). O uso de inseticidas também ajudou no combate a outras doenças importantes, como por exemplo a malária, que teve uma redução no número de mortos em 25%, onde a pulverização residual e os mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração contribuíram para essa redução (KARUNAMOORTHI; SABESAN, 2013).

1.2.1 Controle químico

Substâncias químicas como arsênio e enxofre já eram utilizadas no controle de insetos vetores pelos gregos, romanos e chineses, mas o seu uso pelos outros povos só ocorreu em 1867, através do chamado verde-Paris. O inseticida era a base de arsênio e comercialmente preparado para uso contra várias pragas. Até 1940, as substâncias químicas para uso no controle de vetores limitavam-se a produtos inorgânicos e óleos de petróleo. Durante a Segunda Guerra Mundial foi desenvolvido o primeiro inseticida orgânico sintético de efeito residual, o diclorodifeniltricloroetano (DDT), dando início a um novo método para controle de insetos (SUCEN, 2001).

O DDT é um composto organoclorado de efeito residual, eficiente para matar os mosquitos que descansam no interior das residências, permanecendo ativo por vários meses, após sua aplicação nas paredes. Devido a sua eficácia e baixo custo foi utilizado em larga escala, na agricultura e nos programas de saúde para a erradicação de vetores (WHO, 1997). No Brasil, esse composto foi adotado em 1947 para o combate do *Ae. aegypti*, colaborando para a sua erradicação (FUNASA, 2001).

A partir da década de 1950, em várias partes do mundo foi observado a resistência ao DDT, doses pesadas já não conseguiam controlar os insetos e também foi observado que esta substância não era metabolizada pelos animais, ficando durante anos acumulados nos tecidos e no ambiente. Após a descoberta de resistência aos organoclorados outros inseticidas como os organofosforados e carbamatos passaram a ser utilizados. Eles foram desenvolvidos, respectivamente, nas décadas de 40 e 50 (SUCEN, 2001).

Em 1976, uma nova classe de inseticidas passou a ser utilizada, os chamados piretróides, produtos sintéticos e análogos aos compostos obtidos a partir de substâncias vegetais. Esses compostos têm maior capacidade letal para os insetos e suas propriedades

físicas e químicas são melhores, sendo mais estáveis à luz e ao calor e ainda apresentam menor volatilidade. Apesar de serem mais caros, tomaram rapidamente o lugar dos organofosforados e passaram a ser empregados na agricultura e em programas de saúde, são mais eficientes e usados em pequenas doses, que resulta em menor contaminação durante suas aplicações (SUCEN, 2001).

Na maioria dos programas de controle de adultos de *Ae. aegypti* são empregadas duas modalidades de controle químico, a borrifação de inseticidas de ação residual ou tratamento perifocal e a aplicação espacial de inseticidas a Ultra Baixo Volume (UBV). A UBV não possui ação residual e ainda é influenciada por fatores como vento, chuva e temperatura. Seu uso indiscriminado pode afetar outros insetos não alvo e não elimina mais que 80% da população (FUNASA, 2001)

Todas as formas de controle químico utilizadas atualmente para as formas adultas de *Ae. aegypti* utilizam inseticidas como fenitrothion e malation (classe dos organofosforados) e cipermetrina e a deltametrina (classe dos piretróides). De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde, o mosquito tem apresentado resistência a esses compostos e essa situação pode representar um obstáculo para os programas de controle desse vetor, que utilizam essas substâncias. Assim faz se necessário o monitoramento da resistência dos mosquitos a estes inseticidas e a descoberta de novas ferramentas que possam ser usadas no controle vetorial (WHO,2012).

1.2.2 Iscas atraentes açucaradas tóxicas

A utilização de iscas para combater alguns insetos indesejáveis é uma metodologia que já vem sendo utilizada há algum tempo (LEA, 1965). Esse método comprovadamente eficiente para baratas e formigas, vem sendo testado para o controle de insetos vetores de doenças e tem apresentado resultados promissores (MULLER et al. 2010).

As primeiras pesquisas foram realizadas em Israel, no Centro de Estudos de Doenças Tropicais e Infecciosas da Universidade Hebraica de Jerusalém, pelo Professore Yosef Schlein e o Dr. Muller Gunter. Os pesquisadores descobriram que os mosquitos são atraídos pelos odores de plantas e frutos, que podem ser usados como atraentes e associados com o açúcar e um inseticida de uso oral formam uma isca atraente açucarada e tóxica (HUIJ, 2010).

Um estudo com populações de mosquitos da malária, demonstrou que o método é simples, seguro e eficiente. A pesquisa foi realizada em Mali, na África e contou com a colaboração de pesquisadores da Universidade de Miami, Florida e da Universidade de Bamako, Mali, (HUIJ, 2010). Nesse estudo, com apenas uma aplicação da isca, houve uma

redução de 90% nas densidades de machos e fêmeas de *Anopheles gambiae*. Após a sua aplicação, em uma semana, a população de mosquitos diminuiu rapidamente e manteve-se baixa até o final das observações (MULLER et al. 2010a).

As iscas atraentes açucaradas tóxicas utilizam o comportamento de busca alimentar dos mosquitos, que na procura por um alimento açucarado, são atraídos pela isca e morrem após a sua ingestão, tendo um grande impacto na população de mosquitos vetores, pois tem como alvo machos e fêmeas. Para os machos, o açúcar é o único recurso alimentar, que na natureza, pode ser obtido principalmente de nectários florais e extraflorais, tecidos de plantas, líquidos açucarados secretados por outros insetos e frutos danificados (FOSTER, 1995).

As iscas utilizadas no controle de mosquitos são diferentes das que são usadas para baratas e formigas, na sua composição além do açúcar também têm substâncias atraentes, como sucos frutas e por isso ela não é simplesmente uma isca tóxica, mas sim uma isca açucarada atraente tóxica. O açúcar, odores de plantas ou frutos e um inseticida são basicamente os ingredientes que compõem a isca e cada um desses compostos têm uma função específica e para fins de uma melhor compreensão textual esse tipo de isca será denominada na sequência, apenas de isca tóxica.

Açúcar

Os açúcares extraídos dos vegetais são fontes de energia para os insetos e estão intimamente relacionados com a sobrevivência, inclusive das fêmeas, que não usam exclusivamente o açúcar como fonte de alimento (FOSTER, 1995). Fêmeas de *An. gambiae* alimentadas com sacarose e sangue apresentaram uma maior longevidade do que quando alimentadas apenas com sangue, o que mostra que esse alimento tem uma importância significativa na sua capacidade vetorial (GARY; FOSTER, 2001). O mesmo também foi observado para a longevidade de *Ae. albopictus*, onde a disponibilidade de açúcar resultou em um aumento na sobrevivência de 6 a 8 vezes, mostrando que esse recurso alimentar parece ser mais importante do que o sangue (XUE; BARNARD,; MULLER, 2010). Nos primeiros dias após a emergência, a alimentação açucarada é predominante. Nesse período, em testes com olfatômetro de dupla escolha, para machos e fêmeas de *An. gambiae*, a resposta ao néctar foi mais forte do que para os voláteis humanos (FOSTER; TAKEN, 2004).

Para os machos de *An. gambiae* a disponibilidade de açúcar mostrou ser importante para sobrevivência e reprodução, afetando a capacidade de voo, a ereção das fimbrias das antenas, o enxameamento e a capacidade de inseminação (GARY; CANNON, FOSTER, 2009). Quando machos de *Ae. albopictus* tiveram alimentação açucarada por dois a três dias

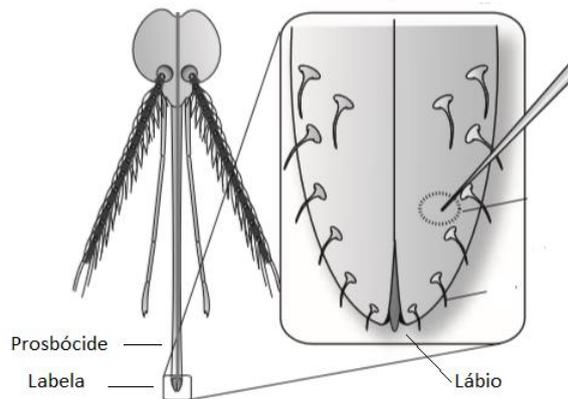
após a emergência, a longevidade, o número de acasalamentos e o volume de espermatozoides transferidos foram significativamente maiores, comparados com aqueles que não se alimentaram ou o tiveram por um único dia (VILLIARD; GLAUGLER, 2015).

Para os insetos vetores, a disponibilidade de fontes de açúcar no ambiente pode ter uma grande importância na regulação da dinâmica das populações. Comparando a população de *An. sergentii* em locais com diferenças na oferta de açúcar, foi observado nos locais com maior disponibilidade de açúcar um número maior de fêmeas mais velhas, taxas de sobrevivência mais altas, maior número de ciclos gonotróficos e uma capacidade vetorial muito mais elevada, (GU et al., 2011).

Esses trabalhos mostram que o açúcar é indispensável para os mosquitos, garantindo a sua sobrevivência. Estratégias que usam o comportamento de busca de carboidratos pelos mosquitos têm mostrado resultados promissores no controle de mosquitos vetores. Lea (1965) avaliou o potencial de iscas açucaradas com inseticidas residuais para o controle de *Ae. aegypti*. O inseticida malation foi associado a 20% de xarope Karo, o que resultou em um aumento significativo da mortalidade. Até as concentrações mais baixas do inseticida, quando associado ao açúcar, resultaram em mortalidade e o seu efeito residual foi consideravelmente prolongado. Na comparação entre o efeito do inseticida bifentrina associado com solução de sacarose ou água, a mortalidade de fêmeas de *Culex quinquesfasciatus* com a bifentrina com sacarose foi significativamente superior a bifentrina com água. O açúcar aumentou significativamente a ingestão e mortalidade dos mosquitos (ALLAN, 2011).

Na isca tóxica o açúcar age como um fagoestimulante, induzindo o mosquito a se alimentar. Nos mosquitos, a ingestão desse alimento é regulada pelos receptores gustativos presentes nas sensilas localizadas nos tarsos e no aparelho bucal (Figura 10). Quando os tarsos entram em contato com uma fonte açucarada as sensilas são estimuladas e a probóscide é movimentada em direção ao estímulo. A ponta da probóscide é colocada em contato com o alimento e as sensilas da superfície dorsal da labela são estimuladas, ocorrendo a separação dos seus lóbulos. A estimulação das sensilas da labela e do lábio dão início a sucção, que é feita através da ação combinada das bombas do cibário e da faringe (CLEMENTS, 1999).

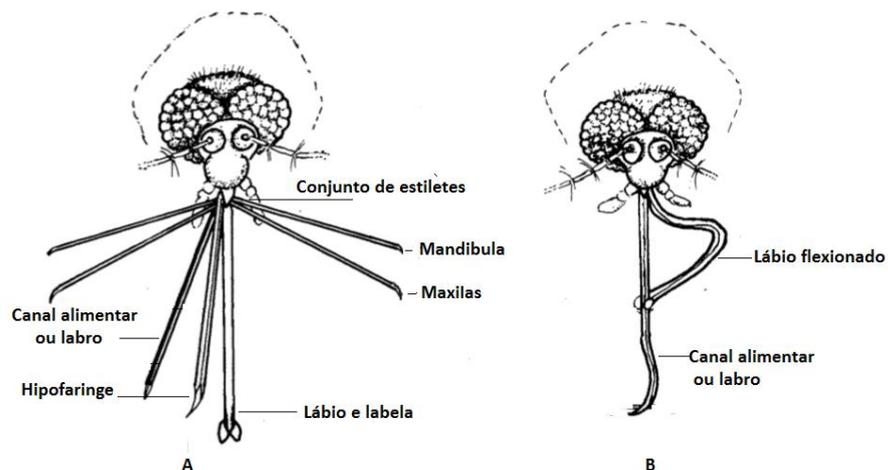
Figura 10. Aparelho bucal dos mosquitos e a localização das sensilas gustativas envolvidas na estimulação da alimentação açucarada.



(TAKKEN e KNOLS, 2010 Modificada)

Na alimentação açucarada, diferente do que ocorre na alimentação sanguínea, não ocorre a flexão do lábio (CLEMENTS, 1999). Muller e Schlein (2005) observaram fêmeas de *An. sergentii* e *Culex pipiens* se alimentando em caules e folhas de alcaparras, através da perfuração direta nos tecidos de plantas não danificadas. O modo de alimentação desses mosquitos foi semelhante ao modo que se alimentam de sangue. A ponta do feixe de estiletos foi introduzida no tecido da planta e depois de separado dos demais estiletos sofreu um leve dobramento. Houve uma penetração superficial e a flexão do lábio foi muito menor do que ocorre na alimentação sanguínea.

Figura 11. Aparelho bucal de mosquitos. A: estruturas picadoras das fêmeas; B: Flexão do lábio durante a alimentação.

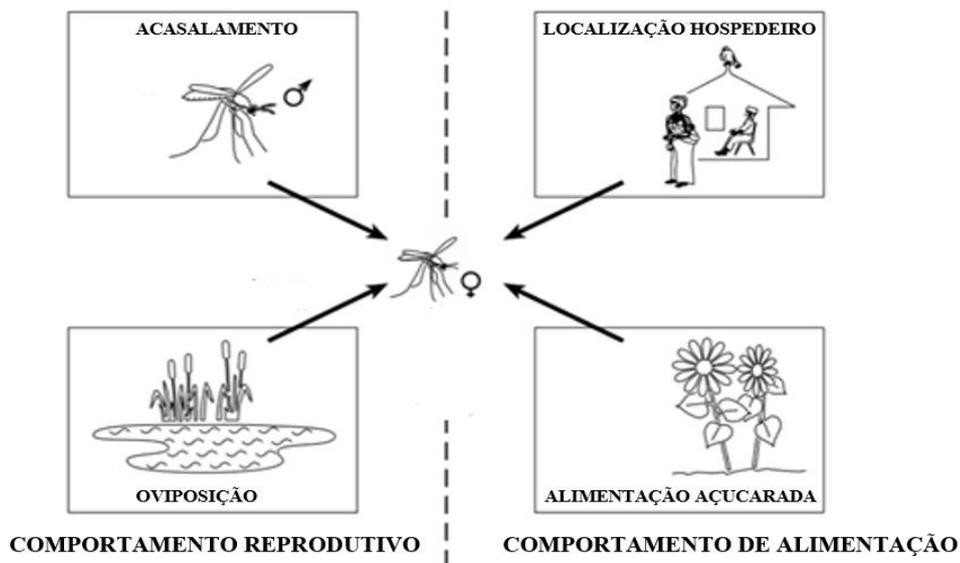


(CONSOLI; LOURENÇO, 1994. Modificada).

Atraentes

O comportamento dos mosquitos é afetado por sinais externos como temperatura, umidade, elementos visuais e o odor, considerado o mais importante (ZWIEBEL; TAKKEN 2004). Nos insetos, as substâncias químicas estão envolvidas na maior parte das comunicações, sendo responsáveis pelo comportamento reprodutivo, de defesa, localização do alimento e seleção do hospedeiro e nos insetos sociais também estão envolvidos na organização da colônia (CORRÊA; SANTANA, 2007). De todos os seres vivos, esses organismos são os que mais dependem do odor para desenvolver suas atividades (VILELA; DELLA LUCIA 2006). Comportamentos importantes para a sobrevivência e manutenção da espécie, como acasalamento e oviposição também são mediados pelo olfato (TAKKEN e KNOLS, 1999) (Figura 12).

Figura 12. Comportamentos dos mosquitos e o olfato.

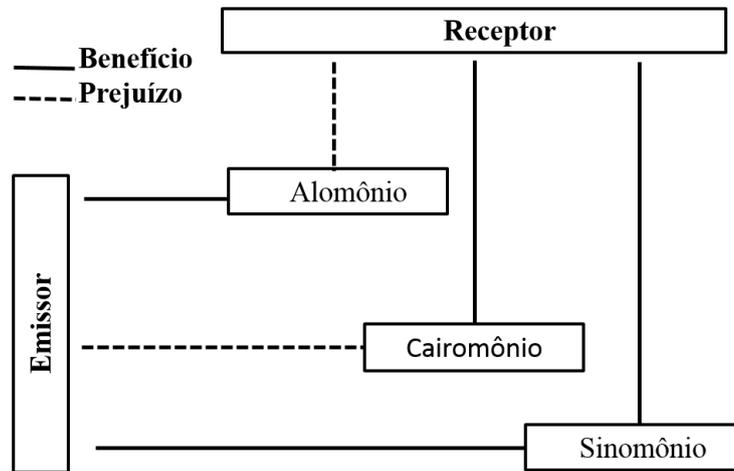


Fonte: (TAKKEN e KNOLS, 1999 modificado)

A localização das iscas tóxicas pelos mosquitos, assim como outros comportamentos, é guiada por substâncias que irão estimular o olfato do inseto. Substâncias usadas na comunicação dos mosquitos e de diversos outros animais, são denominadas de semioquímicos. Os semioquímicos podem estar relacionados na comunicação entre espécies diferentes (comunicação interespecífica) e são denominados aleloquímicos. Quando a comunicação é entre indivíduos da mesma espécie (comunicação interespecífica) são chamados de feromônios. Os aleloquímicos podem ser classificadas em três tipos: alomônios, onde quem se beneficia é apenas o emissor; cairomônios, no qual apenas o receptor é

beneficiado; e sinomônios, que ambas espécies são beneficiadas (VILELA; DELLA LUCIA 2001) (Figura 13).

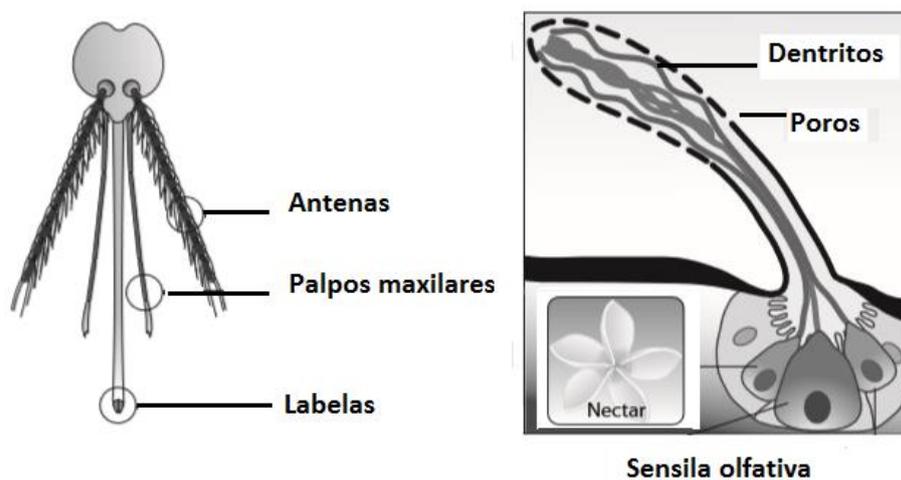
Figura 13. Representação esquemática dos critérios de classificação dos aleloquímicos.



(ZARBIN, P.H.; RODRIGUES, A. C. M; LIMA E.R., 2009)

Os insetos possuem receptores olfativos nas antenas, palpos maxilares e na labela e são ativados na presença de determinados odores. Esses receptores estão localizados em estruturas denominadas sensilas olfativas, que são pequenos orifícios na cutícula, onde se encontram os dendritos de neurônios olfativos. As moléculas de odor transportam informações que são codificadas em sinais elétricos pelos neurônios sensoriais presentes dentro das sensilas. A ativação de diferentes neurônios sensoriais pelo odor é a base para a codificação neural e transformação da informação pelos centros da via olfativa (TAKKEN e KNOLS, 2010) (Figura 14).

Figura 14. Localização dos receptores olfativos nos mosquitos.



(TAKKEN e KNOLS, 2010. Modificada)

Para os insetos polinizadores, os voláteis de plantas são considerados sinomônios, para os mosquitos, eles agem na maioria das vezes como cairomônios, podendo ser considerados ladrões de néctar (FOSTER, 2008). De acordo com Metcalf e Korgan (2008), a utilização de compostos voláteis de plantas foi uma das primeiras experiências com semioquímicos. As propriedades atraentes do óleo de citronela para machos da mosca *Dacini dorsalis* e as do óleo de semente de *Angelica officinalis* para a espécie *Ceratitis capitata* são os primeiros registros do uso de cairomônios no controle de insetos.

Na natureza, os mosquitos se alimentam de plantas e frutos que são atrativos para esses insetos (MULLER et al. 2010a). A utilização de semioquímicos dessas plantas em armadilhas é uma estratégia que está sendo redescoberta e estudos que avaliam a atratividade dos mosquitos por determinadas espécies vegetais estão sendo realizados.

Os trabalhos de Muller e Schlein (2006) revelaram que as flores de *Acacia raddiana*, *Tamarix nilotica* e *Ochrademus baccatus* são atrativas para *An. sergentii*. Usando uma armadilha de cola e como iscas, frutos e galhos de plantas, Muller et al. (2010a) identificaram a preferência de *An. gambiae* por frutos de melão e goiaba e pela planta *Acaccia macrostachya*. Nas armadilhas que continham essas espécies foram capturados o maior número de mosquitos (MULLER et al., 2010a).

Em outro estudo, as espécies *Parthenium hysterophorus* L., *Tecoma stans* L., *Ricinus communis* L., e *Senna didymobotrya* F. também foram as indicadas como atraentes para *An. gambiae*. Em algumas dessas plantas, os mosquitos se alimentavam principalmente nas flores, em outras a alimentação era mais frequente em folhas e caules (MANDA et al., 2007a). Posteriormente, a relação entre a preferência do mosquito com sua sobrevivência e fecundidade foi determinada, indicando maior longevidade e produção de ovos nas plantas de sua preferência (MANDA et al., 2007b). Essa diferença na aptidão dos mosquitos pode estar associada a qualidade dos açúcares presentes em cada espécie vegetal. No néctar predomina o dissacarídeo sacarose e os monossacarídeos D- frutose e D- glicose. Em algumas famílias de vegetais, o néctar é mais rico em sacarose, enquanto que em outras, a frutose e a glicose são mais abundantes (CLEMENTS, 1999).

Inseticida

As iscas tóxicas oferecem riscos mínimos ao meio ambiente, porque utilizam inseticidas de uso oral e tem baixíssimo impacto nos insetos predadores, que não se alimentam de vegetais (QUALES et al., 2014). Alguns autores (REVAY et al., 2014 e KHALLAYONE et al., 2013) testaram impacto dessas iscas em algumas ordens de insetos

importantes como Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Ortoptera e Neuroptera. Quando aplicada em vegetação sem floração, mostrou pouco impacto nos insetos não alvo, revelando que o verde da vegetação não fornece alvo atrativo para os insetos polinizadores (KHALLAYONE et al., 2013). Quando os insetos predadores foram alimentados com mosquitos ingurgitados com as iscas aplicadas na vegetação, não foi observada nenhuma mortalidade (QUALES et al., 2014).

Alguns inseticidas orais já foram testados com sucesso em iscas tóxicas, dentre eles: espinosade, para *An. sergentii* (MULLER; SCHLEIN, 2006) e *Culex pipiens* (SCHLEIN; MULLER, 2008); eugenol, em *Ae. albopictus* (REVARY et al., 2014), *Ae. aegypti*, *Culex quinquesfasciatus* e *Anopheles quadrimaculatus* (QUALLS et al., 2014); dinotefuran, para *Ae. aegypti* e *Cx. quinquesfasciatus* (KHALLAYONE et al., 2013) e ácido bórico, para *An. sergentii* (BEIER et al., 2012), *An. gambiae* (MULLER et al., 2010a), *Ae. albopictus* (NARANJO et al., 2013) e *An. quadrimaculatus* (XUE; BARNAD 2003).

Devido a sua baixa toxicidade, o ácido bórico tem sido bastante utilizado nesse tipo de isca. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a classificação de risco desse inseticida se enquadra na categoria III, apresentando pouco toxicidade (WHO, 2009).

O elemento químico boro é o seu componente essencial, que está naturalmente no ambiente, para plantas e alguns organismos é um nutriente essencial (FISHEL, 2014). É encontrado em altos níveis no algodão (30ppm), frutas cítricas após colheita (8ppm) e no repolho roxo (200 a 300ppm) (EPA, 1993). De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), esse composto é praticamente não tóxico para aves, peixes, invertebrados aquáticos e relativamente não tóxica para alguns insetos benéficos (EPA, 1993).

O ácido bórico é um inseticida inorgânico, não contém carbono em sua estrutura molecular (H_3BO_3), é quimicamente estável, solúvel em água, não evapora e em seu estado natural é um cristal branco (WARE, 2002). Normalmente é utilizado no controle de baratas e formigas e em formulações para o tratamento de madeira para preservação e proteção contra cupins.

O ácido bórico é um inseticida de ação lenta e seu modo de ação ainda não foi totalmente elucidado. Cochran (1994) relatou que a ingestão de ácido bórico destruiu completamente as células do intestino médio das baratas alemãs, *Blattella germanica*. O efeito do ácido bórico em baratas alemãs também foi investigado por Habes e colaboradores (2006) e além de alterações nas células do intestino médio, também foi atribuída ação neurotóxica a essa inseticida. O ácido bórico provocou a redução de acetilcolinesterase e glutathione-S-transferase. A acetilcolinesterase tem papel importante na neurotransmissão

fazendo a hidrólise da acetilcolina nas sinapses colinérgicas do sistema nervoso, vários inseticidas neurotóxicos agem nesse local.

Fishel (2014) ainda relata a ação do ácido bórico como um dessecante, adsorvendo a cera do exoesqueleto do inseto.

1.2.3 Iscas tóxicas no controle de insetos vetores

Para a redução de populações de mosquitos vetores de doenças, as iscas tóxicas têm formas diferentes de aplicação: pulverizada sobre a vegetação (MULLER et al., 2010a); em cercas revestidas com a isca (MULLER; SCLHEIN, 2011); e estações de iscas simples (REVAY et al., 2014) (Figura 15).

A isca aplicada na superfície das folhas irá formar depósitos cristalinos, mas mesmo assim poderá ser ingerida pelos mosquitos. Eles podem sugar cristais secos de sacarose, através da saliva que flui pelo aparelho bucal. A maioria dos depósitos de *honeydew* (secreção açucarada eliminada pelos afídeos) estão secos e eles descarregam a saliva quando vão se alimentar deles (CLEMENTS, 1999).

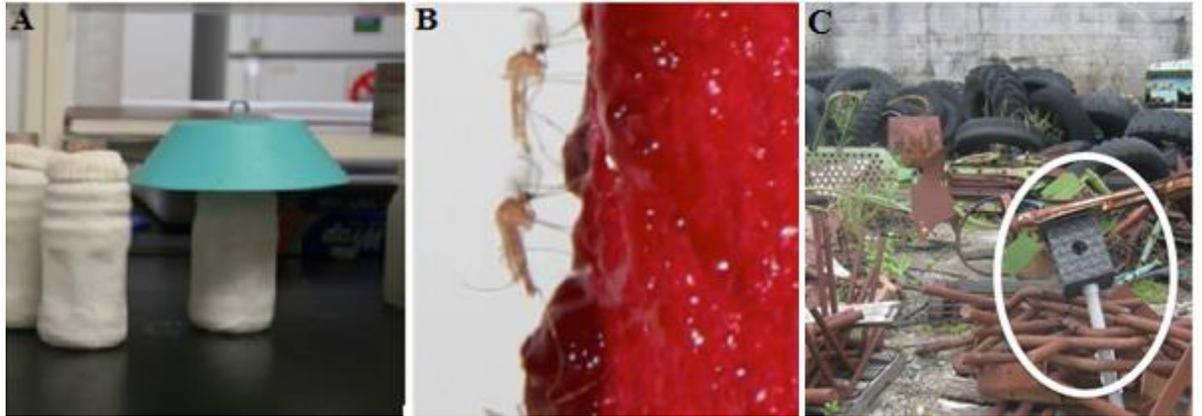
As iscas tóxicas também podem ser utilizadas em ambientes residenciais para redução de mosquitos endofílicos, podendo ser colocadas no interior das casas (QUALLS et al., 2015) ou em locais próximos das residências (REVAY et al., 2014) (Figura 16).

Figura 15. Formas de aplicação da isca tóxica



Isca pulverizada na vegetação (A), cercas embebidas com a isca (B) e estações simples (C). Fonte: MULLER; SCHLEIN, 2011.

Figura 16. Forma de aplicação da isca tóxica em ambiente doméstico.



Garrafa pet coberta com um tecido (A), tecido embebido com a isca e mosquito se alimentando (B) e estação simples dentro de um suporte de metal (C). Fonte: QUALLS et al., 2015 e REVAY et al., 2014

As iscas tóxicas foram testadas com sucesso no controle de vários mosquitos vetores, como *Cx quinquesfasciatus* (KHALLAYONE et al., 2013); (QUALLS et al., 2014) e *Oc. taeniorhynchus* (XUE et al., 2008), *An. sergentii* (BEIER et al., 2012; MULLER; SCHLEIN, 2006), *Cx. pipiens* (SCHLEIN; MULLER, 2008), *Ae. albopictus* (NARANJO et al., 2013; REVARY et al., 2014), *An. gambiae* (MULLER et al., 2010a), *An. quadrimaculatus* (QUALLS et al., 2014; XUE; BARNAD 2003).

Diante desses resultados e a importância epidemiológica do mosquito *Ae. aegypti* para a saúde pública, o presente trabalho espera contribuir com mais uma importante ferramenta no controle desse vetor.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o efeito das iscas atraentes açuradas tóxicas contra *Ae. aegypti* em experimentos de laboratório.

2.2 Objetivos específicos

- Estimar as Concentrações Letais (LCs 50 e 90) do ácido bórico para uso oral em adultos de *Ae. aegypti* colonizado em laboratório ;
- Avaliar o efeito de três diferentes formulações de iscas tóxicas com as frutas (goiaba, manga e cupuaçu) na mortalidade de *Ae. aegypti*.
- Avaliar a mortalidade de *Ae. aegypti* após borrifação das iscas tóxicas em plantas em condição que simulam um ambiente doméstico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e criação dos insetos

Os ovos que deram origem à colônia de *Ae. aegypti* foram coletados com armadilhas de oviposição (ovitampas) em um ponto de captura de insetos utilizado pelo Laboratório de Bioecologia de Insetos (LaBEIn). O local fica numa região periurbana do município de Porto Velho-RO (Latitude: 9°18'55.51"S / Longitude: 64°32'44.96"W).

Os ovos foram levados para o laboratório (LaBEIn) e criados de acordo com metodologia adaptada de Gomes e colaboradores (2006), conforme descrito a seguir. A eclosão ocorreu em cubas plásticas, com aproximadamente cinco centímetros de profundidade, contendo água mineral e as larvas alimentadas com ração de réptil (Reptolife®). Quando as larvas alcançavam o estágio L2 ou L3 foram transferidas para potes de plástico de 2 L e telados com tela de nylon. Nesses potes, a água com as larvas preenchia apenas aproximadamente $\frac{1}{4}$ da sua capacidade, para que depois que emergissem, os adultos pudessem ficar pousados na superfície superior do recipiente (Figura 17). Diariamente os adultos eram removidos com capturador de castro e colocados em gaiolas confeccionadas com o mesmo material utilizado na gaiola de criação de larvas. A água de criação foi trocada de dois em dois dias e os adultos foram alimentados diariamente com sacarose 10%. O insetário foi mantido a $27,0 \pm 2$ °C, $70,0 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotoperíodo de 12L:12E.

Figura 17. Gaiola utilizada na criação de *Aedes aegypti*, contendo larvas, pupas e adultos.



Fonte: Daiane Silva Barbosa.

Os mosquitos foram identificados através da análise das características morfológicas externas (escamas do tórax) (CONSOLI; LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994). Depois da identificação, as fêmeas receberam alimentação sanguínea para maturação dos ovócitos. No

repasto sanguíneo foi utilizado sangue humano em alimentadores artificiais, com aprovação do Conselho de Ética em Pesquisa pelo protocolo de número CAAE 53019215. 40000.5300.

Depois de três dias, tempo necessário para digestão do sangue, foi oferecido condições apropriadas para oviposição. Recipientes pretos, envoltos com papel filtro e com um pouco de água mineral foram adicionados nas gaiolas contendo as fêmeas alimentadas.

Os ovos foram reservados e os todos os adultos foram submetidos a testes para a identificação da presença de arbovírus. Os mosquitos foram anestesiados com acetato, armazenados em tubos plásticos de 1,5 ml (ependorfs) e acondicionados em freezer a -70 °C até o momento das análises. Os testes foram realizados no Laboratório Central de Saúde Pública de Rondônia (LACEN –RO) e para a detecção de vírus foi utilizada a metodologia de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR).

Cinco amostras representadas por pools de 10 indivíduos foram maceradas, parte do macerado de cada amostra teve o RNA extraído, seguindo o protocolo de QIAamp Viral RNA Mini Kit (250). O RNA foi armazenado em freezer a -70 °C, enquanto a outra metade das amostras foram inoculadas em uma cultura de células por um período de 7 dias. Após esse período o RNA da cultura foi extraído, seguindo o mesmo protocolo acima descrito. Assim, foi analisado o RNA retirado diretamente do mosquito e o que foi cultivado na cultura.

Para RT-PCR foi utilizado o protocolo QIAGEN OneStep RT-PCR Kit, nesse processo ocorre a transcrição reversa e a amplificação por PCR (Reação em cadeia da polimerase). Primeiramente o RNA é transcrito em cDNA, através da enzima transcriptase reversa e depois o cDNA é amplificado por PCR usando primers específicos. Inicialmente foram usados primers de triagem para um grupo de arbovirus, entre elas a dengue. O produto amplificado foi visualizado em gel de agarose.

Os ovos dos mosquitos livres de arbovirus, detectado através do RT-PCR, foram criados para obtenção de adultos e a cada geração, parte dos mosquitos eram utilizados nos experimentos propostos por este trabalho e outra parte era reservada para manutenção da colônia.

3.2 Cálculo das Concentrações Letais (LC50 e 90) do ácido bórico

Para avaliar a toxicidade do ácido bórico para a espécie *Ae. aegypti* e o seu potencial como inseticida, foram realizados bioensaios de ingestão. A metodologia utilizada seguiu os critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde, para testes de substâncias larvicidas (WHO, 2005) e testes com adulticidas na pulverização residual de interiores e tratamento de mosquiteiros (WHO, 2006) e algumas publicações da área (LINDH; TERENIUS et al., 2013, BATISTA-PEREIRA, 2007). Foram duas etapas, inicialmente um

teste preliminar avaliou a dose resposta e posteriormente o teste para o cálculo das concentrações letais para 50% e 90% de mortalidade, como descrito por WHO (2006).

Para identificar a faixa de atividade do ácido bórico, sete concentrações foram testadas. Essas concentrações foram escolhidas com base em informações obtidas na literatura sobre a toxicidade do inseticida para outras espécies de mosquitos. O ácido bórico nas concentrações 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75 e 2% foram adicionados à alimentação açucarada dos mosquitos (sacarose 10%). Para diagnóstico da deterrência e observação da ingestão do alimento pelo mosquito foi adicionado corante alimentício na cor verde (BATISTA-PEREIRA, 2007). Uma solução padrão foi preparada com ácido bórico 2%, corante alimentício na proporção (3ml/100ml) e sacarose 10%. Como esta solução, através de diluições seriadas foram obtidas as demais concentrações e uma solução de sacarose 10%, com o mesmo corante, foi utilizada como controle.

Foram testados para cada concentração e o controle, quinze mosquitos de 2 a 5 dias, acondicionados em copos descartáveis (250ml) telados (N=3) (WHO, 2005). Machos e fêmeas foram testados separadamente e os testes ocorreram em paralelo. Os mosquitos foram privados de alimentação açucarada por 24hs, para aumentar o número de mosquitos que se alimentam (LINDH et al., 2013 modificado). A alimentação açucarada, com o ácido bórico nas diferentes concentrações (5 ml) foi oferecida aos mosquitos em discos de algodão de mesmo tamanho.

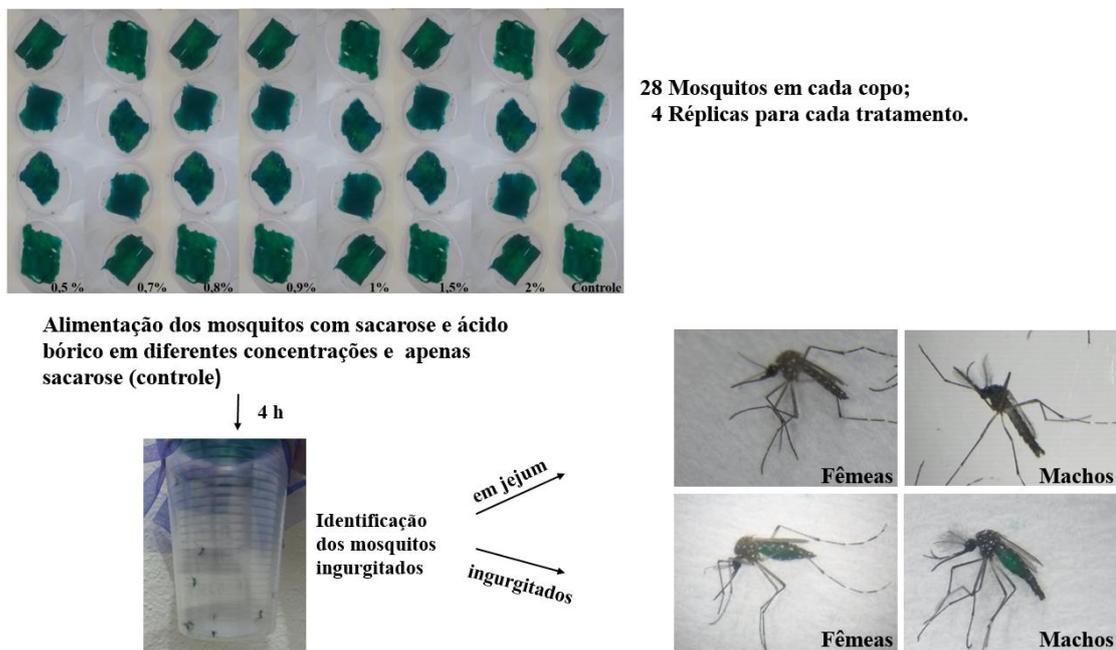
A alimentação dos mosquitos na solução de ácido bórico foi identificada pela presença do corante no seu abdome (LINDH et al., 2013). Os mosquitos que não se alimentaram em um período de 4hs foram descartados e apenas os que ingeriram a substância foram observados. Após a retirada dos algodões contendo a solução de ácido bórico, foi fornecido a alimentação açucarada (sacarose 10%) aos mosquitos diariamente até o final das observações. A mortalidade dos mosquitos foi monitorada em 24, 48, 72 e 96 horas (WHO, 2005).

As concentrações selecionadas para os cálculos dos CLs (CL 50 e CL 90) foram determinadas através dos resultados obtidos nesse teste preliminar, e seguiu os seguintes critérios: pelo menos uma concentração que obteve 100% de mortalidade; duas concentrações que tiveram entre 50 a 99% de mortalidade; e duas entre 5 a 50 % de mortalidade (WHO, 2006).

Assim, as concentrações testadas no experimento que determinou a concentração letal do ácido bórico (CLs₅₀ e CLs₉₀) foram 0,5; 0,7; 0,8; 0,9; 1; 1,5 e 2%. Para cada concentração foram testados vinte e oito mosquitos de 2 a 5 dias, acomodados em copos descartáveis

(400ml) telados. Realizou-se quatro réplicas para cada concentração e controle, que foram repetidas em três dias diferentes e com populações de mosquitos distintos (WHO, 2006). A solução de ácido bórico nas diferentes concentrações foi preparada e oferecida aos mosquitos seguindo a mesma metodologia descrita no teste preliminar (Figura 18). As mortalidades desses mosquitos foram monitoradas em 24 e 48hs (WHO, 2005).

Figura 18. Bioensaio de ingestão para avaliação da toxicidade do ácido bórico em machos e fêmeas de *Ae. aegypti*.



Imagens: Barbosa, D.S

3.3 Preparação das iscas tóxicas e o efeito de diferentes frutas na sua formulação para *Aedes aegypti*.

Foram preparadas três iscas tóxicas com diferentes frutas (manga, *Mangifera indica*, goiaba, *Psidium guajava*, e cupuaçu, *Theobroma grandiflorum*), conforme metodologia modificada de Muller e colaboradores (2010a). A goiaba e a manga foram escolhidas devido aos relatos na literatura de atração de mosquitos por estas frutas. Muller e colaboradores (2011a) identificaram a atratividade de *An. gambiae* por frutos de goiaba e Gouana e colaboradores (2010) para manga. Além desses resultados, a motivação para a utilização da goiaba e a manga foi o fato dessas frutas estarem disponíveis nas estações chuvosas, quando ocorre aumento da população *Ae aegypti*. Não se tem relatos da utilização do cupuaçu em iscas tóxicas, o fruto é típico da região norte brasileira e foi escolhida devido a presença de fortes voláteis. As iscas com manga e goiaba foram preparadas com concentrado de fruta da

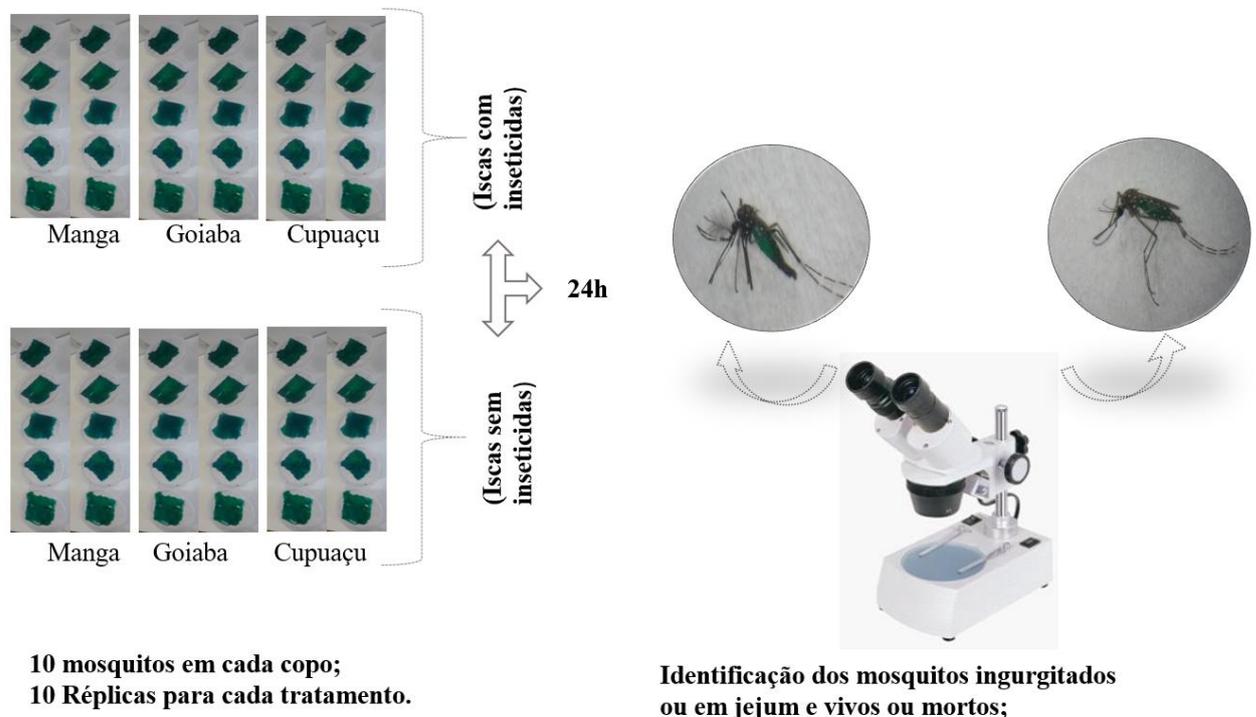
marca MAGUARY e água na proporção 3:1. Para as iscas de cupuaçu utilizou-se a polpa industrializada da marca Brasfrut e água e devido a sua consistência, a proporção foi 1:1.

Nessas soluções foram adicionados açúcar mascavo da marca Quality Life (15%) e corante alimentício na cor verde (3%). As misturas foram colocadas para fermentar em recipientes cobertos por 48hs. Após o período de fermentação foi adicionado o ácido bórico (4%), que como sugerido por WHO (20016) é duas vezes a determinada em nossos testes de toxicidade. Para cada isca com uma diferente fruta, como controle utilizou-se a formulação acima descrita sem o ácido bórico.

Para avaliação do ingurgitamento dos mosquitos nas iscas com as diferentes frutas e a mortalidade dos mesmos, foi utilizada a metodologia modificada de Stewart et al. (2013). Acomodou-se 10 mosquitos de 2 a 7 dias em copos descartáveis (200ml) telados, foram dez réplicas para cada tratamento e controle. Machos e fêmeas foram testados separadamente e os testes ocorreram em paralelo. Os mosquitos foram privados de alimentação açucarada por 24h para aumentar o número de mosquitos alimentados (LINDH et al., 2013 modificado).

As iscas e o controle (5 ml) foram oferecidos aos mosquitos em discos de algodão. Um total de 00 mosquitos (100 machos e 100 fêmeas) foi usado para cada tratamento e controle. Após 24h, os mosquitos foram identificados como alimentados ou em jejum e vivos ou mortos, através da observação do corante em seu abdome, utilizando microscópio para dissecação.

Figura 19. Representação esquemática do bioensaio para avaliação do efeito de três diferentes frutas (goiaba, manga e cupuaçu) na formulação de iscas tóxicas para *Aedes aegypti*



Imagens: Barbosa, D.S

3.4 Efeito da aplicação da isca tóxica em plantas em condições de ambiente doméstico simulado.

Para avaliar a alimentação e mortalidade de *Aedes aegypti* em plantas borrifadas com iscas tóxicas, em condições que simulam um ambiente doméstico comum, foi utilizado a metodologia modificada de Xue e colaboradores (2006). O experimento foi realizado em uma sala (6,75 m/4,95m), onde foram colocadas quatro gaiolas (57cm/39cm/33cm) teladas, contendo dentro de cada uma delas a planta conhecida como Kalanchoê ou calandiva (*Kalanchoe blossfeldiana*), borrifada com uma isca tóxica. Essa espécie foi escolhida devido ao seu tamanho, uso comum na ornamentação em casas, disponibilidade em floriculturas e seu baixo custo.

As iscas foram preparadas seguindo a mesma metodologia descrita no experimento anterior. Três plantas foram borrifadas com uma isca tóxica e cada uma foi preparada com um tipo diferente de fruta. Uma quarta planta foi borrifada com uma isca de manga sem inseticida, que foi utilizada como controle.

Antes das plantas serem borrifadas com as iscas, suas flores foram removidas com uma tesoura, apenas as folhas e caules foram impregnados com a isca. De acordo Xue e colaboradores (2011) o efeito das iscas borrifadas nas folhas e caules, é o mesmo quando aplicado nas flores e ainda tem a vantagem de outros insetos, como os polinizadores, não serem atraídos (KALLAAYANE et al., 2013)

Cerca de 50 ml da isca foi borrifado em cada planta, que foi deixada secar naturalmente por um uma hora e em seguida foram colocadas nas gaiolas. Logo depois, cerca 140-200 mosquitos, (metade de cada sexo), de 2 a 7 dias foram colocados em cada gaiola (Figura 20)

A sala foi mantida sem nenhum controle das condições ambientais, as portas e janelas foram abertas pela manhã e fechadas no final da tarde, simulando um ambiente doméstico, onde os mosquitos normalmente são encontrados. As gaiolas foram mantidas nessas condições por 48hs, onde no final desse período foi avaliado o número de mosquitos mortos em cada gaiola. Esse experimento foi repetido em quatro dias diferentes e usando populações de mosquitos distintas. (Figura 20).

Tabela 1. Número de *Aedes aegypti* machos e fêmeas utilizados no experimento em condições de ambiente doméstico simulado.

Figura 20. Aplicação da isca tóxica na plantas e condições de ambiente doméstico simulado



Planta borrifada com a isca tóxica (A), planta na gaiola contendo os mosquitos (B)

Imagens: Barbosa, D.S.

3.5 Análises Estatísticas

Os dados do CL (50 e 90) foram analisados por Probit (Minitab 17; Minitab inc), essa análise é utilizada para se determinar a concentração letal média, que pode ser definida como quantidade de substância, em mg/kg de massa corporal, necessária para acarretar a morte de 50 e 90% da população amostrada (BATISTA-PEREIRA, 2007). Também foi utilizada

análise variância (ANOVA dois fatores) para mostrar a relação entre a concentração e o tempo na mortalidade de *Ae. aegypti* pelo ácido bórico.

Na avaliação do efeito de três diferentes frutas na atração de *Aedes aegypti* em laboratório, a diferença na (i) proporção de mosquitos ingurgitados; (ii) proporção de mosquitos mortos com e sem o uso de inseticida e (iii) proporção de mortalidade entre as diferentes frutas com inseticida, foi utilizada ANOVA de dois fatores seguida pelo teste *post hoc*, Tukey ($P < 0,05$).

No efeito das iscas tóxicas aplicadas em plantas em condições de ambiente doméstico simulado, a diferenças na (i) proporção de mosquitos mortos entre as gaiolas com diferentes frutas e (ii) proporção de mosquitos mortos na gaiola com isca de manga sem inseticida, foi utilizada ANOVA de dois fatores seguida pelo teste *post hoc*, Tukey ($P < 0,05$). O número de mosquitos ingurgitados e mortos com as iscas nos experimentos de laboratório e ambiente doméstico simulado foram convertidos em porcentagem e sofreram transformação do tipo arco-seno (transformação angular) antes de serem analisados. Para efeito de análise, nos testes acima considera-se ingurgitamentos, como número de mosquitos que se ingurgitaram em cada tratamento.

Todos os dados foram analisados utilizando o software Prism 6 (Graph Pad).

4. RESULTADOS

4.1 Concentrações Letais (CLs 90 e 50) do ácido bórico para *Aedes aegypti*

A Concentração Letal para matar 50% dos mosquitos (CL50) para machos de *Ae. aegypti* foi de 1,15% e para fêmeas foi de 1,08%, o CL 90, para os machos e fêmeas, foram 2,02% e 2,46% , respectivamente, após 24 horas.

O valor do CL 50 diminuiu cerca de 50% após 48h de exposição, em comparação com 24h, mostrando que a toxicidade ao inseticida aumentou com o maior tempo de exposição. O CL 90 sofreu uma redução cerca de apenas 20% entre os dois intervalos observados (24h e 48h), mostrando que a aumento da toxicidade em função do tempo, ocorre apenas com o inseticida em baixas concentrações (Tabela 1).

Tabela 2. Concentrações Letais (CL) do ácido bórico em laboratório para machos e fêmeas de *Aedes aegypti* durante o intervalo de 24 e 48h.

	24h			
	CL 50 (%)	I.C. (inf.-sup.)	CL 90%	I.C. (inf.-sup.)
MACHOS	1,15	1,09-1,19	2,02	1,94-2,13
FÊMEAS	1,08	1,03-1,13	2,46	2,25-2,74
	48h			
	CL 50 (%)	I.C. (inf.-sup.)	CL 90%	I.C. (inf.-sup.)
MACHOS	0,57	0,51-0,61	1,67	1,54-1,83
FÊMEAS	0,53	0,48-0,58	1,81	1,62-2,10

* I.C. intervalo de confiança (P< 0,05; I.C. 95%)

A mortalidade dos mosquitos nos dois períodos de tempo avaliados (24h e 48h) foi semelhante, para ambos os sexos, na concentração 2% e apenas para os machos nas concentrações 0,5 e 1,5%. Nas demais concentrações, houve um aumento significativo na mortalidade entre os dois intervalos de tempo observados, (machos $F=923,1$ gl_{1,2} 3,32, $P=0<0,001$, fêmeas $F=460,2$ gl_{1,2}2,32, $P=0<0,001$) evidenciando novamente a influência do tempo apenas em baixas concentrações (Figuras 21 e 22).

Figura 21. Mortalidade de machos *Aedes aegypti* nas diferentes concentrações de ácido bórico, durante o intervalo de tempo de 24h e 48h.

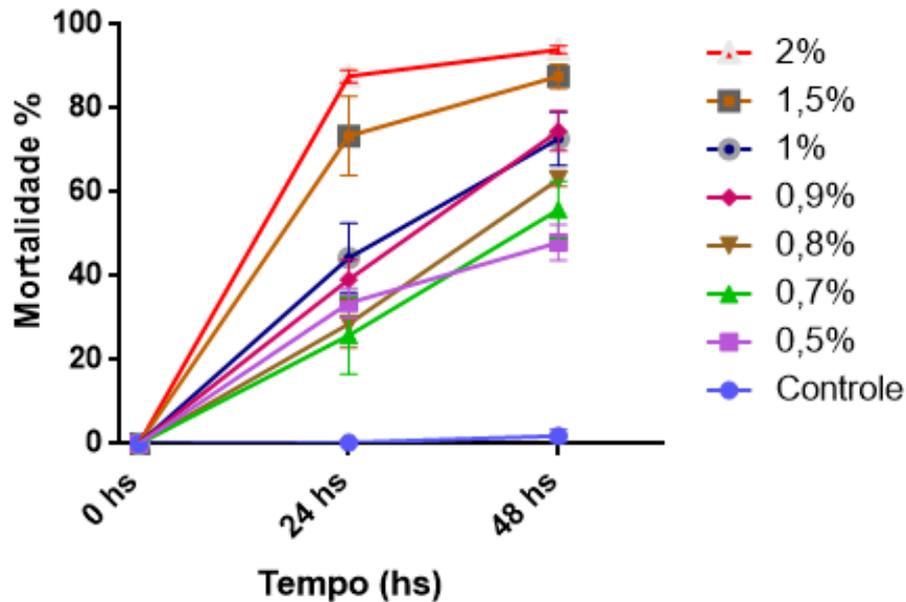
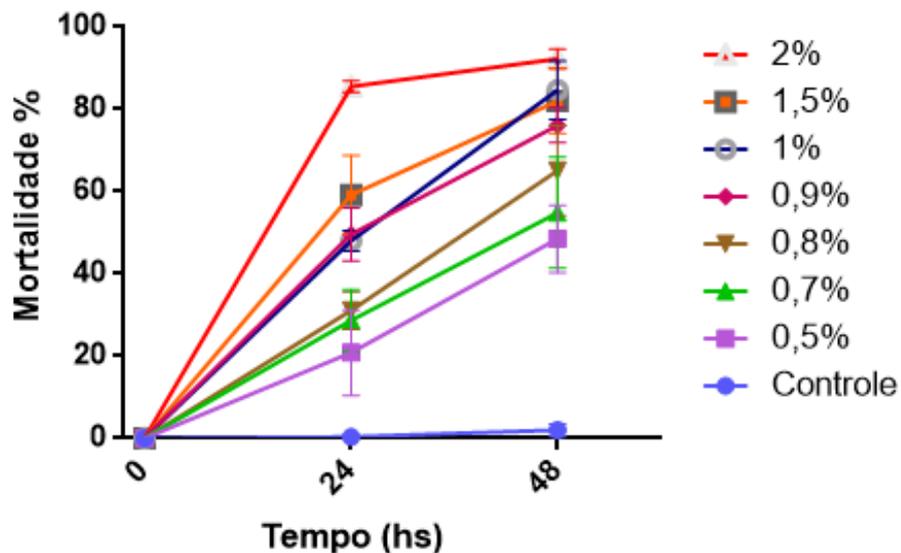


Figura 22. Mortalidade de fêmeas *Aedes aegypti* nas diferentes concentrações de ácido bórico, durante o intervalo de tempo de 24h e 48h.



4.2 Efeito de diferentes frutas na formulação de iscas tóxicas na mortalidade de *Aedes aegypti*

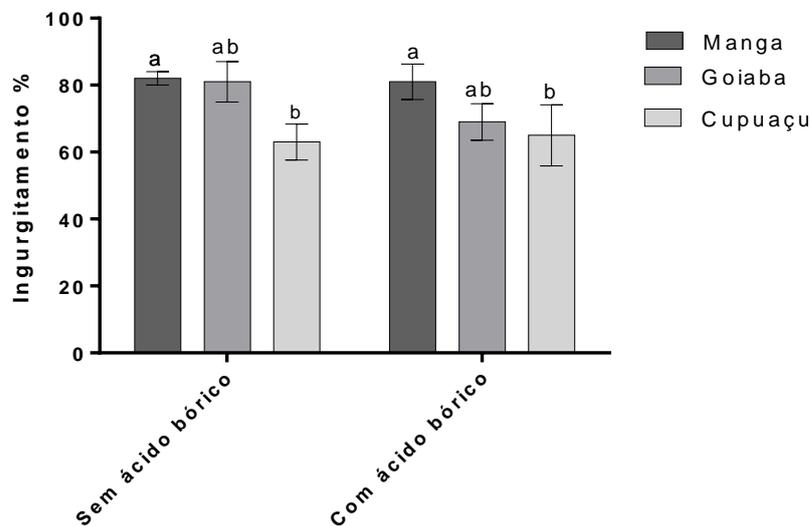
4.2.1 Ingurgitamento

Comparando os tratamentos com e sem inseticida, a diferença entre a proporção de machos ingurgitados nas diferentes frutas não foi significativa ($F=1.13$ gl $_{1,2}$ 1,54, $P=0,29$).

No geral, a proporção de mosquitos ingurgitados nas iscas sem o inseticida foi de 63-82% e nas iscas com inseticida foi 65-81%.

Nas iscas com e sem o inseticida, a proporção de machos ingurgitados diferiu significativamente entre as diferentes frutas do tratamento ($F=4.41$, $gl_{1,2}$ 2,54, $P=0,02$). No tratamento sem inseticida, a maior proporção de ingurgitamentos foi com a manga, com 82%, seguido da goiaba, com 81% e o cupuaçu, que teve o menor resultado, 63%. Resultado similar foi obtido no tratamento com inseticida, onde a manga também resultou na maior proporção de ingurgitamentos (81%), seguido da goiaba (69%) e o cupuaçu, novamente teve o menor resultado (65%) (Figura 23).

Figura 23. Proporção de machos de *Aedes aegypti* ingurgitados nas iscas com os diferentes sucos de fruta.

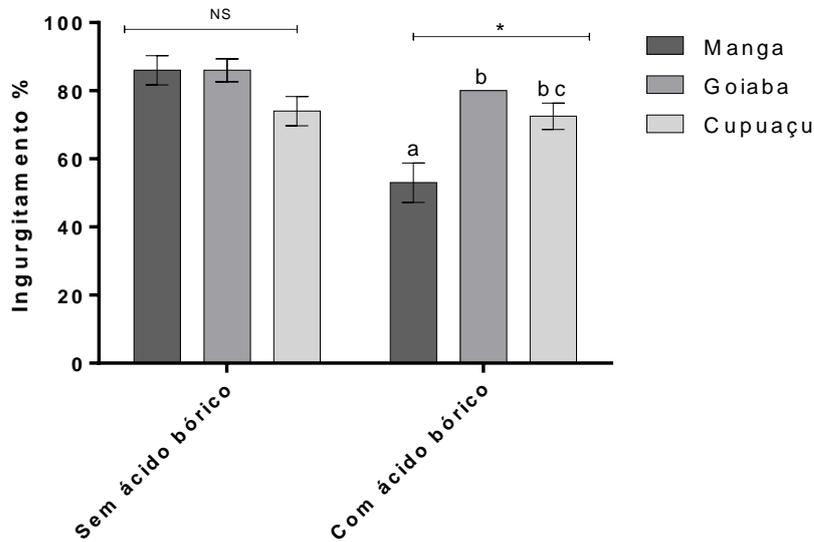


Proporção de mosquitos ingurgitados nas iscas com e sem o inseticida ($p > 0,05$ ANOVA). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre as frutas de um mesmo tipo de isca ($p < 0,05$, Teste Tukey).

A proporção de fêmeas ingurgitadas com as iscas de manga no tratamento sem inseticida diferiu significativamente das iscas com a mesma fruta com inseticida ($F=714.4$ $gl_{(1,2)}$ 1,54; $P < 0,0001$).

No tratamento sem inseticida, houve 86% de ingurgitamento, enquanto no tratamento com essa mesma fruta e com o inseticida a proporção foi 53%. Com a goiaba e o cupuaçu, não houve diferença na proporção de ingurgitamentos nos tratamentos com e sem inseticida. No tratamento sem inseticida, as iscas de goiaba e cupuaçu tiveram 86 e 72% e com inseticida foram 74 e 72,5%, respectivamente (Figura 24).

Figura 24. Proporção de fêmeas de *Aedes aegypti* ingurgitadas nas iscas com e sem ácido bórico com os diferentes sucos de fruta.



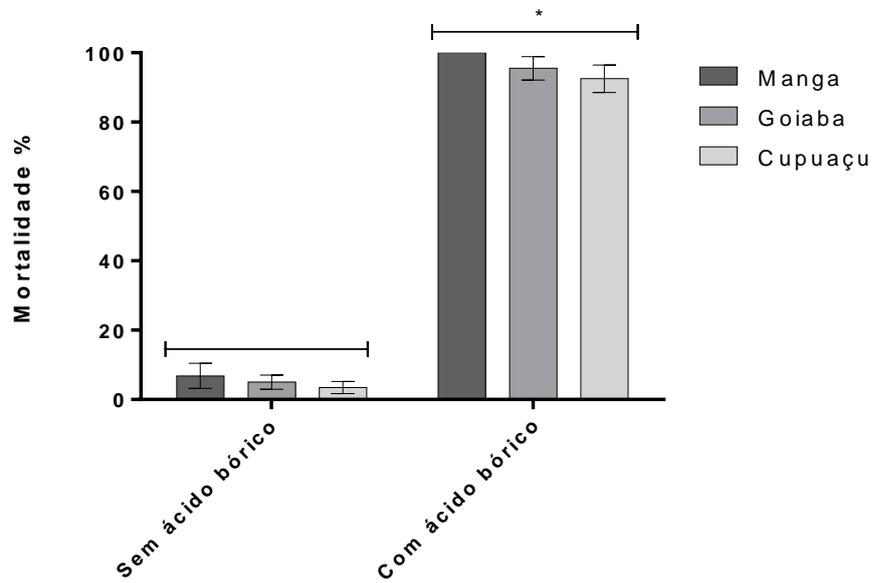
Proporção de mosquitos ingurgitados nas iscas com e sem o inseticida ($p > 0,05$ ANOVA). Símbolos diferentes indicam diferenças na proporção de mosquitos ingurgitados nos dois tratamentos com e sem o inseticida. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre as frutas de um mesmo tratamento ($p < 0,05$, Teste Tukey).

4.2.2 Mortalidade

Nos mosquitos alimentados com as iscas sem o inseticida foi observado uma mortalidade de machos entre 1-2%, enquanto que naqueles alimentados com a isca que continha o inseticida, a mortalidade foi extremamente elevada, entre 99 a 100%. Dessa forma, a presença do ácido bórico influenciou na mortalidade dos mosquitos ($F=4966$, $gl_{1,2} 1,54$; $P < 0,0001$) (Figura 25). Resultado similar foi observado para fêmeas, embora nesse grupo na ausência do ácido bórico foi observado que 3 a 7% dos mosquitos morreram enquanto que na presença do inseticida 92 a 100% morreram ($F=714.4$ $gl_{1,2} 1,54$; $P < 0,0001$) (Figura 26).

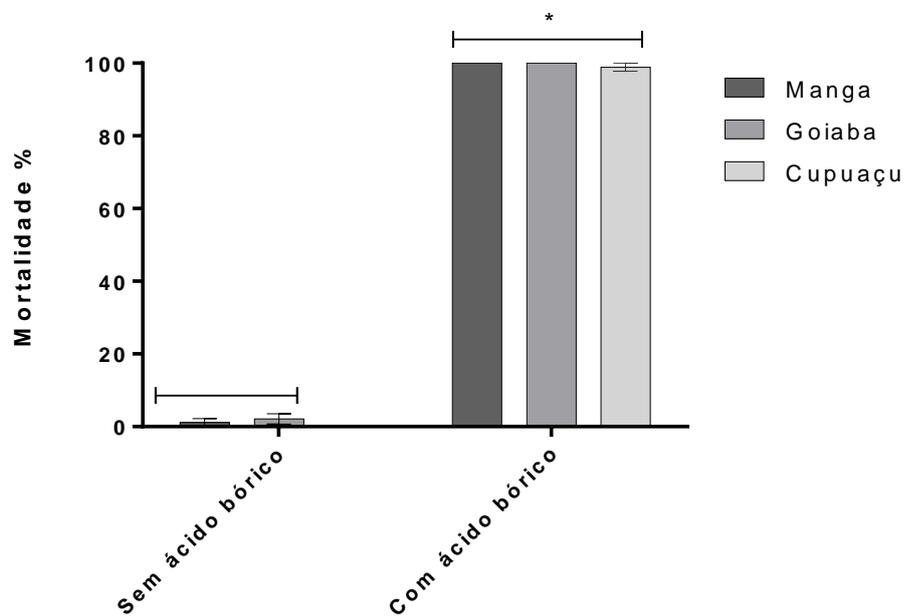
Todos os tratamentos com inseticida resultaram em altas taxas de mortalidade de machos, a diferença na proporção de mortos entre as frutas não foi significativa ($F=1.843$ $gl_{1,2} 2,54$; $P < 0,1681$), e o mesmo foi observado para as fêmeas ($F=1.306$ $gl_{1,2} 2,54$; $P < 0,2794$) (Figura 25 e 26).

Figura 25. Proporção de machos de *Aedes aegypti* mortos nas iscas com e sem inseticida e entre diferentes sucos de fruta



* Diferença estatística significativa entre as mortalidades dos dois tratamentos ($p < 0.05$, ANOVA).

Figura 26. Proporção de fêmeas de *Aedes aegypti* mortas nas iscas com e sem inseticida e entre diferentes sucos de fruta



* Diferença estatística significativa entre as mortalidades dos dois tratamentos ($p < 0.05$, ANOVA).

4.3 Aplicação da isca tóxica em plantas em ambiente doméstico simulado

Ao longo das 48h de observação, os mosquitos foram vistos pousados sobre a planta e se alimentando nas iscas. Com 24 horas já era possível observar um grande número mosquitos mortos no chão da gaiola (Figura 27).

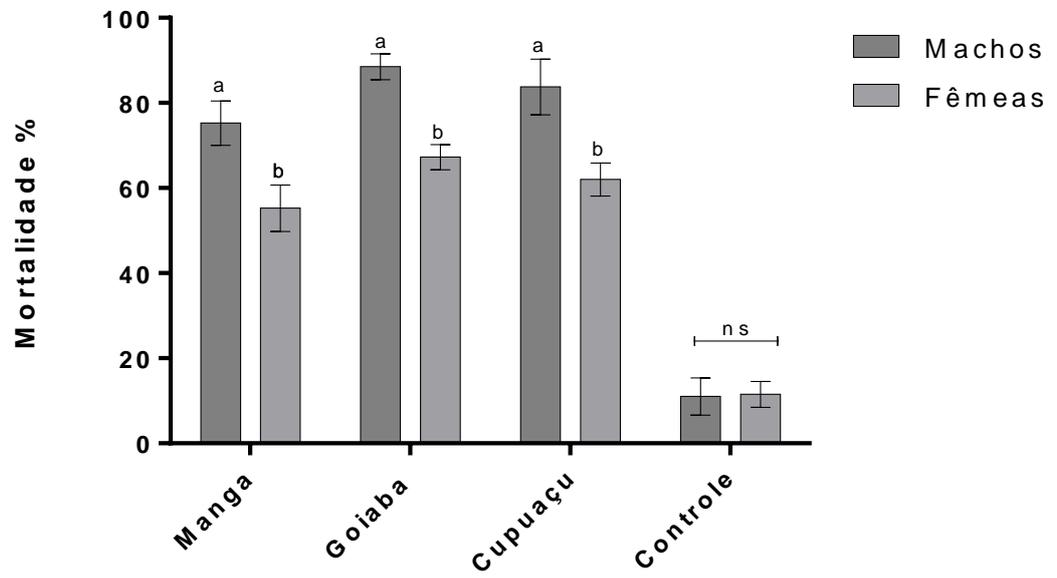
Figura 27. Isca tóxica borrifadas em plantas em ambiente doméstico simulado.



Machos e fêmeas *Aedes aegypti* pousados sobre a planta borrifada com isca tóxica (A), mosquitos mortos após 24 horas de observação (B). Fonte: Daiane Silva Barbosa

Em ambiente doméstico simulado, as iscas tóxicas aplicadas em plantas resultaram numa mortalidade de 75,3 - 88% de machos e 55,3 - 67,3% de fêmeas. Comparando a proporção de mosquitos mortos nas gaiolas com isca tóxicas e o controle (sem o inseticida), observou-se significativo efeito do ácido bórico na mortalidade dos mosquitos ($F=68,82$ gl_{1,2} 3,24; $P<0,0001$). A diferença na proporção de mosquitos mortos entre as gaiolas com diferentes frutas não foi significativa, mas a mortalidade registrada para os machos foi significativamente maior, a que foi observada para as fêmeas ($F=18.48$ gl_{1,2} 1,24; $P=0,0002$) (Figura 28).

Figura 28. Proporção de machos e fêmeas de *Aedes aegypti* mortos em gaiolas com plantas borrifadas com iscas contendo diferentes frutas.



Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo sexo.

5. DISCUSSÃO

5.1 Toxicidade do ácido bórico

Nos insetos, o ácido bórico age principalmente no estômago e estudos mostram que a concentração letal do inseticida é diferente para cada espécie. Nos trabalhos de Xue e Barnard (2003), as espécies *Ae. albopictus*, *Cx nigripalpus*, e *An. quadrimaculatus* apresentaram diferenças na toxicidade a esse inseticida e as CL_{50} encontradas para essas espécies foram menores que as encontradas no presente trabalho.

A CL_{50} normalmente é expressa como a quantidade de substância em miligramas (mg), por quilograma (kg) de peso corporal, necessária para provocar a morte de 50% da população amostrada. Quando o CL encontrado é um valor pequeno, os produtos químicos são considerados altamente tóxicos e quando o valor é grande, são menos tóxicos (HARPER et al., 2012).

Considerando que a concentração de ácido bórico que matou 50% da população de machos de *Ae. aegypti* foi quase sete vezes maior a encontrada para machos de *Ae. albopictus*, e superior a quase quatro vezes a das espécies *Culex nigripalpus* e *An. quadrimaculatus* (XUE; BARNARD, 2003), podemos concluir que esse inseticida é mais tóxico para *Aedes albopictus* do que para *Ae. aegypti*. Essa diferença na toxicidade pode estar relacionada com as características evolutivas de cada uma dessas espécies, o *Ae. aegypti* é predominante no ambiente urbano e está sofrendo mudanças ao longo do tempo. Como exemplo, temos a formas imaturas, que antes encontradas somente em locais com água limpa e sem resíduos de matéria orgânica e agora já podem ser encontradas até em fossas sépticas (GIL et al. 2015).

O ácido bórico também já foi testado em iscas tóxicas para moscas domésticas, formigas e moluscos. Para as moscas domésticas adultas, *Musca domestica*, testes de laboratório encontraram CL_{50} de 0,88% e CL_{90} 1,36%, em 24hs de observação (HOGSETTE E KOEHLER, 1992). Para a formiga de fogo, *Solenopsis invicta*, foi encontrado um CL_{50} 1,27% em 72 horas (KLOTZ; VAIL; WILLAMS, 1997), indicando que o ácido bórico é mais tóxico para os mosquitos do que as formigas de fogo e em relação a mosca doméstica, os mosquitos são mais resistentes.

O ácido bórico é comercializado a 5%, pela Nisus Corporation, o produto tem o nome comercial de NIBAN e foi testado por Smith et al (2013) para o caramujo africano *Lissachatina fulica*, resultando numa mortalidade entre 48-74%, ficando comprovada também a atividade moluscida dessa substância (SMITH et al 2013).

A toxicidade do ácido bórico foi semelhante para machos e fêmeas de *Ae. aegypti* (Tabela 1), esses resultados diferem dos encontrados por Xue e Barnard (2003) para as espécies *Ae albopictus*, *Culex nigripalpus*, e *An. quadrimaculatus*, onde os machos apresentaram uma sensibilidade maior do que as fêmeas, mostrando novamente que a espécie *Ae. aegypti* se comporta diferente das outras espécies.

Por outro lado, para *Ae.aegypti* houve um aumento da toxicidade, provocada pelo maior tempo de exposição de 48hs, resultando em um CL menor do que foi encontrado em 24hs. Essa redução do CL também foi observada para as espécies *Ae albopictus*, *Culex nigripalpus* e *An. quadrimaculatus* (XUE; BARNAD, 2003).

Nos testes de toxicidade do ácido bórico, apenas nas concentrações mais baixas, o tempo influenciou na mortalidade dos mosquitos. Na concentração 2%, indicada para matar 90% dos mosquitos (Tabela 1), a proporção de mosquitos mortos não diferiu significativamente em 24hs e 48hs. Xue e colaboradores (2006) usaram uma concentração menor do inseticida em iscas tóxicas para as espécies *Ae albopictus*, *Cx. nigripalpus* e *Oc. taeniorhynchus* e nessa concentração, a mortalidade significativa dos mosquitos ocorreu apenas após 48hs de sua ingestão.

O estado fisiológico das fêmeas não foi investigado neste trabalho, mas é conhecido que essas condições não afetam a toxicidade do ácido bórico. Xue e Barnard (2003) relataram que fêmeas alimentadas com sangue, grávidas e paridas não apresentaram diferenças na susceptibilidade ao inseticida.

5.2 Ingurgitamento das iscas e mortalidade dos mosquitos no laboratório

Sucos de frutas passaram a ser utilizadas como atraentes em iscas depois que ficou comprovada a atração dos mosquitos pelos seus odores (HUIJ, 2010). No presente trabalho, utilizou-se manga, goiaba e cupuaçu e todas resultaram em altas taxas de ingurgitamento (Figura 23 e 24).

As iscas produzidas com a goiaba tiveram a maior proporção de fêmeas ingurgitadas (80%), nessas mesmas condições Stewart e colaboradores (2013) observaram resultados semelhantes para fêmeas da espécie *Cx. quinquesfasciatus*, onde houve uma proporção de 86% de ingurgitamento. Com as espécies *An. gambiae* e *An. ararienses*, os resultados foram menores que os obtidos para *Ae. aegypti*, 68 e 64%, respectivamente. Iscas tóxicas preparadas com goiaba também foram utilizadas por Muller e colaboradores (2010b), a pulverização da isca na vegetação reduziu, com apenas uma aplicação, 90% de machos e fêmeas de *An.gambiae*.

Nesse trabalho, foi registrado uma mortalidade de 95,5% para as fêmeas de *Ae. aegypti* nas isca de goiaba (Figura 26). Resultados similares foram obtidos com essa mesma fruta para espécies *An. gambiae*, onde registrou-se uma mortalidade de 92% e para as espécies *An. ararienses* e *Cx. quinquesfasciatus* 89% (STEWART et al. 2013). NARANJO e colaboradores (2013) utilizaram essa fruta junto com a manga e sua aplicação na vegetação em comunidades residenciais St. Augustine, na Florida, resultou em 100% de mortalidade de *Ae albopictus*.

Gouana e colaboradores (2010) coletaram um grande número anofelinos em espécies de *Mangifera indica* (manga), *Delonix regia*, *Thevetia neriifolia*, *Senna siamea* e *Cassia sieberiana*. Posteriormente, bioensaios em um olfatômetro de dupla escolha revelaram a preferência de machos de *An. gambiae* pela manga, que no presente trabalho, foi uma das frutas com maior proporção de machos *Ae. aegypti* ingurgitados e mortos (Figura 25)

De acordo com os trabalhos de Manda e colaboradores (2007b), a escolha da fonte açucarada pode ser influenciada principalmente pelos tipos particulares de açúcar presente e sua concentração. No experimento de laboratório, observou-se uma diferença na proporção de mosquitos ingurgitados entre as diferentes frutas, acreditamos que isso talvez possa estar relacionado à composição nutricional de cada espécie, onde a quantidade de frutose presente em determinada fruta pode ser diferente.

Todas as frutas resultaram em altas taxas de mortalidade, entre 92 a 100% (Figuras 25 e 26), esse resultado pode ser atribuído em parte a metodologia, que permitiu observar a mortalidade em mosquitos onde a ingestão da isca foi identificada, através da observação em microscópio para dissecação.

Para esse experimento, iscas nas diferentes frutas foram preparadas com e sem ácido bórico e apenas na manga foi observado uma diferença no ingurgitamento das fêmeas entre os tratamentos com e sem inseticida. As iscas sem inseticida tiveram 86% de ingurgitamento e com inseticida 53%, representando uma redução de 38% no ingurgitamento quando o inseticida estava presente, que não foi observada para a goiaba e o cupuaçu (Figura 23) e nem para os machos, em nenhuma das frutas utilizadas (Figura 24).

Stewart e colaboradores (2013), em condições semelhantes, compararam o ingurgitamento de *An. gambiae*, *An. arabinensis* e *Cx. quinquefasciatus* em iscas com e sem ácido bórico e para a espécie *An. arabinensis* tiveram resultados similares aos encontrados no presente trabalho (redução de 38%). Nessa espécie houve uma redução de 28% no ingurgitamento na isca com inseticida, para *An. gambiae*, a redução foi de apenas 8%, e em *Cx. quinquefasciatus*, o inseticida não afetou o ingurgitamento.

Apesar da diferença entre a proporção de mosquitos marcados nos dois tratamentos, com e sem o inseticida, o ácido bórico foi considerado um bom inseticida para uso oral pois nesse experimento foram testados outros dois inseticidas e os resultados foram inferiores. O inseticida clorfenapir marcou 28% de *An. gambiae* e 45% de *An. arabinensis* e o tolfenpirad, 26 % de *An.gambiae* e 41% de *An. arabinensis* (STEWART et al. 2013).

Para a mosca doméstica, *Musca domestica* (HOGSETTE; KOEHLER, 1992), e a formiga de fogo, *Solenopsis invicta* (KLOTZ; VAIL; WILLAMS 1997) altas dosagens de ácido bórico foram deterrentes, inibindo a ingestão das iscas por estes insetos. De acordo com Hogsette e Koehler (1992), a concentração ideal de ácido bórico para a mosca doméstica é 2,25%. No presente trabalho, não foi observada deterrência do ácido bórico entre as concentrações 0,5 a 4%.

5.3 Aplicação da isca tóxica em plantas em ambiente doméstico simulado

Nas condições de ambiente doméstico simulado, a mortalidade de *Ae. aegypti* com as iscas de goiaba foi em média de 88,5% para machos e 67,25% em fêmeas. Em condições semelhantes, onde iscas tóxicas produzidas com goiaba e ácido bórico a 2% foram distribuídas em quatro estações de iscas penduradas no teto de uma cabana experimental, com um voluntário dormindo dentro de um mosquiteiro não tratado, os resultados de mortalidade foram diferentes do que os encontrados para *Ae. aegypti*. Fêmeas de *An. arabiensis* tiveram uma mortalidade de 35% e de *Cx. quinquefasciatus*, 57% (STEWART et al. 2013).

No presente trabalho foi registrada uma mortalidade significativamente maior em machos do que nas fêmeas de *Ae. aegypti* (Figura 28), diferente do que foi observado por Stewart e colaboradores (2013), onde a mortalidade registrada para machos de *An. arabiensis* foi menor (24%), do que as fêmeas (35%).

A mortalidade registrada por Stewart e colaboradores (2013) foi menor do que as encontradas no presente trabalho, mas os autores relatam que esses resultados ainda são melhores do que os encontrados em mosquiteiros tratados com piretróides.

Qualls e colaboradores (2015) avaliaram a eficácia de iscas tóxicas preparadas com goiaba e ácido bórico em um experimento realizado em duas aldeias. Primeiro foi realizado um levantamento para identificar a quantidade de mosquitos nos dois locais e em um seguida, em uma dessas localidades, foram colocadas estações de iscas no interior das residências. Após a colocação dessas iscas, houve uma redução da população de *An. gambiae* de 90% de fêmeas e 93% de machos. Quanto aos machos, o resultado foi semelhante ao encontrado no presente trabalho, com metodologia diferente.

A isca tóxica tem diferentes tipos de aplicação, podendo ser borrifada na vegetação, em cercas ou estações de iscas e a escolha da melhor metodologia deve levar em conta as características da espécie de interesse, como por exemplo se o mosquito é endofílico ou antropofílico. Mosquitos com essas características permanecem dentro das residências e iscas tóxicas colocadas nesses locais terão uma maior probabilidade de ser encontradas. Da mesma forma, se o mosquito não tem um comportamento domiciliar, é mais vantajoso borrifar a isca na extensa vegetação onde normalmente ele pode ser encontrado, como por exemplo próximo à criadouros e locais de descanso.

A instalação de estações de iscas em pontos estratégicos, influenciaram os resultados de Muller e Schlein (2008), que colocaram estações de iscas na entrada de cisternas que serviam como locais de criação e descanso de *Anopheles claviger*. Capturas antes e depois do tratamento mostraram que a população desse mosquito foi reduzida drasticamente para menos de um décimo.

Os dados deste trabalho indicam que a isca tóxica é capaz matar o *Ae aegypti*, inclusive em ambiente doméstico. Essa espécie é endofílica e a iscas colocadas dentro das residências poderiam ser protegidas de intemperes ambientais, prolongando o seu efeito, visto que a persistência das iscas de ácido bórico em laboratório foi duas vezes maior do que sob condições ambientais (XUE et al., 2011).

Muller e Schlein (2011) compararam o efeito das três formas possíveis de aplicação das iscas tóxicas para populações de *Phlebotomus papatasi*. Para essa espécie, a isca pulverizada na vegetação obteve o melhor resultado, houve uma redução de 90% da população desse flebotomíneo, enquanto que com a isca aplicada na cerca a redução foi de 88% e na estação de isca, 60%.

Os mosquitos apresentam preferências por algumas plantas e identificar a predileção de *Ae. aegypti* por plantas ornamentais que ficam próximas ou dentro das residências onde o *Ae aegypti* descansa durante o dia, pode aumentar as possibilidades da isca tóxica ser encontrada pelos mosquitos.

Samson e colaboradores (2013) avaliaram o comportamento de repouso de *Ae. albopictus* na vegetação de um condomínio residencial. Foram realizadas coletas dos mosquitos que descansavam sob as plantas e o número coletado variou significativamente com a espécie vegetal. Na vegetação grossa e densa como a petúnia mexicana (*Ruellia brittoniana*) e a samambaia (*Asplenium platyneuron*) foram encontrados o maior número de mosquitos descansando.

A *Kalanchoe blossfeldiana* foi utilizada nesse experimento, mas a atração de *Ae. aegypti* por essa planta não é conhecida. Nesse trabalho, a planta serviu apenas como um veículo para a aplicação da isca, dessa forma, encontrar espécies vegetais que o *Ae. aegypti* tenha preferência para o repouso e alimentação pode aumentar o sucesso da utilização da isca tóxica para esse vetor. Muller e Scelhein (2006) identificaram a preferência de *An. sergentii* por flores de *Accacia radiana*, a aplicação de iscas em Acácias floridas reduziu quase totalmente a população desse mosquito no local de tratamento. No local utilizado como controle foi aplicado a isca sem inseticida nas plantas floridas e o elevado número de mosquitos marcados no controle e a eliminação dos mosquitos no local de tratamento sugeriram que a *A. radiana* era a alimentação exclusiva desses mosquitos.

Muller e colaboradores (2008) penduraram estações de iscas em galhos de *A. radiana* em locais com infestação de *An. sergentii* e capturas antes e depois do tratamento mostraram uma redução de 92% no número de mosquitos capturados. Assim, as plantas em que o *Ae. aegypti* tenha preferência para alimentação e descanso podem ainda ser utilizadas como locais para a colocação de estação de iscas.

Stewart e colaboradores observaram que uma média de 8 a 11% de mosquitos sobreviveram após a ingestão de isca contendo ácido bórico a 2%. No presente trabalho, nos testes de laboratório e no ambiente doméstico simulado, uma pequena proporção de mosquitos que ingeriu o inseticida também não morreu. No presente trabalho, determinamos apenas a Concentração Letal de ácido bórico para *Ae. aegypti*, o CL é uma medida de toxicidade aguda, que causa a morte em uma exposição única ou limitada, mas os efeitos crônicos, que são os efeitos da exposição ao longo prazo na reprodução, defeitos congênitos e outros que podem ocorrer em níveis inferiores aos que causam a sua morte (HARPER et al. 2012), não foram observados.

Em baratas alemãs, a ingestão de ácido bórico durante o primeiro ciclo gonotrófico afetou a sua reprodução, agindo na vitelogênese e na maturação dos ovócitos (Kilani-Morakchi et al. 2009). Em mosquitos, estudos mostram que as concentrações subletais do ácido bórico podem afetar fertilidade e fecundidade. Ali e colaboradores (2006) observaram que a exposição subletal de iscas com o inseticida a 0,1% foi capaz de afetar a sobrevivência adultos de *Ae. albopictus* e reduzir o número de ovos postos e larvas eclodidas. O efeito subletal de iscas de ácido bórico a 0,1% também foi avaliado para a espécie *Ae. aegypti*, numa formulação onde continha piriproxifeno, que é um hormônio regulador do crescimento em insetos. Nessas condições, não foi observado nenhum efeito significativo na sobrevivência ou fecundidade de *Ae. aegypti*, que segundo os autores, pode ser causado pela baixa

concentração do inseticida na isca, após a mistura com o piriproxifeno (ANDERSON et al., 2016). O efeito subletal do inseticida spinosad foi testado em larvas de *Ae. aegypti* e esse inseticida também influenciou na reprodução desse mosquito (DIAS et al. 2015). Dessa forma é importante investigar os efeitos subletais do ácido bórico para *Ae. aegypti*, que também pode ser importante na redução da população desse vetor.

6. CONCLUSÕES

- O ácido bórico tem potencial para ser usado como inseticida em iscas tóxicas. Apresentou toxicidade para machos e fêmeas de *Ae. aegypti* e não apresentou deterrência em nenhuma das concentrações utilizadas;
- Todas as frutas testadas, manga, a goiaba e o cupuaçu podem ser usadas na confecção de iscas tóxicas para *Ae. aegypti*;
- As iscas tóxicas borrifadas em plantas em condições de ambiente doméstico são capazes de matar o mosquito *Ae. aegypti*.

7. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, I. G. C. et al. Chikungunya virus infection: report of the first case diagnosed in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v.45 n.1, p.128-129, jan-fev, 2012.
- ANDERSON et al. Sublethal doses of attractive toxic sugar bait mixed with the insect growth regulator, pyriproxifen did not effect survival or fecundity of *Aedes albopictus*. CILEK, J.E.; DAY, J.F.; BURKETT-CADENA, N.D. (Org) **Technical Bulletin of the Florida Mosquito Control Association**.v.10. 2016, p.117.
- ALI, A.; XUE, R. D.; BARNARD, D. R. Effects of sublethal exposure to boric acid sugar bait on adult survival, host-seeking, bloodfeeding behavior, and reproduction of *Stegomyia albopicta*. **Journal of the American Mosquito Control Association**. V.22, n.1, p464-468, Sept. 2006.
- ALLAN, S.A. Susceptibility of adult mosquitoes to insecticides in aqueous sucrose baits. **Journal of Vector Ecology**, v.36, n.1, p.59-67, June 2011.
- ARDUINO, M. B.; ÀVILA, G. O. Aspectos da físico-químicos da água de criação de *Aedes aegypti* em ambiente urbano e as implicações para o controle da dengue. **Revista de Patologia Tropical** v. 44, n.1, p. 89-100, jan-mar. 2015.
- BECKER, N. et al. **Mosquitoes and their Control**. 2th Edition, London New York Springer, 2010, 498p.
- BEIER, John C. et al. Attractive toxic sugar bait (ATSB) methods decimate populations of *Anopheles malaria* vectors in arid environments regardless of the local availability of favoured sugar-source blossoms. **Malaria Journal**, v. 11, p. 31, 2012.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n. 2, p.113 – 118, out-dez. 2007.
- BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015**. v. 47, n. 3 – 2016a. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/197-secretaria-svs/11955-boletins-epidemiologicos-arquivos>>. Acesso em 31 marc. 2016a.
- BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 8, 2016**. V. 47, n. 14 – 2016b. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/197-secretaria-svs/11955-boletins-epidemiologicos-arquivos>>. Acesso em 31 marc. 2016b.
- BRASIL, Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde. **Manual de vigilância epidemiológica da febre amarela**, Brasília, 1999.56p.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual de vigilância epidemiológica da febre amarela**, Brasília, 2004, 63p.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil**, Brasília, 2014. Disponível em:

<http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjOkLXHzsLKAhXB4CYKHTfXDfkQFgglMAA&url=http%3A%2F%2Fbvvsms.saude.gov.br%2Fbvvs%2Fpublicacoes%2Fpreparacao_resposta_virus_chikungunya_brasil.pdf&usg=AFQjCNEJSIBR-ZVNM4R_LVq5vZ2lq2bdtQ&bvm=bv.112454388,d.eWE>. Acesso em 10 dez. 2015.

BATISTA-PEREIRA, L.G. Bioensaios para avaliação de substâncias químicas sobre insetos. In: CORRÊA, A.G; VIEIRA, P.C. (Org). **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. São Carlos-SP, Editora UFSCar. p.105-120. 2007.

CLEMENTS, A.N. **The Biology of Mosquitoes** Vol.1. Chapman & Hall, London, p.???? 1992.

COCHRAN, D. G. Toxic effects of boric acid on the German cockroach.

Experientia, v.51, n. 6, p561-563, June 1995.

CONSOLI, R.A.G.B., OLIVEIRA, R.L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil, Rio de Janeiro, Fundação Oswaldo Cruz, 228 p. 1998.

CORRÊA, A. G.; SANT'ANA, J. Ecologia Química de Insetos. In: CORRÊA, A.G; VIEIRA, P.C. (Org). **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. 2ª ed. São Carlos: EdUFSCar, 2007, 150p.

DIAS, L. S. et al. Custo Reprodutivo do uso de Spinosad sobre populações Brasileiras de Campo de *Aedes aegypti*. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 51, 2015, Fortaleza, **Anais eletrônico do Medtrop2015**. Disponível em:

<<http://medtrop2015.com.br/>>. Acesso em: 23 dez. 2015.

DUFFY, et al. 2009. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England Journal of Medicine** v.360, p.2536-2543, June.2009.

ENSERIN, M. An obscure mosquito-borne disease goes global. After racing through Oceania last year, the Zika virus is now spreading in the Americas. **Science AAAS**, v. 350, p.1012-1013, Nov. 2015.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. United States Environmental Protection Agency. **Prevention, Pesticides And Toxic Substances**, EPA-738-F-93-006, 1993.

Disponível em:

<http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CBwQFjAAahUKEwiYo97SyJHJAhWJHJAKHV0kD4g&url=http%3A%2F%2Farchive.epa.gov%2Fpesticides%2Fregistration%2Fweb%2Fpdf%2F0024fact.pdf&usg=AFQjCNFucCRstTykH8xDmRj3wFKc8dTRTg&sig2=DD-nxZ8HadloFs2s_OQUGA>. Acesso em: 10 Nov. 2015.

FIGUEIREDO, L.T.M. **Dengue in Brazil: Past, Present and Future Perspective**. Dengue Bulletin, World Health Organization. V. 27, p.25, Dec. 2003.

FISHEL F.M. Pesticide Toxicity Profile: Boric Acid. PI-91, UF/IFAS **Extension. University of Florida**, 2014. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/pi128>>. Acesso em: 07 Oct.2015.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. Vol.2 São Paulo: EDUSP, 2002, 864 p.

FOSTER, W. A. Mosquito sugar feeding and reproductive energetics. **Annual review of entomology**, v. 40, n. 1, p. 443-474, 1995.

FOSTER, W. A. Phytochemicals as Population Sampling Lures. **Journal of the American Mosquito Control Association**. v. 24, n.1, p.138-146, Mar. 2008.

FOSTER, W. A., TAKKEN, W. Nectar-related vs. human-related volatiles: behavioural response and choice by female and male *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) between emergence and first feeding. **Bulletin of Entomological Research**, v. 94, p.145–157, 2004.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE **Dengue Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. Manual de Normas Técnicas**, 2001, 83p.

GARY JR, R. E.; FOSTER, W. A. Effect of sugar on male *Anopheles gambiae* mating performance, as modified by temperature, space, and body size. **Journal of Medical Entomology**, v.38, n. 1, Jan. 2001.

GARY JR, R. E.; CANNON, J.W.; FOSTER, W. A. Effects of Available Sugar on the Reproductive Fitness and Vectorial Capacity of the Malaria Vector *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). **Parasites & Vectors**, v.2 n. 19, Apr. 2009.

GIL, L. H. S. et al . Rudimentary cesspits as breeding sites for *Aedes aegypti* in urban areas of Northern Brazil. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua , v. 6, n. 3, p. 73-80, set. 2015.

GOMES, A. S.; SCIAVICO, C. J. S.; EIRAS, A. E. Periodicidade de oviposição de fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em laboratório e campo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba**, v. 39, n. 4, p. 327-332, ago. 2006.

GOUAGNA, L. et al. Patterns of sugar feeding and host plant preferences in adult males of *An. gambiae* (Diptera: Culicidae). **Journal of Vector Ecology**, v. 35, n.2, p. 267-276, Dec. 2010.

GU, W. et al. Natural plant sugar sources of *Anopheles* mosquitoes strongly impact malaria transmission potential. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. 1-5, Jan. 2011.

HABES, D. et al. Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione *S*-transferase activity. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v. 84, p.17–24, 2006.

HARPER, B. et al. Boric Acid Technical Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services, 2012. Disponível em: <<http://npic.orst.edu/factsheets/borictech.pdf>>. Acesso em: 09/09/2015.

HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM. **News Release Division of Marketing & Comucation**, 2010 Disponível em: <http://www.huji.ac.il/cgi-bin/dovrut/dovrut_search_eng.pl?mesge128981013632688760>. Acesso em: 08/11/2015.

HOGSETTE, J. A.; KOEHLER, P.G. Comparative Toxicity of Aqueous Solutions of Boric Acid and Polybor 3 to House Flies (Diptera: Muscidae). **Journal of Economic Entomology**, v.85, n. 4, p.1209-1212, 1992.

HOGSETTE, J. A.; KOEHLER, P.G. Repellency of Aqueous Solutions of Boric Acid and Polybor 3 to House Flies (Diptera: Muscidae). **Veterinary Entomology**. v.87, n.4, p.1034-1037, 1994.

KARUNAMOORTHY, K.; SABESAN, S. Insecticide Resistance in Insect Vectors of Disease with Special Reference to Mosquitoes: A Potential Threat to Global Public Health. **Health Scope**. v. 2, n.1, p.4-18, Feb. 2013.

KILANI- MORAKCHI, S.; ARIBI, N.; SOLTANI, N. Activity of boric acid on German cockroaches: Analysis of residues and effects on reproduction. **African Journal of Biotechnology**. v.8, n.4, p. 703-708, Feb, 2009.

KHALLAAYOUNE, K. et al. Attractive Toxic Sugar Baits: Control of Mosquitoes with the low-risk Active ingredient dinotefuran and potential impacts on nontarget organisms in Morocco. **Environmental entomology**, v. 42, n. 5, p. 1040-1045, Oct. 2013.

KLOTZ, J.H.; VAIL, K.M.; WILLAMS, D.F. Toxicity of a boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, p.488-491, 1997.

KRAEMER, M. U. G. et al. The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence. **Scientific Data** v.2, n.35, Jul. 2015.

LEA, A. O. Sugar Baited Residuos Against Mosquitoes. **Mosquito News**, v. 25, n. 1, p. 65-66, Marc.1965.

LINDH, J. et al. Sugar-feeding preference method In: MOLL, K. et al. **Methods in Malaria research** 6th Edition, MR4/ATCC, Manassas, VA, USA, 2013, 474p.

MANDA, H et al. Effect of discriminative plant-sugar feeding on the survival and fecundity of *Anopheles gambiae*. **Malaria journal**, v.6, n. 1, p. 113, Aug.2007a.

MANDA, H. et al. Discriminative feeding behaviour of *Anopheles gambiae* ss on endemic plants in western Kenya. **Medical and veterinary entomology**, v. 21, n. 1, p. 103-111, 2007b

METCALF, R.L. KORGAN, M. Plant volatiles as insect attractants. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 5,n. 3. p.252-301, 2008.

MULLER, G. C. et al. Successful field trial of attractive toxic sugar bait (ATSB) plants praying methods against malaria vectors in the *Anopheles gambiae* complex in Mali, West Africa. **Malaria journal**, v. 9, n. 1, p. 210, 2010a.

MULLER, G. C. et al. Field experiments of *Anopheles gambiae* attraction to local fruits/seedpods and flowering plants in Mali to optimize strategies for malaria vector control in Africa using attractive toxic sugar bait methods. **Malaria journal**, v. 9, p. 262-262, 2010b.

MULLER, G. C.; KRAVCHENKO, V.D.; SCHLEIN, Y Decline Of *Anopheles sergentii* and *Aedes caspius* Populations Following Presentation Of Attractive Toxic (Spinosad) Sugar Bait Stations In An Oasis. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.24, n.1, p. 147-149.

MULLER, G., SCHLEIN, Y. Plant tissues: the frugal diet of mosquitoes in adverse conditions. **Medical and Veterinary Entomology** v. 19, p.413–422, 2005.

MULLER, G. C.; SCHLEIN, Y. Sugar questing mosquitoes in arid areas gather on scarce blossoms that can be used for control. **International journal for parasitology**, v. 36, n. 10, p. 1077-1080, June 2006.

MULLER, G. C.; SCHLEIN, Y. Efficacy of toxic sugar baits against adult cistern-dwelling *Anopheles claviger*. **Elsevier**. V. 102, p. 480-484, 2008.

MULLER, G. C; SCHLEIN, Y. Different methods of using attractive sugar baits (ATSB) for the control of *Phlebotomus papatasi*. **Journal of Vector Ecology** 36 (Supplement 1), p.S64-S70, Mar. 2011.

NARANJO, D.P. et al. Evaluation of boric acid sugar baits against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in tropical environments. **Parasitology research**, v. 112, n. 4, p. 1583-1587, Feb. 2013.

NASCI, R. S. Movement of Chikungunya Virus into the Western Hemisphere. **Emerging Infectious Diseases** v. 20, n. 8, 2014.

OLIVEIRA, et al. Dengue Infection in Rondônia -Brazil: Epidemiological and Environmental Aspects during 2001-2010 Occurrence. **British Journal of Medicine & Medical Research**, vol.5 p.1105-1113, Oct. 2014.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control / Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: guidelines for prevention and control**, 1995.

Disponível em: < <http://www1.paho.org/Spanish/HCP/HCT/VBD/arias-dengue.htm>>. Acesso em: 08 dez. 2015.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Preparedness and Response for Chikungunya Virus. Introduction in the Americas. 2011, 147p. Disponível em:

<<http://apps.who.int/iris/handle/10665/173322>>. Acesso em: 25/04/2016.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Confirmação da circulação do vírus Zika no Brasil**. 2015a. Disponível em:

<http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=4838%3Aconfirmação-a-circulação-do-zika-virus-no-brasil&catid=1272%3Anoticias&Itemid=816>. Acesso em 08 dez. 15.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Epidemiological Alert. Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection for public health in the America**, 2015b. Disponível em: < <http://afludiarly.blogspot.com.br/2015/12/whopaho-issue-epidemiological-alert-on.html>>. Acesso em: 08 nov. 2015.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION **Dengue y dengue hemorrágico em las Américas: Guías para su prevention y control**. Publication científica n° 548, Whashington, 1995c. Disponível em: < <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=PAHO&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=20829&indexSearch=ID>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

QUALLS, W. A. et al. Evaluation of attractive toxic sugar bait (ATSB)—Barrier for control of vector and nuisance mosquitoes and its effect on non-target organisms in subtropical environments in Florida. **Acta tropica**, v. 131, p. 104-110, Dec. 2014.

QUALLS, W. A. et al. Indoor use of attractive toxic sugar bait (ATSB) to effectively control malaria vectors in Mali, West Africa. **Malaria Journal**, v. 14, n.301, Marc.2015.

REZENDE, JM. **O desafio da febre amarela**. In: À sombra do plátano: crônicas de história da medicina. São Paulo: Editora Unifesp, 2009. p. 221-226, 2009.

REVAY, E. E. et al. Control of *Aedes albopictus* with attractive toxic sugar baits (ATSB) and potential impact on non-target organisms in St. Augustine, Florida. **Parasitology research**, v. 113, n. 1, p. 73-79, Oct. 2014.

SAMSON M. D et al. Resting and Energy Reserves of *Aedes albopictus* Collected in Common Landscaping Vegetation in St. Augustine, Florida. **Journal American Mosquito Control Association**, v.29, n.3, p.231–236, Sept.2013.

SCHLEIN, Y.; MÜLLER, G. C. An approach to mosquito control: Using the dominant attraction of flowering *Tamarix jordanis* trees against *Culex pipiens*. **Journal of medical entomology**, v. 45, n. 3, p. 384-390, 2008.

SMITH, T. R. et. al. Efficacy of Four Molluscicides Against the Giant African Snail, *Lissachatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata: Achatinidae) **Florida Entomology**, v. 96, n.2, p.396-402, Jun. 2013.

STEWART, Z. P. et al. Indoor Application of Attractive Toxic Sugar Bait (ATSB) in Combination with Mosquito Nets for Control of Pyrethroid-Resistant Mosquitoes. **PLoS ONE** v.8, n12, Dec. 2013.

SUPERINTENDENCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS DE SÃO PAULO. **Segurança em controle químico de vetores**, 2001. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/seguranca-do-trabalhador/seguranca-em-controle-quimico-de-vetores>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

TAKKEN, W., KNOLS, B.G.J. Olfaction in vector interaction. Ecology and control of vector-borne diseases. V. 2, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2010.

TAKKEN, W.; KNOLS, B. G.J. Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. **Annual review of entomology**, v. 44, n. 1, p. 131-157, 1999.

VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas **Rev Pan-Amaz Saude** ,Vol. 6, n.2, p.9-10, 2015.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas**; Vilela, E.F. e Della Lúcia, T.M.C., (eds.); 2ª ed, Holos Editora: Ribeirão Preto, p. 155. 2001.

VILLIARD, A., GLAUGLER, R. Long-term Effects of Carbohydrate Availability on Mating Success of Newly Eclosed *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Males. **Journal Medical Entomology**, v. 52, n. 5, p. 308-314, marc. 2015.

WARE, G. W. An introduction to insecticide. In: The Pesticide Book, 6th. , MeisterPro Information Resources, Willoughby, Ohio. 2004. Disponível em:

<<http://ipmworld.umn.edu/ware-intro-insecticides>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field-testing of mosquito larvicides**. 2005. Disponível em: <<http://www.who.int/en/>> Acesso em: 26 mar. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION **Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets**. 2006.

Disponível em <<http://www.who.int/en/>>: Acesso em: 26 mar. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL **Vector-borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control**. Bull World Health Organ. 1992 v.70 p. 1–6, 1992. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/handle/10665/47289>>. Acesso em: 03 nov. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL. **Vector control: methods for use by individuals and communities**. 1997. Disponível em :

<<http://apps.who.int/iris/handle/10665/41968?mode=simple>>.Acesso em: 03 nov. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification**. 2009. Disponível em:

http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/ >. Acesso em: 27 out. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL. **Strategy for Dengue Prevention and Control**. 2012. Disponível em: < <http://www.who.int/en/>>. Acesso em: 26 marc. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL. **Investing to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases**. 2015. Disponível em:

<<http://www.who.int/denguecontrol/en/>>. Acesso em: 27 out. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL. **Health topics Dengue**. 2016 Disponível em: <<http://www.who.int/topics/dengue/en/>>. Acesso em: 20/05/2016.

XUE, R. D. et al. Application of Boric Acid Baits to Plant Foliage for Adult Mosquito Control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.22, n.3, p.497-500, 2006.

XUE, R. et al. Effect of Application Rate and Persistence of Boric Acid Sugar Baits Applied to Plants for Control of *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.27, n. p.56-60, 2011.

XUE, R. et al. Field evaluation of boric acid-and fipronil-based bait stations against adult mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 24, n. 3, p. 415-418, 2008.

XUE, R., BARNARD, D. R. Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of economic entomology**, v. 96, n.5, p. 1559-1562, 2003.

XUE, R., BARNARD, D. R., MULLER, G. C., Effects of Body Size and Nutritional Regimen on Survival in Adult *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**. v. 47, n.5, p. 778-782, Sept. 2010.

ZARBIN, P.H. G., RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

ZWIEBEL, L.J.; TAKKEN, W. Olfactory regulation of mosquito–host interactions. **Insect Biochem Mol Biol**. v. 34, n.7, p. 645–652, Jul. 2004.