



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Parasitologia

Leonardo Rodrigues dos Santos

**AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *PUSH-PULL* COMPOSTO POR UM DISPOSITIVO
LIBERADOR DE TRANSFLUTRINA E A ARMADILHA *GRAVID AEADES TRAP*
PARA A SUPRESSÃO DE ADULTOS DE *Aedes (STEGOMYIA) aegypti* (LINNAEUS,
1762) (DIPTERA: CULICIDAE)**

Belo Horizonte

2023

Leonardo Rodrigues dos Santos

**AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA *PUSH-PULL* COMPOSTO POR UM DISPOSITIVO
LIBERADOR DE TRANSFLUTRINA E A ARMADILHA *GRAVID AEADES TRAP*
PARA A SUPRESSÃO DE ADULTOS DE *Aedes (STEGOMYIA) aegypti* (LINNAEUS,
1762) (DIPTERA: CULICIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Parasitologia.

Área de Concentração: Entomologia

Orientador: Dr. Álvaro Eduardo Eiras

Coorientadora: Dra. Elis Paula de Almeida
Batista

Belo Horizonte

2023

043

Santos, Leonardo Rodrigues dos.

Avaliação de um sistema Push-Pull composto por um dispositivo liberador de Transflutrina e a armadilha Gravid Aedes Trap para a supressão de adultos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) [manuscrito] / Leonardo Rodrigues dos Santos. – 2023.

156 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Álvaro Eduardo Eiras. Coorientadora: Dra. Elis Paula de Almeida Batista.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Oviposição. 3. *Aedes*. 4. Controle de Vetores. I. Eiras, Álvaro Eduardo. II. Batista, Elis Paula de Almeida. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

TESE 342/2023/05

TÍTULO DA TESE: "AVALIAÇÃO DE UM SISTEMA PUSH-PULL COMPOSTO POR UM DISPOSITIVO LIBERADOR DE TRANSFLUTRINA E A ARMADILHA GRAVID AEDES TRAP PARA A SUPRESSÃO DE ADULTOS DE AEDES (STEGOMYIA) AEGYPTI (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)"

ALUNO: LEONARDO RODRIGUES DOS SANTOS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENTOMOLOGIA

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **vinte e oito abril de 2023**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes Doutores:

Juliana Maria Trindade Bezerra

Membro externo -UEMA

Tatiana Mingote Ferreira de Ázara

Membro externo - IRR/FIOCRUZ

Mauricio Roberto Viana Sant'Anna

Membro interno - UFMG

Ricardo Nascimento Araújo

Membro interno - UFMG

Elis Paula de Almeida Batista

Coorientadora - UFMG

Álvaro Eduardo Eiras

Orientador - UFMG

Belo Horizonte, 28 de abril de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Alvaro Eduardo Eiras, Professor do Magistério Superior**, em 03/05/2023, às 15:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Nascimento Araujo, Professor do Magistério Superior**, em 04/05/2023, às 12:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elis Paula de Almeida Batista, Usuária Externa**, em 05/05/2023, às 08:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maurício Roberto Viana Sant Anna, Professor do Magistério Superior**, em 05/05/2023, às 15:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Maria Trindade Bezerra, Usuário Externo**, em 09/05/2023, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Tatiana Mingote Ferreira de Azara, Usuária Externa**, em 15/05/2023, às 16:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2237778** e o código CRC **D73D9509**.

Referência: Processo nº 23072.223109/2023-70

SEI nº 2237778

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à **Deus**, por criar o mundo e me permitir estudá-lo e à **Nossa Senhora Aparecida** a quem recorri nos momentos de angústia e a quem dedico essa tese.

O desenvolvimento dessa tese seria impossível de ser realizada sem o apoio do meu orientador **Álvaro** que abriu as portas do laboratório e aceitou me orientar nessa jornada maluca que foi o doutorado. Obrigado por toda paciência e toda experiência e conhecimentos repassados!

Mas seria mais impossível ainda chegar a esse momento sem o auxílio, amizade, carinho conhecimento e apoio da minha querida coorientadora **Elis**! Tenho muita sorte por você ter aceitado me coorientar. Você é a melhor escritora, revisora, editora, professora, pesquisadora, profissional e pessoa que conheci nessa jornada!! Um exemplo! Por muitas vezes também atuou como minha psicóloga, aconselhando e ouvindo meus desabafos. Muito obrigado por tudo e por toda paciência comigo!

À **Kelly**, minha primeira coorientadora e que me ajudou na escrita do projeto, sem o qual, eu nem entraria para o doutorado! O Álvaro abriu as portas, mas foi você que me chutou para dentro Kelly!! Obrigado!

Obrigado à **CAPES** e **CNPq** pelo suporte financeiro.

À **UFMG, ICB** e ao **PPG em Parasitologia**, em especial à **D. Cida, Sr. Neri, Sibeles e Sumara**, pelas palavras e gestos de carinho, acolhimento e orientação nos momentos de dúvidas.

Aos queridos amigos e colegas que fiz no LINTEC, **Juliana** rainha querida soberana do insetário, **Richard, Dani, Elizângela e Luana**, por todo apoio e por me acolherem no início dessa caminhada! Aos grampeados **Hans, Alexandre Daniel e Tales**, por tornarem essa jornada mais leve e divertida. **Hil, Agustín, Gabi, Ester, Stephanie, Eliaine, Ingrid, Analice, Vitória, Guilherme** obrigado pela convivência maravilhosa e pelos momentos de socorro nos experimentos.

Um agradecimento especial às três **Sarah Vegana, Raytchel (Rachel) e Lud**!! E mais especialmente ainda à Rachel que participou de TODAS as etapas da presente tese. Sem vocês não seria possível finalizar essa tese! Minhas ICs favoritas! Obrigado por toda ajuda e confiança!

Ao querido colega de doutorado **Luiz Mota** coordenador do setor de endemias de Piumhi, por todo carinho em nos receber na cidade, paciência e apoio durante e após os trabalhos de campo. Aos **Agentes de Controle de Endemias** da cidade de Piumhi, em especial ao **Bruno** e ao **Lelê**, sem os quais o trabalho de campo não ocorreria. **E aos moradores da cidade de Piumhi** que aderiram ao projeto e permitiram nossa entrada em suas casas.

À minha esposa **Larissa**, que desde o primeiro momento em que decidi tentar a seleção para o doutorado, esteve ao meu lado, me incentivou, me ajudou, não me deixou desanimar e testemunhou todos os momentos de dor e alegria durante essa caminhada. E além disso tudo, aceitou se casar comigo no meio desse furacão! Obrigado por todo carinho e dedicação que você tem e por compartilhar a vida comigo. Te amo para sempre e além!

À minha família!! Em especial a meus pais **Jorge e Zilca** e meu irBão **GuiLérme!** Obrigado por todo carinho, apoio e incentivo. Foi por vocês que eu não desisti! Amo vocês! Ainda na família, preciso agradecer também as orações e carinho de todas as **tias e tios, primos e primas**, especialmente e com muita gratidão às tias **Didi, Cecema, Estefânia, Cida, Neném e Marta!** Jamais conseguirei retribuir todo amor e carinho que recebo de vocês! Obrigado por tudo!

Aos amigos/irmãos que mesmo distantes sempre me apoiaram **Sarah, Gatti, Fefê, Seba, Nalaura, Pipe, Namaria, Lelê e Bruninha**. Vocês são a família que eu escolhi! Obrigado por tudo!

Agradeço grandemente à psicóloga **Ana Amorim** por ter me guiado, me ajudado a compreender meus sentimentos e onde eu me encaixava nesse projeto. Obrigado por ter sido luz nos dias cinzentos. Gratidão!

Ao **Sci-hub** por verdadeiramente remover as barreiras da ciência. Todo conhecimento deve ser *free*!

Enfim, a todos, **GRATIDÃO!**

...Mas é preciso ter FORÇA
É preciso ter RAÇA
É preciso ter GANA SEMPRE
Quem traz no CORPO a MARCA
Maria Maria
Mistura a DOR e a ALEGRIA

Mas é preciso ter MANHA
É preciso ter GRAÇA
É preciso ter SONHO SEMPRE
Quem traz na PELE essa MARCA
Possui a estranha MANIA
DE TER FÉ NA VIDA...

Milton Nascimento e Fernando Brant

RESUMO

Introdução: Métodos inovadores que modifiquem ou impeçam a oviposição de *Aedes aegypti* são de extrema relevância para o controle populacional desse mosquito e a utilização de um repelente espacial para inibir a oviposição de *Ae. aegypti* em locais onde normalmente ocorreria, pode representar importante adição contra esse vetor. **Objetivos:** 1) Avaliar os efeitos da exposição à transflutrina sobre grávidas de *Ae. aegypti* e sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de seus descendentes; 2) Desenvolver e avaliar em condições de semicampo e campo um dispositivo liberador passivo de transflutrina (DLT) para inibir a oviposição de *Ae. aegypti*; 3) Avaliar um sistema *push-pull* formado por inibidor de oviposição (DLT) e armadilha GAT para promover a captura massal de mosquitos *Ae. aegypti* na cidade de Piumhi-MG.

Material e Métodos: 1) Em laboratório foi realizada a exposição de grávidas de *Ae. aegypti* à diferentes concentrações de transflutrina (0, 2, 5, 10 e 15%) por 1 minuto. 2) Em semicampo e campo, tiras de juta (10 x 15cm) impregnadas com as mesmas concentrações de transflutrina do experimento anterior, foram colocadas em criadouros artificiais (ovitrampas 10L), preenchidos com água (aproximadamente 2L) e um substrato de oviposição. O efeito do tamanho das tiras de juta (150, 300 e 450cm²) e do posicionamento do DLT em diferentes alturas em relação à borda do criadouro artificial (0, 10, 25 e 50cm) na oviposição de *Ae. aegypti* também foram avaliados em semicampo. 3) Um sistema *push-pull* formado pelos inibidores de oviposição (n=220) e armadilhas GAT (n=352) foi implantado na cidade e comparado a uma área somente com armadilhas GAT de supressão (n=320) e a uma área testemunho (n=27 GATs de monitoramento).

Resultados e Conclusões: 1) Entre as duas cepas de *Ae. aegypti* avaliadas, aproximadamente 39% dos mosquitos expostos foram verificados em “*knockdown*” 1 hora após a exposição e 41% morreram após 24 horas. A transflutrina inibiu a oviposição das fêmeas expostas. Os parâmetros biológicos viabilidade dos ovos, período larval, razão sexual e tamanho alar também foram afetados em diferentes níveis pela exposição à transflutrina. 2) A inibição da oviposição de *Ae. aegypti* pelo DLT foi observada em todas as concentrações em relação ao controle (tira de juta sem transflutrina) em condições de semicampo e de campo. A configuração do DLT desenvolvido que apresentou maior inibição de oviposição de *Ae. aegypti* consistiu em tiras de juta (450cm²) impregnadas com transflutrina (5%) e posicionado na parede interna de criadouros. 3) O sistema *push-pull* provocou uma redução sutil (33%) da população de *Ae. aegypti* na área. Porém, com apenas uma armadilha/imóvel em 50% dos imóveis nas áreas de intervenção, foi obtida uma redução geral de aproximadamente 54% da população de mosquitos nas áreas de estudo. O DLT apresentou baixo custo, fácil produção e manuseio e

pode ser aplicado em estudos de grande escala. Foi verificada a supressão massal de *Ae. aegypti* com armadilhas GAT na cidade de Piumhi.

Palavras-chave: Inibidor de oviposição; liberador passivo; *Aedes aegypti*; *Push-pull*; Controle de vetores

ABSTRACT

Introduction: Innovative methods that modify or prevent *Aedes aegypti* oviposition are extremely relevant to control this mosquito population and the spatial repellent application to inhibit the *Ae. aegypti* oviposition in places where it would normally occur, may represent an important addition against this vector. **Objectives:** 1) To evaluate effects of transfluthrin exposure on gravid *Ae. aegypti* and on biological parameters of their descendant's development; 2) Develop and evaluate under semi-field and field conditions a passive transfluthrin-releasing device (TRD) to inhibit *Ae. aegypti* oviposition; 3) To evaluate a push-pull system consisting of an oviposition inhibitor (TRD) and the Gravid Aedes Trap (GAT) to promote mass *Ae. aegypti* capture in Piumhi-MG. **Material and Methods:** 1) In the laboratory, gravid *Ae. aegypti* were exposed to different transfluthrin concentrations (0, 2, 5, 10 and 15%) for 1 minute. 2) In semi-field and field, jute strips (10 x 15cm) impregnated with the same transfluthrin concentrations of the previous experiment were placed in ovitraps (10L), filled with water (approximately 2L) and an oviposition substrate. The effect of the jute strip sizes (150, 300 and 450cm²) and the TRD positioning at different heights in relation to the edge of the ovitraps (0, 10, 25 and 50cm) on *Ae. aegypti* oviposition were also evaluated under semi-field conditions. 3) A push-pull system composed by oviposition inhibitor (n=220) and the GAT (n=352) was compared to an area with only suppression GAT (n=320) and to a control area (n =27 monitoring GATs). **Results and Conclusions:** 1) Between the two *Ae. aegypti* strains evaluated, approximately 39% of the exposed mosquitoes were verified in knockdown 1 hour after exposure and 41% died after 24 hours. Transfluthrin inhibited oviposition in exposed females. The biological parameters egg viability, larval period, sex ratio and wing size were also affected at different levels by transfluthrin exposure. 2) The *Ae. aegypti* oviposition inhibition by the TRD was observed in all concentrations in relation to the control (jute strip without transfluthrin) in semi-field and field conditions. The TRD configuration that presented greater inhibition of *Ae. aegypti* oviposition consisted of jute strips (450cm²) impregnated with transfluthrin (5%) and positioned on the inner wall of ovitraps. 3) The push-pull system caused a slight decrease (33%) in *Ae. aegypti* population of the area. However, with only one trap/house in 50% of the intervention areas properties, was verified a general decrease of approximately 54% of the mosquito population in the study areas. The TRD had low cost, easy production, handle and can be applied in large-scale studies. It was verified mass *Ae. aegypti* suppression with GAT in Piumhi city.

Keywords: Oviposition inhibitor; Passive emanator, *Aedes aegypti*; Push-pull; Vector control

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Mapa global da distribuição prevista para *Aedes aegypti*.** A probabilidade de ocorrência de *Ae. aegypti* é apresentada no mapa (de 0 azul a 1 vermelho). Fonte: Ding *et al.* (2018).....23
- Figura 2: Ciclo Biológico de *Aedes aegypti*** com respectivos estágios de desenvolvimento: (1) ovos, (2) larvas (Primeiro ao quarto estádios ou L1 a L4), (3) pupa, (4) adulto. Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2008.24
- Figura 3: Armadilha de oviposição (ou ovitrampa)** formada por um reservatório contendo água e um substrato de oviposição. Fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc>31
- Figura 4: Seleção e repasto sanguíneo artificial das fêmeas de *Aedes aegypti*.** Esquema de separação de mosquitos adultos (a) e da alimentação artificial sanguínea baseado numa membrana de politetrafluoretileno que recobre o fundo dos copos (b-c). Detalhes dos copos posicionados sobre os potes com os mosquitos (d) e dos mosquitos realizando repasto (e). Fonte: o autor.52
- Figura 5: Esquema do bioensaio** de exposição à transflutrina em laboratório. (a) Pote com mosquitos, (b) Tira de juta impregnada com transflutrina, e (c) ventilador elétrico. Fonte: o próprio autor.54
- Figura 6: Acondicionamento dos mosquitos durante os experimentos.** A) Pote com mosquitos acoplado a um copo contendo água e substrato para oviposição. B) Substrato de oviposição com ovos de *Aedes aegypti*. Fonte: o próprio autor.55
- Figura 7: Número de ovos** (média \pm erro padrão) de ambas as cepas de *Aedes aegypti* utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).62
- Figura 8: Taxa de eclosão de larvas** (porcentagem \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.63
- Figura 9: Razão sexual** (média \pm erro padrão) de ambas as cepas de *Aedes aegypti* utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a razão sexual média das cepas.67

Figura 10: Tamanho das asas (média ± erro padrão) de <i>Aedes aegypti</i> descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e os tratamentos para cada cepa.	68
Figura 11: Tamanho das asas (média ± erro padrão) de ambas as cepas de <i>Aedes aegypti</i> utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a razão sexual média das cepas.	68
Figura 12: Mapa mostrando os locais de instalação dos criadouros artificiais durante experimento de campo no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) no <i>campus</i> Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Fonte: Adaptado de Google Earth Pro	79
Figura 13: Dispositivo liberador confeccionado com três tiras de juta sobrepostas e fixadas com grampos de metal.	80
Figura 14: Dispositivos liberadores impregnados com diferentes concentrações de transflutrina (2, 5, 10 e 15% - tratamentos) e álcool etílico absoluto (controle) avaliados como inibidores de oviposição de <i>Aedes aegypti</i>	81
Figura 15: Criadouro artificial (ovitampa): Baldes pretos (10 L) utilizados como criadouros artificiais durante os experimentos em campo e semicampo. Os criadouros foram preparados para os experimentos com aproximadamente 1L de água, uma tira de papel camurça (16 x 8 cm) como substrato de oviposição e um dispositivo liberador.	82
Figura 16: Avaliação da posição do dispositivo liberador em relação ao criadouro artificial. Protótipo de dispositivo liberador, montado dentro de uma rede de <i>nylon</i> , com uma cinta de PVC e suspenso por uma haste de metal e barbante acima do criadouro artificial durante o experimento realizado em condições de semicampo.	85
Figura 17: Porcentagem acumulada de ovos de <i>Aedes aegypti</i> do experimento para determinar o tempo de duração dos experimentos com inibidores de oviposição em semicampo. A seta indica o tempo de experimento necessário para atingir ao menos 75% do total de ovos e o tempo determinado para os próximos experimentos em semicampo.	87
Figura 18: Taxa de inibição de oviposição de <i>Aedes aegypti</i> do dispositivo liberador de transflutrina 5% posicionado dentro e em diferentes alturas acima do criadouro artificial em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).	92

Figura 19: Mapa do município de Piumhi onde foi conduzido o estudo de campo com inibidor de oviposição. Minas Gerais, Brasil. Fonte: IBGE, 2020.	102
Figura 20: Dispositivo liberador utilizado no estudo de campo. O liberador foi confeccionado com juta impregnada com transflutrina (2%), tela de metal e uma cobertura de plástico. Grampos de metal e linha de <i>nylon</i> fixam os componentes do dispositivo entre si. Fonte: o próprio autor.	103
Figura 21: Armadilha <i>Gravid Aedes Trap</i> (GAT) em secção transversal. A GAT é formada por um funil de entrada na parte superior, uma câmara translúcida na qual um cartão adesivo foi adicionado, tela retentora impregnada com inseticida e uma base preenchida com água. Fonte: biogents.com/downloads	104
Figura 22: Campanha de divulgação do projeto de supressão massal de mosquitos <i>Aedes aegypti</i> com armadilhas GAT na cidade de Piumhi-MG. 1- Notícia sobre o projeto no Jornal Alto São Francisco, 27 de janeiro de 2022. 2- Entrevista concedida à Rádio Onda Oeste e Jornal da Onda, 28, de janeiro de 2022. 3- Divulgação do projeto em mídia social junto à secretária de saúde do município. Fonte: @dengue.piumhi.mg, 01 de fevereiro de 2022.	105
Figura 23: Folder distribuído à população durante a campanha de divulgação do projeto de supressão de <i>Aedes aegypti</i> com armadilhas em Piumhi-MG.	106
Figura 24: Mapa e esquema ilustrativo da distribuição dos tratamentos na cidade de Piumhi – MG. No mapa, as áreas destacadas em verde representam as áreas Testemunho, em azul as áreas tratadas apenas com armadilhas GAT (“ <i>pull</i> ”) e em vermelho as áreas onde foram implantados o sistema <i>Push-Pull</i> . Fonte: Google Earth Pro. No esquema, os quadrados representam os quarteirões. Pontos verdes representam armadilhas GAT de monitoramento. Pontos azuis as armadilhas GAT de supressão. Triângulos vermelhos representam inibidores de oviposição.	107
Figura 25: Dispositivo inibidor de oviposição e armadilha <i>Gravid Aedes Trap</i> formando um sistema <i>push-pull</i> na cidade de Piumhi (MG). O inibidor foi instalado próximo à um potencial criadouro de <i>Aedes aegypti</i> (componente “ <i>push</i> ”) e armadilha GAT ao fundo (componente “ <i>pull</i> ”). Fonte: o próprio autor.	108
Figura 26: Desenho esquemático da linha do tempo das intervenções realizadas durante o projeto de controle massal de mosquitos entre 2021 e 2023, na cidade de Piumhi-MG.	109

Figura 27: Índice médio de fêmeas de *Aedes aegypti* - IMFA semanal das armadilhas de monitoramento na cidade de Piumhi - MG. Testemunho: área que recebeu apenas armadilhas *Gravid Aedes Trap* – GAT de monitoramento (1 GAT/quadra); somente com armadilhas: área que recebeu armadilhas GAT de monitoramento (1 GAT/quadra) e GAT destinadas à supressão massal de mosquitos (1 GAT/imóvel); *Push-pull*, além das armadilhas de monitoramento (9) e das armadilhas de supressão (374) foram instalados 220 inibidores de oviposição em prováveis criadouros de mosquitos; Pré-intervenção: Semana Epidemiológica – SE 11 (março) de 2021 até a SE 10 (março) de 2022. Intervenção: SE 11 de 2022 até a SE 10 de 2023. As setas vermelhas indicam as SE que ocorreram aplicação de inseticidas nas áreas de estudo com os métodos bomba costal e/ou UBV-pesado. As Linhas tracejadas representam a captura mensal nas armadilhas de supressão. Linhas contínuas representam o IMFA semanal. 118

Figura 28: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área Testemunho durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal. 119

Figura 29: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área Somente com Armadilhas durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal..... 121

Figura 30: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área *Push-pull* durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal..... 123

Figura 31: Fêmeas de *Aedes aegypti* capturadas nas armadilhas de supressão instaladas na cidade de Piumhi - MG. A diferença na média de captura foi considerada significativa quando $p < 0,05$ 124

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Efeitos de *Knockdown* e Mortalidade (média \pm erro padrão) sobre *Aedes aegypti* grávidas expostas a diferentes concentrações de transflutrina. O asterisco (*) nas colunas indica diferença significativa ($p < 0,05$) na quantidade de mosquitos dos tratamentos em relação ao controle. N=75 mosquitos por tratamento (375 por cepa).59
- Tabela 2:** Número de ovos (média \pm erro padrão) coletados e taxa de inibição da oviposição (%) de *Aedes aegypti* expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.61
- Tabela 3:** Período larval (média de dias \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa. 64
- Tabela 4:** Longevidade (média de dias \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos com ambas as cepas..... 65
- Tabela 5:** Razão sexual machos/fêmeas (média \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.....66
- Tabela 6:** Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média \pm Erro Padrão) e taxa de inibição da oviposição (%) em criadouros contendo diferentes concentrações de transflutrina em condições de semicampo. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey..... 88
- Tabela 7:** Quantidade de ovos (média e erro padrão) de *Aedes aegypti* coletados, taxa de inibição da oviposição (%) e valor de p resultantes para os diferentes tratamentos utilizados no experimento de campo. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) teste de significância honesta de Tukey..... 89
- Tabela 8:** Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média \pm Erro Padrão) e taxa de inibição da oviposição (%) de diferentes tamanhos de liberadores impregnados com transflutrina 5%. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey. 90

Tabela 9: Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média ± Erro Padrão) e porcentagem de ovos (%) do dispositivo liberador de transflutrina posicionado dentro e em diferentes alturas acima do criadouro artificial em condições de semicampo. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey. 91

Tabela 10: Tratamentos avaliados, quantidade de armadilhas, cobertura de imóveis com armadilhas *Gravid Aedes Trap* (GAT) e com inibidores de oviposição (IO), nos bairros da cidade de Piumhi – MG. 113

Tabela 11: Captura de fêmeas de *Aedes aegypti* - IMFA (IC 95%), risco relativo (RR) e taxa de redução (%) de mosquitos nas áreas de intervenção. Pré-intervenção: Semana Epidemiológica – SE 11 (março) de 2021 até a SE 10 (março) de 2022. Intervenção: SE 11 de 2022 até a SE 10 de 2023. *Testemunho*: área que recebeu apenas armadilhas de monitoramento (1 GAT/quadra); *somente com armadilhas*: área que recebeu armadilhas de monitoramento e de supressão massal de mosquitos (1 GAT/imóvel); *Push-pull* armadilhas de monitoramento e de armadilhas de supressão (374) e 220 inibidores de oviposição; A quantidade de mosquitos capturados nas armadilhas de supressão também é apresentada. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. 115

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Agente de Controle de Endemias
ANOVA	Analyse of Variance (Análise de variância)
BH	Belo Horizonte
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
CA	Composto ativo
CAEE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior
CDC	Centers of Disease Control and Prevention
CEP	Conselho de Ética em Pesquisa
CHIKV	Chikungunya virus (Vírus da Chikungunya)
CNPq	Conselho Nacional de Pesquisa
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DECIT	Departamento de Ciência e Tecnologia
DENV1	Dengue virus serotype 1 (Sorotipo 1 do vírus da dengue)
DENV2	Dengue virus serotype 2 (Sorotipo 2 do vírus da dengue)
DENV3	Dengue virus serotype 3 (Sorotipo 3 do vírus da dengue)
DENV4	Dengue virus serotype 4 (Sorotipo 4 do vírus da dengue)
DF	Degree of freedom
EP	Erro padrão
FA	Febre Amarela
FNDCT	Fundo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
GAT	Gravid Aedes Trap
GL	Grau de liberdade

GLM	General linear model
Ha	Hectare
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IMFA	Índice Médio de Fêmeas de <i>Aedes</i>
KD	Knockdown
LINTEC	Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo em Controle de Vetores
MCTIC	Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações
MEC	Ministério da Educação
MG	Minas Gerais
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PA	Para análises
PAHO	Pan American Health Organization (Organização Panamericana de Saúde)
PMP	Prefeitura Municipal de Piumhi
PVC	Polyvinyl Chloride (Policloreto de vinil)
RR	Risco Relativo
SES-MG	Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais
SMSP	Secretaria Municipal de Saúde de Piumhi
SSC	Sistema de Semicampo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UBV	Ultra baixo volume
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

URA	Umidade Relativa do Ar
WHO	World Health Organization
ZIKV	Zika virus (Vírus da Zika)

SUMÁRIO

Introdução.....	22
1.1. Aspectos gerais sobre o mosquito <i>Aedes aegypti</i>	22
1.2. Oviposição.....	25
1.3. Odores que afetam o comportamento de oviposição de culicídeos.....	26
1.4. Importância de <i>Aedes aegypti</i> na Saúde Pública.....	27
1.5. Vigilância e controle de <i>Aedes aegypti</i> com armadilhas	30
1.6. Uso e classes de inseticidas	33
1.7. Inovação no controle de vetores	36
1.8. Inibidores de oviposição	38
1.9. Dispositivos passivos como liberadores de compostos voláteis	40
1.10. Técnica <i>push-pull</i> e sua utilização no controle de mosquitos	43
Justificativa	44
Objetivos.....	46
CAPÍTULO 1	47
<i>Avaliação dos efeitos da exposição à transflutrina sobre grávidas de <i>Aedes aegypti</i> e sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de seus descendentes.....</i>	47
Introdução	48
Objetivos.....	50
Material e Métodos	51
Resultados	58
Discussão	69
CAPÍTULO 2	73
<i>Desenvolvimento e avaliação de um dispositivo liberador de transflutrina como inibidor de oviposição de <i>Aedes aegypti</i> em condições de semicampo e campo.....</i>	73
Introdução	74
Objetivos.....	77
Material e Métodos	78
Resultados	87

Discussão	93
CAPÍTULO 3	97
<i>Avaliação de um sistema Push-Pull formado por dispositivos inibidores de oviposição e armadilhas Gravid Aedes Trap na supressão populacional de Aedes aegypti em Piumhi (MG).....</i>	97
Introdução	98
Objetivos.....	101
Material e Métodos	102
Resultados	112
Discussão	125
<i>Conclusões Finais.....</i>	130
<i>Referências Bibliográficas.....</i>	131
Anexos	153
1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	153

Introdução

1.1. Aspectos gerais sobre o mosquito *Aedes aegypti*

A família Culicidae (Insecta: Diptera) é frequentemente estudada por possuir espécies que atuam como vetores de patógenos causadores de várias doenças, principalmente arboviroses que afetam seres humanos e seus animais domésticos (Consoli & Oliveira, 1998). Entre os culicídeos de importância médica, o mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal vetor de patógenos causadores da dengue, chikungunya, zika e febre amarela urbana, doenças que acometem anualmente milhões de pessoas (Bhatt *et al.* 2013; WHO, 2017).

Provavelmente, o mosquito *Ae. aegypti* tem sua origem no continente africano. No entanto, devido às rotas comerciais entre os continentes, se espalhou em sequência para regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Powell & Tabachnick, 2013). Atualmente, *Ae. aegypti* possui uma distribuição global (Figura 1), podendo ser facilmente encontrado no ambiente urbano, dentro das habitações e no peridomicílio, visto que é uma espécie de hábitos muito associados à presença humana. Além disso, o processo de globalização e as mudanças ambientais (incluindo as climáticas), são fatores que aceleram e facilitam a invasão de mosquitos em novas áreas (Kraemer *et al.* 2015).

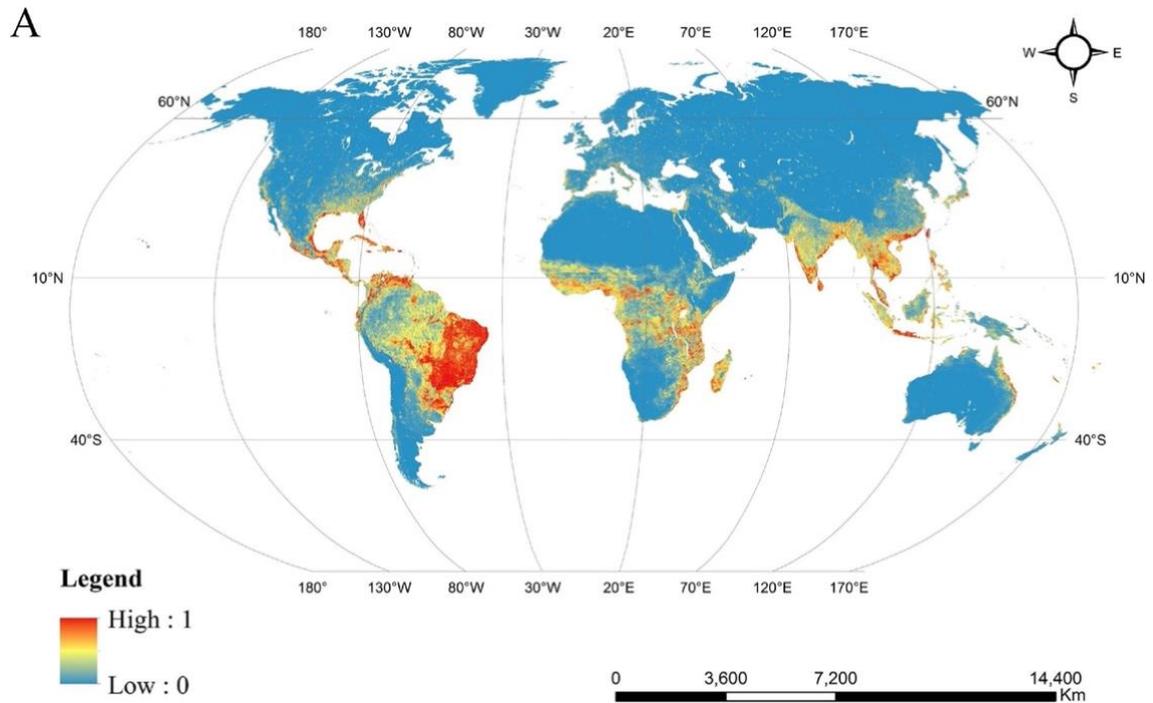


Figura 1: Mapa global da distribuição prevista para *Aedes aegypti*. A probabilidade de ocorrência de *Ae. aegypti* é apresentada no mapa (de 0 azul a 1 vermelho). Fonte: Ding *et al.* (2018).

Aedes aegypti é um mosquito essencialmente urbano, muito ágil e desenvolve suas atividades preferencialmente em período diurno (Valle *et al.* 2021). Apresenta ciclo de desenvolvimento completo, ou holometábolo, passando pelos estágios de ovo, quatro estágios larvais (L1 a L4), pupa e a fase adulta (Figura 2). Em condições controladas de temperatura e umidade, o período de desenvolvimento entre as fases de ovo a adulto leva entre 7 a 10 dias para se completar (Nelson, 1986; Faull & Williams, 2015) e a expectativa de vida dos mosquitos adultos é de 30 a 35 dias (Consoli & Oliveira, 1994; Ministério da Saúde, 2008; Gharsan, 2019).

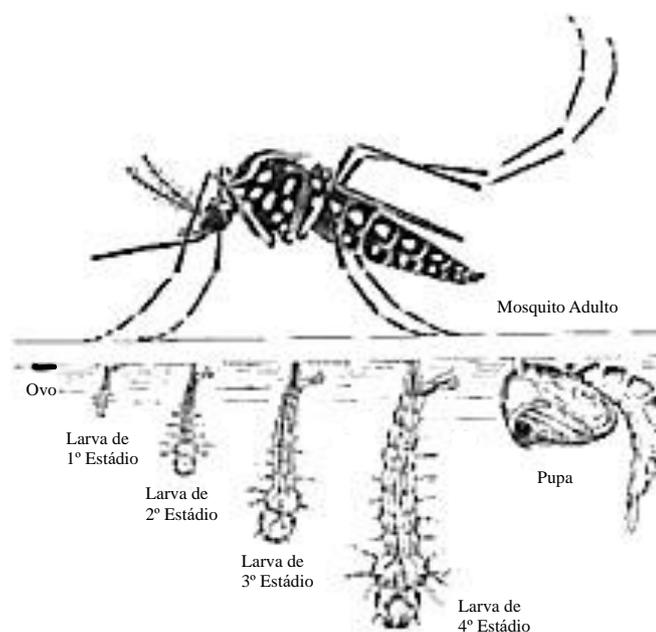


Figura 2: Ciclo Biológico de *Aedes aegypti* com respectivos estágios de desenvolvimento: (1) ovos, (2) larvas (Primeiro ao quarto estádios ou L1 a L4), (3) pupa, (4) adulto. Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2008.

Tanto machos quanto as fêmeas de *Ae. aegypti* se alimentam de soluções açucaradas encontradas em nectários florais, extraflorais e em secreções de afídeos (Tsunoda *et al.* 2010). No entanto, apenas as fêmeas realizam a atividade hematofágica preferencialmente em humanos (Consoli & Oliveira, 1994). Além disso, apresentam discordância gonotrófica, ou seja, precisam realizar a alimentação sanguínea de diferentes pessoas para concluir um ciclo de oviposição, o que contribui para a maior ingestão e transmissão de patógenos (Barata *et al.* 2001; Forattini, 2002).

Após se alimentarem, depositam seus ovos em quaisquer recipientes contendo água limpa ou rica em matéria orgânica (Natal, 2002; Powell & Tabachnick, 2013), mas principalmente em vasos de plantas, frascos (Pinheiro & Tadei, 2002) e reservatórios permanentes como piscinas, caixas d'água, cacimbas e cisternas (Forattini & Brito, 2003). Uma única fêmea de *Ae. aegypti* deposita entre 100 e 200 ovos após uma alimentação sanguínea completa (Zettel & Kaufman, 2012).

As larvas de *Ae. aegypti* são comumente encontradas em reservatórios de água no peridomicílio e permanecem a maior parte do tempo na superfície da água respirando pelo sifão respiratório e submergindo quando perturbadas (Nelson, 1986). Seu desenvolvimento é

dependente da temperatura, suprimento de água e alimento, podendo levar de poucos dias a várias semanas para se tornarem pupas. As pupas não se alimentam durante esse estágio, mas também são responsivas a perturbações no reservatório e após dois dias, o adulto emerge (Zettel & Kaufman, 2012).

Devido a essas características, *Ae. aegypti* é uma espécie considerada antropofílica, dada a preferência por humanos como fonte de alimentação sanguínea e altamente sinantrópica, pois desenvolve suas atividades, como a oviposição, em ambientes relacionados ao homem (Terra *et al.* 2018).

1.2. Oviposição

Aedes aegypti apresenta comportamento de oviposição em saltos (do inglês *skip oviposition*), que consiste em depositar seus ovos em diversos criadouros, distribuindo diferentes quantidades entre eles (Nelson, 1986; Reiter *et al.* 1995; Colton *et al.* 2003). No entanto, normalmente um dos criadouros disponíveis para oviposição é escolhido como o favorito pelas fêmeas, o qual recebe aproximadamente 40% dos ovos (Abreu *et al.* 2015). Tal comportamento aumenta a possibilidade de sobrevivência da prole, pois evita a competição por recursos entre as larvas. Esse comportamento, também aumenta a dificuldade no controle de *Ae. aegypti*, uma vez que vários criadouros possuirão ovos que poderão dar origem a novos indivíduos ao longo de todo o ano (Reiter, 2007).

Preferencialmente, as fêmeas de *Ae. aegypti* depositam seus ovos em superfícies rugosas próximas à lâmina d'água na parte interna dos criadouros (Gadelha & Toda, 1985; Nelson, 1986) e na superfície da água (Abreu *et al.* 2015). Além disso, há uma predileção pela oviposição em reservatórios com matéria orgânica vegetal e localizados no ambiente externo em comparação com aqueles localizados dentro das residências (Kroth *et al.* 2019). Aspectos visuais como a coloração escura do criadouro, a temperatura e a densidade ótica da água (Bentley & Day, 1989), bem como o sombreamento parcial do criadouro (Sunahara *et al.* 2002), são características que também influenciam na escolha dos criadouros pelas fêmeas de *Ae. aegypti*. Por exemplo, criadouros mais escuros são preferidos pelas fêmeas para depositarem seus ovos (Day, 2016; Kroth *et al.* 2019). Adicionalmente, por apresentarem taxa de desenvolvimento larval positivamente relacionado com a temperatura (Tun-Lin *et al.* 2000), *Ae. aegypti* demonstra preferência por criadouros iluminados pela luz solar (Kearney *et al.* 2009; Wong *et al.* 2011). Porém, também existem relatos de preferência de *Ae. aegypti* por

ovipor em criadouros sombreados e com temperaturas mais amenas (Barrera *et al.* 2006), revelando a alta capacidade de adaptação do vetor.

Com relação aos ovos de *Ae. aegypti*, esses são extremamente resistentes à dessecação, podendo ser transportados e se encontrarem viáveis por longos períodos após a postura (Forattini, 2002). Quando armazenados em condições controladas de umidade relativa e temperatura, ovos de *Ae. aegypti* podem sobreviver por mais de 365 dias (Faull & Williams, 2015) e quando armazenados em pneus, sob condições ambientais naturais, sobreviveram por mais tempo do que ovos armazenados em condições controladas de laboratório (Trpis, 1972). A resistência à dessecação dos ovos associada ao comportamento de oviposição em saltos representam alguns dos fatores que contribuem para a propagação do vetor e das epidemias disseminadas por *Ae. aegypti* (Reiter *et al.* 1995; Forattini, 2002).

1.3. Odores que afetam o comportamento de oviposição de culicídeos

A percepção de uma pluma de odor ou de sinais químicos emitidos por hospedeiros ou criadouros é a principal estratégia de orientação do movimento utilizada pelos mosquitos (Takken & Knols, 2010). Ou seja, a detecção de estímulos olfativos são importantes reguladores de comportamentos críticos para a sobrevivência e desenvolvimento dos mosquitos, como por exemplo, a localização e escolha de um sítio de oviposição (Bohdot *et al.* 2010).

A escolha do local onde as fêmeas depositarão seus ovos é de extrema importância para a sobrevivência dos imaturos e, conseqüentemente, a dinâmica populacional da espécie, uma vez que os imaturos são incapazes de se mudarem para outro local com melhor qualidade e disponibilidade de recursos (Mosquera *et al.* 2023). Essa escolha ocorre pela identificação de diversas características presentes no ambiente que sinalizam para a fêmea a qualidade e capacidade daquele local para manter sua prole (Bentley & Day, 1989; Wong *et al.* 2011). Pistas visuais, olfativas e estímulos quimiotáteis auxiliam na localização e na avaliação do local de oviposição e também são utilizados pelas fêmeas para decidirem a quantidade de ovos a ser depositada no criadouro (O'gower, 1963).

Uma combinação de fatores e características bióticas e abióticas presentes nos locais de oviposição interferem na seleção desses como criadouros pelos culicídeos (Wong *et al.* 2011). A presença de compostos orgânicos, bem como bactérias e seus metabólitos atuam como indicadores de qualidade nutricional para o desenvolvimento da prole e são considerados atraentes de oviposição para *Ae. aegypti* (Sant'Ana *et al.* 2006; Ponnusamy *et al.* 2008; Wong *et al.* 2012). A existência prévia de imaturos (ovos, larvas e pupas) co-específicos atuam ora

como estimulantes ou atraentes (Wong *et al.* 2011; Costa 2010), ora como inibidores ou repelentes (Chadee *et al.* 1990; Apostol *et al.* 1994), além da interferência de predadores (Sunahara *et al.* 2002) e parasitos (Zahiri *et al.* 1997) que também podem estar presentes no sítio de oviposição.

De forma complementar, existem semelhanças entre o comportamento de oviposição e da busca por hospedeiros vertebrados pelos mosquitos, pois ambos são realizados pela identificação de pistas visuais, olfativas e quimiotáteis percebidas pelas fêmeas. Por exemplo, (1) a identificação através de aspectos visuais tanto do hospedeiro quanto de um criadouro; (2) a identificação de plumas de odores emitidas pelos hospedeiros e dos compostos voláteis presentes no sítio de oviposição ocorrem à longa distância (> 1 m); enquanto (3) a percepção da temperatura no hospedeiro e da textura no sítio de oviposição ocorrem à curta distância (Bentley & Day, 1989; Eiras & Jepson, 1994). Sendo assim, o conhecimento de tais características comportamentais além da biologia do *Ae. aegypti*, podem ser utilizados para o desenvolvimento de métodos e ferramentas de monitoramento e controle desse vetor e, conseqüentemente, diminuir a transmissão dos patógenos causadores das doenças associadas a esse mosquito.

1.4. Importância de *Aedes aegypti* na Saúde Pública

Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), mais da metade da população mundial está em risco de se infectar por doenças relacionadas a insetos vetores como a dengue, malária e leishmanioses, sendo cerca de 1 bilhão de pessoas diretamente afetadas por tais doenças, chegando a 1 milhão de mortes registradas globalmente (WHO, 2022). Essas doenças são consideradas negligenciadas pois afetam comumente populações vulneráveis, onde os acessos à moradia, saneamento básico e água potável são precários. Porém, doenças como dengue, zika, chikungunya e febre amarela (FA) também afetam grandes centros urbanos e são os principais problemas de saúde pública associados ao vetor *Ae. aegypti* (WHO, 2022).

Frequentemente, a palavra arbovírus é utilizada para definir vírus transmitidos por artrópodes, (do inglês *AR*tropod *BOR*ne *VIRUS*). Existem mais de 500 arbovírus identificados atualmente, dos quais, 150 podem causar doenças em humanos. No Brasil, existem aproximadamente 40 arbovírus que podem afetar humanos, dos quais muitos são transmitidos por *Ae. aegypti*, com destaque para dengue, Zika e FA, vírus pertencentes ao gênero *Flavivirus* (Família Flaviviridae), além de chikungunya e mayaro que são *Alphavirus* (Família Togaviridae) (Valle *et al.* 2021; de Curcio *et al.* 2022).

Entre as doenças que afetam humanos relacionadas a mosquitos vetores, a dengue é atualmente, a que mais se destaca (WHO, 2012). A dengue é uma doença infecciosa causada por quatro sorotipos virais, (DENV1 a DENV4) que possuem suas transmissões associadas aos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Skuse 1895). Essa doença é comum em regiões tropicais e de clima quente como Américas, Ásia e África (WHO, 2012; Bhatt *et al.* 2013). O acometimento pela dengue pode requerer internações hospitalares e, em casos mais severos, resultar em morte. Os sintomas variam entre assintomáticos a severos, sendo que os mais típicos são febres, dores de cabeça, no corpo, nas articulações, nos olhos, manchas pelo corpo e fadiga (Monath, 2020; WHO, 2022). A evolução dos sintomas pode ocasionar choque, desconforto respiratório e sangramentos graves com comprometimento de órgãos (WHO, 2022).

A expansão global da dengue é notável e representa grandes desafios às autoridades de saúde pública (Bhatt *et al.* 2013). É estimado que nas Américas, 500 milhões de pessoas estão em risco de contrair dengue e, anualmente, 100 milhões de pessoas são acometidas pela doença com manifestações sintomáticas (WHO, 2022). No Brasil, segundo publicação do Ministério da Saúde com dados coletados em todo o ano de 2022, foram notificados 1.450.270 casos prováveis de infecção por dengue no país, o que representou um aumento de 162,5% de casos em comparação com o mesmo período de 2021, sendo confirmados 1.016 óbitos pela doença (Ministério da Saúde, 2023).

Em março de 2023, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA), aprovou a comercialização da primeira vacina tetravalente (contra os quatro sorotipos da dengue) Qdenga (Takeda Pharma Ltda) para o público geral de quatro a 60 anos (ANVISA, 2023). Durante o estudo clínico, essa vacina apresentou eficácia global de 80,2% (IC 95%: 73,3 – 85,3), com apenas cinco hospitalizações no grupo de pessoas que receberam a vacina contra 53 hospitalizações no grupo placebo (Biswal *et al.* 2019).

O vírus Zika (ZIKV) foi isolado primariamente em macacos *Rhesus* naturais da Floresta Zika, na Uganda, em 1947 (Dick *et al.* 1952) e também é transmitido a humanos por mosquitos *Ae. aegypti*. Essa doença apresenta sintomatologia geral muito semelhante à da dengue, como febre, cefaleia, exantemas, edemas e dores intensas nas articulações. Porém, infecções de gestantes por Zika, podem ocasionar graves danos ao sistema nervoso central dos fetos, levando à malformação fetal, microcefalia, síndrome de Guillain-Barré, meningites e mielite transversa, (Vasconcelos, 2015; PAHO, 2022).

Em 2015 o Brasil notificou os primeiros casos de infecção por Zika na região Nordeste, mesmo ano em que foi detectada a associação do Zika com a síndrome de Guillain-Barré devido aos recorrentes casos de microcefalia em recém-nascidos naquela região (PAHO, 2022). O vírus se espalhou de forma desigual pelas regiões do Brasil nos anos seguintes, predominando no Nordeste e Sudeste, atingindo o pico de casos de microcefalia em recém nascidos entre o fim do ano de 2015 e início de 2016 (Garcia, 2018). Em 2022, até a semana epidemiológica 48, foram notificados 9.204 casos prováveis de Zika, sendo 591 em gestantes, e um único óbito confirmado para a doença no País naquele ano (Ministério da Saúde, 2023).

Por afetar mais de 100 países no mundo, colocando milhões de pessoas em risco de infecção (Vairo *et al.* 2019), a chikungunya é considerada uma das doenças que requerem ações de controle prioritárias no mundo (WHO, 2015). O vírus Chikungunya (CHIKV) foi isolado em 1952 de um paciente febril durante epidemia na Tanzânia (Robinson, 1955). A fase inicial sintomática da doença (fase aguda) apresenta características inespecíficas assim como dengue e zika, com os pacientes apresentando febre e artralgia principalmente. A persistência e intensificação dos sintomas por até três meses caracteriza a fase subaguda. E, a fase crônica, após o terceiro mês de sintomatologia, com prostração devido às intensas dores e complicações inflamatórias (Vairo *et al.* 2019).

Em dezembro de 2013 ocorreu a emergência de chikungunya nas Américas, através de uma ilha caribenha, e em um ano, o vírus já havia se espalhado por mais de 30 países do continente, sendo relatados 1.071.696 casos suspeitos com 169 óbitos atribuídos à doença (Wahid *et al.* 2017; Silva *et al.* 2018). No Brasil, os primeiros casos foram detectados em setembro de 2014 (Nunes *et al.* 2015) e já em 2015, 43.253 casos foram confirmados e 63.810 em 2016 (Silva *et al.* 2018). Em 2022, foram notificados 174.517 casos prováveis de chikungunya no Brasil, com 94 óbitos confirmados pela doença, ressaltando a circulação ativa desse vírus no país (Ministério da Saúde, 2022).

Atualmente, sete vacinas contra a chikungunya estão em desenvolvimento no mundo, sendo que a $\Delta 5nsP3$ (Valneva) é a única que se encontra em processo de licenciamento após ter alcançado 98,9% de soroconversão em adultos voluntários com apenas uma dose (Roongaraya & Boonyasuppayakorn, 2023). O vírus causador da febre amarela também é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, mas espécies de mosquitos pertencentes aos gêneros *Sabethes* e *Haemagogus* também são consideradas vetores desse vírus em ambientes silvestres (PAHO, 2022b).

A FA é uma doença febril hemorrágica que apresenta como sintomas, dores de cabeça e musculares, icterícia, náuseas, vômitos e fadiga, levando quase metade dos pacientes que desenvolvem sintomas graves, ao óbito em até 10 dias. No entanto, a FA é a única doença viral relacionada ao *Ae. aegypti* que possui vacina disponível para a população atualmente e uma única dose confere imunidade à doença ao longo da vida (PAHO, 2022b).

A FA apresenta dois ciclos de classificação: Silvestre: o ciclo ocorre comumente em florestas tropicais onde os primatas não-humanos (reservatórios primários), são picados por mosquitos selvagens, que passam o vírus para outros macacos ou humanos que ocasionalmente se encontram nessas áreas; Urbano: é o ciclo caracterizado por grandes epidemias em áreas superpovoadas, onde pessoas infectadas albergam o vírus e mosquitos urbanos, como o *Ae. aegypti*, transmitem o vírus de pessoa para pessoa. A falta de vacinação agrava esses surtos (PAHO, 2022b).

Existem relatos de doenças similares à FA desde os séculos XIV e XV, mas a doença só foi reconhecida como de importância pública após grandes epidemias no século XVIII (Barret & Monath, 2003). A FA é uma doença endêmica das áreas tropicais da América e África (Monath & Vasconcelos, 2015) e, atualmente, continua expandindo sua área de ocorrência no Brasil, o que pode ser verificado com os casos de epizootias (mortes de macacos) em 2018 (PAHO, 2022b), indicando alto risco de transmissão a humanos. Em 2022, 686 eventos envolvendo primatas não-humanos mortos foram notificados, porém apenas dois foram confirmados por critérios laboratoriais e atribuídos ao vírus da febre amarela. Nesse mesmo ano, 158 casos suspeitos em humanos foram notificados, mas nenhum foi confirmado até então (Ministério da Saúde, 2022).

Tendo em vista que todas as doenças relacionadas ao mosquito *Ae. aegypti* continuam expandindo suas fronteiras, devido à circulação ativa dos vírus que infectam milhões de pessoas anualmente, ressalta-se a importância de medidas preventivas, como a vacinação (no caso da febre amarela), além de estratégias de vigilância e controle populacional dos vetores (PAHO, 2022b).

1.5. Vigilância e controle de *Aedes aegypti* com armadilhas

Por definição, vigilância (ou monitoramento) entomológica pode ser conceituada como a observação contínua de aspectos biológicos e ecológicos das populações de insetos vetores, a fim de detectar alterações no perfil dessas populações e da transmissão de patógenos causadores de doenças, propondo ainda, estratégias de prevenção e controle (Gomes, 2002). Sendo assim,

a vigilância das populações de *Ae. aegypti* é realizada pela amostragem do vetor em qualquer fase de vida (ovo, larva, pupa ou adulto) nas áreas em risco potencial de doenças, com o objetivo de direcionar estratégias de controle do vetor nesses locais. A seleção da melhor estratégia de amostragem e também de controle de vetores depende do tempo, recursos financeiros e de mão de obra disponíveis e também do nível de infestação (WHO, 2017).

Atualmente, a principal estratégia de vigilância entomológica adotada mundialmente é a pesquisa larvária (Achee *et al.* 2015; Bowman *et al.* 2016), que ocorre detalhadamente em cada imóvel pela busca ativa por criadouros e recipientes que contenham larvas e pupas. Após a pesquisa larvária, podem ser calculados índices entomológicos como o índice de Breteau, índice Predial e índices de positividade dos recipientes, que fornecem informações essenciais para o auxílio na tomada de decisão das autoridades de saúde em relação aos métodos e técnicas de controle vetorial a serem empregadas (Ministério da Saúde, 2009).

De forma similar, a armadilha de oviposição (ou ovitrampa) é muito utilizada para coletar ovos de *Aedes* sp. principalmente para a detecção do vetor em populações com baixa densidade (Ministério da Saúde, 2009). Essa armadilha foi desenvolvida por Fay & Perry (1965) e consiste em um recipiente preto fosco, contendo em seu interior água ou infusão de gramíneas e um substrato rugoso para oviposição na parede interna do recipiente (Figura 3).



Figura 3: Armadilha de oviposição (ou ovitrampa) formada por um reservatório contendo água e um substrato de oviposição. Fonte: <http://www.fiocruz.br/ioc>

Adicionalmente, a ovitrampa tem fornecido índices entomológicos sensíveis à presença de *Ae. aegypti* do que aqueles obtidos com a pesquisa larvária (Braga *et al.* 2000; Morato *et al.*

2005), sendo, portanto, um método muito sensível na detecção do *Ae. aegypti* (Gama *et al.* 2007; Resende *et al.* 2013; Depoli *et al.* 2016). Armadilhas de oviposição utilizadas na vigilância de vetores podem ser modificadas em armadilhas letais para os mosquitos pela simples adição de inseticidas nos substratos de oviposição ou adesivos de superfície no interior das armadilhas (Eiras & Resende, 2009; Mackay *et al.* 2013), o que permite sua utilização como ferramenta de supressão da população de *Ae. aegypti* quando aplicada em grande escala (WHO, 2009; Barrera *et al.* 2014).

Existem diversas técnicas que são empregadas na captura de mosquitos adultos, como aspiradores elétricos, capturadores de Castro ou puçás (Nelson, 1994). Existem também vários modelos de armadilhas para captura de mosquitos que funcionam com diferentes técnicas de atração dos insetos, seja de forma luminosa como as do tipo CDC e suas variações (Sudia & Chamberlain, 1962; Fay e Prince, 1970; Pugedo *et al.* 2005), Shannon (Shannon, 1939) ou pela utilização de estímulos visuais e olfativos como a BG-Sentinel[®] que utiliza o atraente sintético BG-Lure[®] (Kröckel *et al.* 2006) e a MosquiTRAP[®] que utiliza o AtrAedes[®] (Eiras & Resende, 2009).

Além disso, as armadilhas podem ser divididas em duas categorias: ativas ou passivas. Armadilhas ativas possuem componentes que necessitam de uma fonte de energia elétrica para seu funcionamento, como luzes ou ventiladores de sucção, o que pode ser um fator limitante à sua utilização, enquanto as armadilhas passivas não dependem de fontes energéticas para atuarem. Sendo assim, as armadilhas passivas são mais desejáveis para uso em programas de monitoramento de vetores (Eiras *et al.* 2014).

Em relação ao controle de vetores, e mais especificamente do *Ae. aegypti*, nas últimas décadas, a OMS tem adotado e incentivado o controle integrado de *Ae. aegypti*, que consiste em um processo racional de decisão-ação que otimiza a utilização dos recursos no controle vetorial com o objetivo de realizar ações práticas, efetivas e sustentáveis econômica e ecologicamente (WHO, 2012). O controle integrado tem como elementos principais: (1) uma abordagem integrada, combinando diferentes ferramentas de controle de várias doenças, aplicações de métodos químicos e não-químicos e integração com outros métodos de controle de doenças como vacinas e drogas; (2) tomada de decisões baseadas em evidências, como adaptação de estratégias e intervenções para o controle direcionadas pela pesquisa de monitoramento e avaliação; (3) colaboração entre os diferentes setores de gestão da saúde, tanto na esfera pública quanto na privada, no planejamento das ações; (4) mobilização da sociedade com participação popular e estabelecimento de legislações de saúde pública e, por fim; (5)

capacitação, treinamento contínuo e educação da equipe de trabalho em diferentes níveis (PAHO, 2019).

Especificamente em relação às ferramentas e técnicas utilizadas para o controle populacional de mosquitos, são realizados três tipos de abordagens: (1) o controle mecânico, que visa eliminar ou impedir o acesso dos mosquitos a criadouros naturais ou artificiais no meio urbano. Práticas de coleta, armazenamento e destinação correta de resíduos sólidos além de vedação correta de caixas d'água são exemplos de controle mecânico (Ministério da Saúde, 2009); (2) o controle biológico, que é realizado com a utilização de inimigos naturais (predadores ou patógenos) que atuam principalmente na redução das formas imaturas dos vetores. Peixes larvófagos (*Gambusia* sp.) e bactérias entomopatogênicas (*Bacillus thuringiensis israelensis* – Bti) são os organismos mais utilizados (Ministério da Saúde, 2009); e (3) o controle químico, que consiste na utilização emergencial, durante epidemias e surtos, de produtos químicos com ações larvicidas e inseticidas (Ministério da Saúde, 2009). No entanto, a utilização prolongada de inseticidas pode levar à seleção de organismos resistentes (WHO, 2009), ser prejudicial ao meio ambiente, afetar outras espécies e ser financeiramente onerosa (Sarwar, 2015). Sendo assim, o monitoramento e avaliações periódicas das estratégias de controle são recomendados para verificar se a efetividade se mantém e planejar alterações necessárias com especial atenção para o controle químico utilizando inseticidas (PAHO, 2019).

1.6. Uso e classes de inseticidas

Conceitualmente, inseticidas são substâncias de origem química ou biológica, naturais ou artificiais, desenvolvidas com o objetivo de matar insetos (Ware & Whitacre, 2004). Atualmente, os principais inseticidas utilizados na saúde pública para controle químico de mosquitos, estão agrupados em quatro classes: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides (Braga & Valle, 2008).

Os organoclorados são inseticidas que contém carbono, hidrogênio e ao menos uma clorina na sua composição química. O DDT (Dicloro difenil tricloroetano) é o inseticida mais antigo do grupo organoclorado e também o mais utilizado e conhecido mundialmente (Ware & Whitacre, 2004). O modo de ação do DDT se baseia no desbalanço dos íons de sódio e potássio dos neurônios, que causa disparos na transmissão dos impulsos nervosos levando a convulsões e morte tanto de insetos quanto de mamíferos (Ware & Whitacre, 2004). São lipossolúveis altamente tóxicos e de grande bioacumulação (Coats, 1990). Embora o DDT tenha sua utilização proibida em muitos países devido aos efeitos tóxicos em humanos, ele ainda é

produzido atualmente e utilizado em programas de controle de vetores de vários países (Van Den Berg *et al.* 2012).

Em relação aos inseticidas que contêm fósforo na composição química são chamados de organofosforados, como exemplos, o malation e o temefós. São os inseticidas mais tóxicos aos vertebrados e por isso, muitos inseticidas dessa classe tiveram sua produção descontinuada (Ware & Whitacre, 2004). No entanto, ainda são muito utilizados como inseticidas de ação espacial, residual e larvicidas por serem rapidamente oxidados e deixarem uma carga residual menor em comparação com os organoclorados (Fisher & van Wazer, 1961; Van Den Berg *et al.* 2012).

Todos os carbamatos são compostos derivados do ácido carbâmico e assim como os organofosforados, agem na inibição da enzima acetilcolinesterase resultando na acumulação do neurotransmissor acetilcolina e, conseqüentemente em paralisias musculares. Existem diversos inseticidas da classe carbamatos mundialmente distribuídos e utilizados pois possuem baixa toxicidade para humanos (Ware & Whitacre, 2004).

Por fim, os piretroides são compostos orgânicos sintéticos análogos ao piretro, obtidos originalmente através da trituração de flores do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Devido à sua alta efetividade como inseticida e baixa toxicidade em aves, mamíferos e plantas, os piretroides têm sido utilizados em substituição à inseticidas de outras classes como organofosforados e carbamatos (Gajendiran & Abraham, 2018). Eles agem paralisando o sistema nervoso central dos insetos através da alteração cinética dos canais de sódio nas células nervosas, impedindo a transmissão do impulso nervoso, que pode resultar em paralisias e morte (Ware & Whitacre, 2004). Embora exibam excelentes resultados na repelência e morte de diversos insetos e organismos-alvo, seu uso indiscriminado, assim como o de todas as classes de inseticidas, pode gerar a seleção de indivíduos insensíveis à ação do piretroide, ocasionando, por exemplo, a seleção de populações de insetos resistentes (Wagman *et al.* 2015; Gajediran & Abraham, 2018; Sukkanon *et al.* 2019). Entre os principais piretroides utilizados, estão a permetrina, metoflutrina e a transflutrina.

A transflutrina é um inseticida volátil da classe dos piretroides muito utilizada contra pragas urbanas como moscas, formigas, baratas e principalmente mosquitos (Sukkanon *et al.* 2019; Sakamoto & Goka, 2021; Bibbs *et al.* 2018b; Gajendiran & Abraham, 2018). Diferente de outros piretroides, a transflutrina possui alta pressão de vapor, permitindo uma ebulição passiva do composto em temperatura ambiente, ou seja, não requer uma fonte externa de energia

para se volatilizar (McPhatter *et al.* 2017). Por esse motivo, a transflutrina é um dos principais ingredientes ativos utilizados atualmente como repelente espacial em *sprays*, pastilhas e repelentes espirais comercialmente disponível para uso doméstico (Mulla *et al.* 2001; McPhatter *et al.* 2017).

Diferentes efeitos e respostas comportamentais em mosquitos já foram verificados com a utilização da transflutrina. Em um estudo realizado em laboratório com linhagens de *Ae. aegypti* suscetíveis à ação da transflutrina, baixas dosagens (entre 0,06 e 0,01%) do piretroide provocaram a mortalidade de até 99% dos mosquitos (Sukkanon *et al.* 2019). Em outro estudo, foi observado que a transflutrina apresentou maiores taxas de toxicidade e mortalidade em testes de laboratório contra *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 e *Anopheles quadrimacullatus* Say, 1824 em comparação com outros quatro piretroides: meperflutrina, metoflutrina, praletrina e flumetrina (Bibbs *et al.* 2018). Mesmo quando utilizada em dispositivos comerciais para uso doméstico, nas concentrações de 0,40 e 1%, a transflutrina foi capaz de alterar comportamentos relacionados à busca por hospedeiros (pouso, sondagem e repasto sanguíneo) em *Ae. aegypti* durante experimentos realizados em condições de laboratório e semicampo (McPhatter *et al.* 2017).

No entanto, existem poucos estudos que mostram os efeitos da exposição à transflutrina na oviposição de *Ae. aegypti*. Segundo Bibbs *et al.* (2018a), fêmeas de *Ae. aegypti* expostas a doses subletais de transflutrina (entre 0,009 e 0,026%) comparadas com fêmeas não expostas, reduziram de forma significativa a dispersão ($p < 0.0001$), a quantidade ($p < 0.0001$) e a viabilidade dos ovos (~30%) depositados nos criadouros artificiais disponibilizados durante bioensaios laboratoriais. Em experimentos também conduzidos em laboratório, grávidas de *Ae. aegypti* expostas a $8,4 \times 10^{-4}$ mg/mL de transflutrina, apresentaram alta atividade olfativa sendo mais atraídas para sítios de oviposição do que grávidas não expostas (Choi *et al.* 2016). Na Tanzânia, espirais com 0,03% de transflutrina reduziram em 97% a postura de ovos de *Anopheles arabiensis* Patton, 1905, em experimento conduzido em semicampo (Ogoma *et al.* 2014).

Tais estudos anteriormente citados, realizados em condições laboratoriais ou de semicampo, demonstram que a transflutrina é capaz de modificar o comportamento de oviposição de mosquitos, representando adições importantes ao arsenal de combate a mosquitos em geral (Achee & Grieco, 2018). Porém, pouco se sabe sobre o efeito inibidor de oviposição da transflutrina em *Ae. aegypti* (Bibbs *et al.* 2018a).

Como atualmente os piretroides são a classe de inseticidas mais utilizada no mundo, são crescentes as preocupações sobre a pressão seletiva, devido ao seu uso indiscriminado, resultar em seleção de organismos resistentes ou insensíveis aos efeitos de excitotoxicidade causados por estes compostos (Wagman *et al.* 2015a). De fato, existem relatos de populações de *Ae. aegypti* ao redor do mundo que demonstram diferentes graus de resistência a piretroides (Ranson *et al.* 2011; Amelia-Yap *et al.* 2018; Seixas *et al.* 2017; Harburguer *et al.* 2022), inclusive no Brasil (Macoris *et al.* 2018; Rahman *et al.* 2021). No entanto, uma vantagem que os piretroides voláteis, como a transflutrina, apresentam é que baixas doses desses compostos podem produzir efeitos tóxico-repelentes nos insetos-alvo (Bibbs *et al.* 2018b; Sukkanon *et al.* 2019), o que pode diminuir a pressão seletiva sobre tais organismos e conseqüentemente, reduzir a probabilidade de formação de populações resistentes.

Sendo assim, modificar o comportamento de oviposição do *Ae. aegypti*, impedindo que a oviposição ocorra em locais onde naturalmente ocorreria, por meio da utilização de compostos inibidores de oviposição, por exemplo, pode ser considerada uma nova estratégia associada ao controle do vetor e a transflutrina é uma excelente candidata a integrar o arsenal de combate aos vetores, atuando como inibidora da oviposição de *Ae. aegypti*.

1.7. Inovação no controle de vetores

Ferramentas e inovações tecnológicas recentemente desenvolvidas têm auxiliado no combate a vetores e foram revisadas por Zara *et al.* (2016) e, mais recentemente, por Achee *et al.* (2019). Entre as várias estratégias que estão em desenvolvimento, a utilização de mosquitos infectados artificialmente com a bactéria *Wolbachia* Hertig & Wolbach, 1924, mosquitos esterilizados por radiação e a utilização de armadilhas letais se destacam.

A técnica de controle biológico utilizando a *Wolbachia* consiste em infectar e liberar no ambiente mosquitos com a bactéria que é simbiote e intracelular obrigatória (McMeniman *et al.* 2009; Walker *et al.* 2011). Quando um mosquito macho infectado acasala com uma fêmea não infectada, ocorre a transmissão da bactéria e a prole gerada é infértil, o que reduz drasticamente a população de mosquitos e bloqueia a transmissão de patógenos (Gesto *et al.* 2021). Após uma longa fase (2017 a 2019) de liberação de mosquitos infectados em Niterói, Brasil, pesquisadores relataram que mesmo com uma frequência heterogênea de 33-90% de mosquitos *Ae. aegypti* infectados com *Wolbachia*, foram verificadas reduções de 69% de casos de dengue e 56% dos casos de Chikungunya na área de estudo (Pinto *et al.* 2021). Embora esta

metodologia reduza a transmissão de patógenos, a população do vetor no meio ambiente é elevada, ocasionando incômodos à população humana (Azambuja *et al.* 2019).

Outras técnicas que reduzem a população de mosquitos, mas ainda estão em desenvolvimento, são a liberação de machos estéreis através de tratamento químico ou irradiação (Black *et al.* 2011) e a liberação de machos portando genes letais (Benelli *et al.* 2013). Esses machos ao se acasalarem com as fêmeas selvagens, não produzirão prole, resultando na diminuição da população ao longo do tempo (Flores & O’neill, 2018). Assim como a técnica utilizando *Wolbachia*, tais abordagens requerem liberação de grandes quantidades de mosquitos tratados pois populações selvagens podem substituir as tratadas (Zara *et al.* 2016).

Armadilhas são comumente utilizadas para amostragens e vigilância de insetos vetores. Porém, nas últimas décadas, diversas armadilhas que capturam e matam mosquitos têm sido empregadas em estudos de intervenção para captura massal de *Ae. aegypti* na tentativa de reduzir as populações do mosquito, principalmente devido à sua alta especificidade e eficiência em capturar os insetos-alvo (Achee *et al.* 2019). A maioria das armadilhas desenvolvidas capturam (e matam) grávidas de *Ae. aegypti*, impedindo que as mesmas realizem a oviposição, o que, conseqüentemente contribui para a supressão da população de mosquitos (Rapley *et al.* 2009; Ritchie *et al.* 2009; Degener *et al.* 2014; 2015; Barrera *et al.* 2019; Eiras *et al.* 2021). Para garantir sua eficácia, as armadilhas são desenvolvidas pela combinação de características atrativas para os insetos, como sinais químicos, coloração, temperatura e umidade. A armadilha *Gravid Aedes Trap* – GAT é um exemplo de armadilha desenvolvida para captura de grávidas de *Ae. aegypti*. Ela funciona de forma passiva, ou seja, não necessita de uma fonte de energia ou calor. Como principais componentes, a GAT é formada por uma base preta que pode ser preenchida por água ou infusão, uma câmara translúcida e um funil que permite a entrada de mosquitos na parte superior da armadilha (Eiras *et al.* 2014). Cartões adesivos (Heringer *et al.* 2016) e atraentes sintéticos (Eiras *et al.* 2021) podem ser adicionados no interior da armadilha para maximizar a captura de mosquitos. Com todas essas características, a GAT é altamente eficaz e sensível à captura de fêmeas de *Ae. aegypti* (Ritchie *et al.* 2014), além de apresentar baixo custo e facilidade operacionais (Mota, 2018; Eiras *et al.* 2021). Portanto, a GAT é uma excelente ferramenta que pode ser empregada em programas de controle de vetores urbanos.

Estudos recentes realizados em três países, Brasil (Mota, 2018), Estados Unidos da América (Johnson *et al.* 2018) e Alemanha (Becker *et al.* 2017), relataram redução significativa da população de *Ae. aegypti* com a utilização da GAT em intervenções de larga escala (coleta

massal). Foi verificado ainda, que o impacto na população de *Ae. aegypti* da área de estudo, manteve-se por algumas semanas após a remoção das armadilhas (Mota, 2018). No entanto, para alcançar resultados expressivos na supressão populacional de *Ae. aegypti*, estudos sugerem uma cobertura acima de 80% dos imóveis nas áreas de intervenção com as armadilhas (Barrera *et al.* 2014; Johnson *et al.* 2017).

De forma complementar, dispositivos liberadores podem ser utilizados como aditivos ou em sinergismo para aumentar a eficácia das armadilhas de captura no sistema de supressão populacional, seja liberando odores altamente atrativos para os mosquitos nas armadilhas (Batista *et al.* 2017; 2018) ou liberando substâncias repelentes que posicionados em locais estratégicos, inibem o acesso dos mosquitos na área de atuação do composto, podendo provocar uma movimentação dos mosquitos para as armadilhas atrativas posicionadas no entorno da área de interesse (Ogoma *et al.* 2012; Govella *et al.* 2015; Ogoma *et al.* 2017; Masalu *et al.* 2017; 2018; Mmbando *et al.* 2019; Masalu *et al.* 2020).

Por fim, o desenvolvimento de novas estratégias de controle vetorial, como a utilização de armadilhas letais, produção de mosquitos estéreis e/ou infectados artificialmente com a bactéria *Wolbachia*, novos sistemas liberadores e mecanismos de avaliação das ferramentas de controle vetorial empregadas, são incentivadas e cada vez mais necessárias, uma vez que arboviroses (re)emergem a cada dia, provocando novos surtos, bem como as populações de *Ae. aegypti* continuam ampliando suas fronteiras (PAHO, 2019).

1.8. Inibidores de oviposição

Durante o processo de procura por criadouros para deposição dos ovos, vários compostos químicos podem atuar como atraentes, repelentes estimulantes ou deterrentes de oviposição aos mosquitos. Portanto, a terminologia utilizada na literatura para definir o papel de determinadas substâncias no comportamento de oviposição deve ser utilizada de maneira correta para se evitar equívocos e facilitar a compreensão (Bentley e Day, 1989). Por exemplo, o termo deterrente é utilizado na literatura para designar (1) uma substância que impede a entrada de mosquitos em um local (WHO, 2013b), (2) que previne contra picadas de mosquitos (Ali *et al.* 2014) ou, ainda, como uma substância ou composto que (3) impede a oviposição de mosquitos em um determinado local (Shaalán & Canyon, 2018). E para provocar ainda mais imprecisões ao uso das terminologias, diferentes concentrações de um mesmo composto, podem induzir diferentes respostas comportamentais no inseto, como por exemplo, paralisias,

movimentos de orientação para longe (repelente) ou em direção (atraente) à fonte emissora (Dethier *et al.* 1960).

As definições dos comportamentos resultantes dos estímulos percebidos pelos insetos, já foram previamente discutidas em outros estudos (Dethier *et al.* 1960; White *et al.* 2015; Day, 2016). Dessa forma, na presente tese, o termo inibidor de oviposição foi adotado como sinônimo de deterrente de oviposição, ou seja, um composto que provoca a redução da quantidade de ovos depositados no local que foi aplicado.

Constantemente, atraentes, repelentes, estimulantes e inibidores de oviposição têm sido produzidos sinteticamente a partir do isolamento e identificação de compostos de origem orgânica, como infusões de plantas, bactérias e também dos estágios imaturos dos mosquitos (Afify & Galizia, 2015). Como exemplo, atraentes sintéticos para oviposição de *Ae. aegypti* identificados e isolados a partir de infusão de capim colônia (*Panicum maximum*), ou, ainda, atraentes sintéticos que simulam odores humanos são utilizados para aumentar a eficiência de captura em armadilhas para mosquitos (Eiras *et al.* 2010; 2018; Batista *et al.* 2017; 2018).

Primordialmente, o efeito inibidor de oviposição de mosquitos provocado por mais de 70 plantas, extratos e óleos de origem vegetal já foi relatado (Shaalán & Canyon, 2018). No entanto, a formulação de um produto final de origem natural para inibir a oviposição de mosquitos, apresenta grandes dificuldades na padronização química da produção, possui a necessidade de ser encapsulado, além de apresentar baixa persistência, rápida degradação dos compostos ativos no ambiente e ser necessárias grandes quantidades de compostos, uma vez que o efeito inibidor é dose-dependente e diretamente proporcional à concentração (Shaalán & Canyon, 2018).

Atualmente, a evolução da nanotecnologia tem possibilitado o desenvolvimento de nanomateriais sintetizados a partir da união de extratos vegetais e nanopartículas de metais, resultando em produtos de ação inseticida, ovicida, larvicida e também de inibidores de oviposição (Cáceres *et al.* 2019; Manimegalai *et al.* 2020; Shinde *et al.* 2023). Mas embora sejam produtos considerados ecologicamente corretos por não utilizarem produtos químicos na sua fabricação (Benelli *et al.* 2018), ainda existem muitas lacunas no conhecimento a respeito dos nanomateriais, como o desconhecimento da toxicidade em espécies não-alvo e a falta de aplicações práticas em campo (Benelli, 2016c).

Por outro lado, embora inseticidas tenham sido desenvolvidos para matar os insetos, o efeito inibidor de oviposição de diversos desses compostos já foi observado sobre várias

espécies de mosquitos: DDT *spray* com a concentração de 2 g/m² aplicado em um tapete e transflutrina (0,03%) e metoflutrina (0,00625%) sob a forma de espirais, reduziram em 90, 97 e 91%, respectivamente, a quantidade de ovos depositados por mosquitos *Anopheles arabiensis* (s. s.) em cabanas experimentais na Tailândia (Ogoma *et al.* 2014). Em outro estudo, *Culex pipens* depositaram menos ovos em criadouros tratados com temefós (organofosforado) e outros larvicidas (Akiner & Eksi, 2015). *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* apresentaram redução do comportamento de oviposição em saltos, da viabilidade e da quantidade de ovos depositados após serem expostos a doses muito baixas do composto transflutrina (Bibbs *et al.* 2018).

Como observado, a utilização de baixas doses dos compostos inseticidas, inibiram a oviposição de mosquitos (Ogoma *et al.* 2014; Bibbs *et al.* 2018). Adicionalmente, os inseticidas voláteis como a transflutrina, podem ser aplicados em um amplo espectro de formulações e dispositivos liberadores que permitem a ação do composto por períodos prolongados, representando grandes vantagens sobre os outros tipos de inibidores de oviposição (Buhagiar *et al.* 2017; Bibbs *et al.* 2018).

Diferentemente dos atraentes ou repelentes que tendem a agir em médio e longo alcance orientando o movimento dos mosquitos, os compostos estimulantes e inibidores de oviposição agem em curto alcance ou apenas em contato com os mosquitos, influenciando na decisão final pelas fêmeas sobre ovipor ou não no local (Day, 2016). Dessa forma, o método de liberação do inibidor de oviposição no ambiente, é de suma importância para a obtenção das respostas desejadas.

1.9. Dispositivos passivos como liberadores de compostos voláteis

Embora compostos voláteis sintéticos sejam capazes de modificar o comportamento de insetos, agindo como repelentes, atraentes ou inibidores, o seu sucesso é influenciado pelo sistema de dispersão de odores utilizado, isto é, a matriz liberadora. A escolha do material ideal para atuar como matriz liberadora influencia diretamente na efetividade e duração do composto (Mukabana *et al.* 2012; Mweresa *et al.* 2014; Okumu *et al.* 2014), sendo desejável que a liberação ocorra em doses fixas e contínuas ao longo do tempo, suficientemente altas para serem detectadas pelos insetos e permanecerem ativas por períodos prolongados (Vilela & Della-Lúcia, 2001; Heuskin *et al.* 2011; Okumu *et al.* 2014).

Geralmente, sistemas liberadores passivos são os mais utilizados, os quais não necessitam de uma fonte de energia, calor ou fluxo de ar para a liberação dos compostos ativos (Kline & Urban, 2018). A utilização de liberadores de substâncias de ação repelente de insetos

se iniciou com estudos voltados para o controle de pragas agrícolas e geralmente são classificados em três tipos: base líquida para pulverização, reservatórios de formulações ou liberadores de matrizes sólidas (Heuskin *et al.* 2011).

Nas formulações pulverizáveis, utilizados em forma de *sprays*, o ingrediente ativo é dissolvido no líquido, podendo ou não conter estabilizantes, antioxidantes e surfactantes para proteger o composto ativo e são, geralmente, biodegradáveis, com tempo de eficiência do ingrediente ativo durando de dias a semanas dependendo do ambiente, tamanho e capacidade do liberador (Heuskin *et al.* 2011)

Liberadores do tipo reservatório, por sua vez, possuem duas partes: (a) o reservatório, que pode ser um tubo ou pote selado, e (b) a área de difusão, como uma membrana permeável pela qual o composto ativo pode se difundir (Heuskin *et al.* 2011). Por exemplo, um recipiente impermeável (reservatório) e uma membrana polimérica externa que sela o recipiente, mas ao mesmo tempo permite a liberação do composto no ambiente (Peres *et al.* 2019). Recentemente, quando avaliado em experimentos de campo realizados no Brasil e na Tanzânia, um liberador do tipo reservatório com atraente sintético que imita o odor humano, obteve resultados satisfatórios na atração de mosquitos para armadilhas quando comparado com outras matrizes utilizadas (Batista, 2019).

Matrizes sólidas são liberadores passivos tais como tubos, frascos e sachês de polietileno de baixa densidade (Torr *et al.* 1997, Mihok *et al.* 2007), polímeros espirais (Tomaszewska *et al.* 2005), tiras de *nylon* (Okumu *et al.* 2014), microcápsulas revestidas em cartucho de polipropileno (Batista *et al.* 2017).

Materiais têxteis também são utilizados como liberadores do tipo matrizes sólidas. Os liberadores confeccionados com materiais têxteis são duráveis, apresentam baixo custo e fácil manipulação para serem utilizados como efetivos liberadores de odores (Mukabana *et al.* 2012), como por exemplo tiras de *nylon* liberando atrativos sintéticos de *An. gambiae* s. s. (Okumu *et al.* 2014; Mukabana *et al.* 2012; Mweresa *et al.* 2014) ou ainda tecidos de algodão e poliéster avaliados como liberadores de repelentes (Rao *et al.* 1991; Habeish *et al.* 2010; Mweresa *et al.* 2014; Paiz-Moscoso *et al.* 2020).

Em suma, substâncias voláteis de ação inseticida e/ou repelente, como a transflutrina, podem ser impregnadas em tecidos de diversas composições que atuarão como liberadores de tais substâncias no ambiente (Achee *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2013; Agramonte *et al.* 2017). Taxas de repelência de *Ae. aegypti*, por exemplo, foram observadas em um estudo realizado

com diferentes concentrações de transflutrina impregnadas em tecidos de algodão, poliéster e popeline em testes de laboratório com a utilização de um sistema de olfatometria, alcançando até 50% de repelência com apenas 0,001% de transflutrina (Paiz-Moscoso *et al.* 2020). De forma complementar, respostas de atratividade de mosquitos também foram observadas com a transflutrina a 0,0005% de concentração em outro estudo realizado nas mesmas condições do anteriormente citado (Estrada *et al.* 2019). Sendo assim, a versatilidade das respostas dos compostos ativos em diferentes concentrações sobre o comportamento dos mosquitos, podem ser observadas sem prejuízos ou interferências em experimentos utilizando matrizes de liberação têxteis.

A juta é um desses tecidos e vem sendo avaliada como matriz de liberação passiva de piretroides em diversos estudos, sendo utilizada como cortinas (Poopathi & Rao, 1995), artigos de decoração (Masalu *et al.* 2017; 2018), tiras e fitas de beiral (Ogoma *et al.* 2012; 2017; Govella *et al.* 2015; Mmbando *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020) em sandálias (Sangoro *et al.* 2020) e até sob bancos de madeira (Masalu *et al.* 2020), impedindo com sucesso a picada de mosquitos relacionados com a transmissão local de diversos patógenos à população, além de apresentar grande aceitação dos usuários (Masalu *et al.* 2017).

Tiras de juta (4m x 30cm) promoveram uma liberação lenta e gradual da transflutrina em estudo de campo conduzido na Tanzânia, conferindo uma eficácia protetiva aos usuários em mais de 90% contra picadas de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Mansonia* (Ogoma *et al.* 2017). Em estudo mais recente realizado também na Tanzânia, sandálias fabricadas com tiras de apenas 48cm² de juta, tratadas com 0,10g de transflutrina, reduziram aproximadamente 61% das picadas de *Anopheles arabiensis* nos usuários em semicampo (Sangoro *et al.* 2020). Ainda nesse mesmo estudo, quando avaliadas em vilas localizadas no Sudeste da Tanzânia, sandálias tratadas com 0,15g de transflutrina reduziram em mais de 65% das picadas de mosquitos de diversas espécies (gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*) e em até 75% das picadas de *An. gambiae* s.l. Giles, 1902 (Sangoro *et al.* 2020).

Portanto, o tecido de juta é um produto comum, acessível, produzido com fibras naturais de origem vegetal e a confecção de dispositivos ou produtos impregnados com substâncias repelentes, apresenta baixo custo de produção (Poopathi & Rao, 1995). Tais características sugerem que a juta é uma alternativa viável e que pode ser empregada como dispositivo liberador de compostos voláteis em diversas escalas, inclusive associados a armadilhas ou técnicas de capturas de mosquitos formando sistemas *push-pull* (Mmbando *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020).

1.10. Técnica *push-pull* e sua utilização no controle de mosquitos

O conceito *push-pull* foi desenvolvido no final da década de 80 como uma estratégia para controle de uma praga do algodão na Austrália (Pyke *et al.* 1987). O princípio da técnica se baseia na utilização combinada de estímulos químicos e/ou visuais, atrativos e repelentes para realizar o manejo da população do inseto-alvo, repelindo de um local (*push*) e, simultaneamente, atraindo e capturando em outro (*pull*). Como os insetos utilizam de estímulos que comumente envolvem semioquímicos e pistas visuais para realizarem diversas de suas atividades (alimentação, oviposição e acasalamento por exemplo), tais comportamentos podem ser manipulados para direcionar a movimentação desses organismos por meio de componentes atraentes/repelentes do sistema, para um local desejado (Cook *et al.* 2007; Menger, 2015). Portanto, o desenvolvimento de sistemas *push-pull* eficazes, não depende apenas das características dos componentes do sistema, mas também do pleno conhecimento da biologia, comportamentos e ecologia química dos organismos-alvo (Cook *et al.* 2007).

Uma grande vantagem da técnica *push-pull* é que os estímulos utilizados geralmente não são tóxicos quando comparados às técnicas de controle de pragas convencionais, além disso, o uso combinado dos estímulos comportamentais na constituição dos componentes do sistema *push-pull*, são mais eficientes funcionando sinergicamente do que individualmente, servindo de incentivo ao desenvolvimento de novos componentes e aplicações para essa técnica (Cook *et al.* 2007)

Embora tenha sido desenvolvida e ainda seja muito utilizada no controle de pragas da agricultura, a técnica *push-pull* também tem sido adotada como estratégia em muitos estudos de controle populacional de insetos vetores em ambientes urbanos (Menger *et al.* 2015; Wagman *et al.* 2015; Gordon *et al.* 2018; Mmbando *et al.* 2019). Contudo, a utilização dessa técnica no controle de vetores, como o *Ae. aegypti*, só é possível graças ao desenvolvimento tanto de substâncias com alto poder de repelência ou inibição, quanto de sistemas de captura altamente efetivos e atrativos (Menger, 2015; Obermayr, 2016). Portanto, a técnica do *push-pull* é uma ferramenta ainda em desenvolvimento, mas que vem sendo avaliada com sucesso e recomendada para utilização no controle de vetores (Tambwe *et al.* 2020).

Justificativa

A redução da densidade populacional de mosquitos é a medida mais utilizada para se prevenir a ocorrência de surtos epidêmicos de doenças relacionadas ao *Ae. aegypti* como dengue, Zika e Chikungunya. Como a escolha do sítio de oviposição é um momento crucial para o sucesso reprodutivo da espécie, estratégias de controle vetorial que visam eliminar os criadouros com melhores características para abrigar a prole de *Ae. aegypti* ou mesmo interferir na escolha do sítio de oviposição, são comumente adotadas (Ministério da Saúde, 2009).

O sucesso reprodutivo de *Ae. aegypti* está diretamente associado às suas características como reprodução e desenvolvimento rápidos, alta capacidade de adaptação, diversidade de criadouros e forte associação à presença humana (Carvalho & Moreira, 2017). Portanto, estratégias alternativas capazes de diminuir o sucesso reprodutivo do *Ae. aegypti*, podem apresentar resultados satisfatórios na redução populacional de mosquitos e consequentemente, das doenças associadas a eles (Zara *et al.* 2016). Para isso, é necessário o desenvolvimento de ferramentas eficazes no controle populacional de mosquitos que sejam de fácil manipulação, baixo custo operacional, ecologicamente seguras e possíveis de serem aplicadas em larga escala (Sivagnaname & Gunasekaran, 2012; Masalu *et al.* 2017). Adicionalmente, são incentivadas combinações de diferentes estratégias de combate vetorial e novas tecnologias como medidas para tentar diminuir efetivamente a população de mosquitos e os arbovírus por eles transmitidos (Ministério da Saúde, 2009).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de armadilhas que simulam características físicas (visuais) e químicas (atraentes sintéticos) de criadouros, vem favorecendo e possibilitando a utilização da técnica *push-pull* como uma ferramenta também para o controle de mosquitos vetores (Takken & Knols, 1999; Cook *et al.* 2007; Menger, 2015; Gordon *et al.* 2018). Consequentemente, a manipulação do comportamento de oviposição do mosquito *Ae. aegypti*, pelo uso de inibidores de oviposição associados a armadilhas de captura em massa formando um sistema *push-pull*, pode diminuir a população de mosquitos e, consequentemente, os casos de doenças causadas por patógenos transmitidos pelo *Ae. aegypti* (Menger, 2015).

Tiras de juta impregnadas com transflutrina vem sendo avaliadas com sucesso para prevenir a picada de diversos mosquitos transmissores de patógenos, resultando em um produto de baixo custo, manipulação fácil, segura e com grande aceitação popular (Ogoma *et al.* 2012; Ogoma *et al.* 2017; Masalu *et al.* 2017; Mmbandu *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020). Porém, pouco se sabe sobre os efeitos da transflutrina na oviposição de *Ae. aegypti* e até o momento,

são desconhecidos estudos de campo utilizando a transflutrina como inibidor de oviposição de *Ae. aegypti*.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo principal avaliar um sistema *push-pull* composto por um dispositivo liberador de transflutrina e a armadilha *Gravid Aedes Trap* como método de controle, por meio da captura em massa de adultos de *Ae. aegypti*.

O presente estudo integra um projeto de supressão populacional de *Ae. aegypti* com armadilhas de captura massal que vem sendo desenvolvido na cidade de Piumhi desde 2016 (Mota, 2018). Chamada MCTIC/FNDCT-CNPq / MEC-CAPES/ MS-Decit N° 14/2016 – Prevenção e Combate ao vírus Zika. Número do Processo: 440358/2016-7.

Objetivos

Geral:

Avaliar um sistema *push-pull* composto por um dispositivo liberador de transflutrina e a armadilha *Gravid Aedes Trap* como método de controle, através da captura em massa de adultos de *Aedes aegypti*.

Específicos:

- Avaliar os efeitos da exposição à transflutrina sobre grávidas de *Aedes aegypti* e sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de seus descendentes;
- Desenvolver e avaliar em condições de semicampo e campo um dispositivo liberador passivo de transflutrina para inibir a oviposição de *Aedes aegypti*;
- Avaliar um sistema *push-pull* formado por dispositivo liberador de transflutrina e armadilha GAT para inibir a oviposição e promover a captura massal de mosquitos *Aedes aegypti* na cidade de Piumhi-MG.

CAPÍTULO 1

Avaliação dos efeitos da exposição à transflutrina sobre grávidas de *Aedes aegypti* e sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de seus descendentes

Introdução

O foco principal das ações de combate a mosquitos vetores em geral é alcançar a diminuição populacional do inseto até níveis em que a transmissão de patógenos causadores de doenças aos humanos seja mínima ou mesmo se acabe. Para isso, são empregadas diversas estratégias de controle, com diferentes abordagens e técnicas, mas que geralmente englobam os controles mecânico, biológico e químico (Ministério da Saúde, 2009).

No Brasil, inseticidas ainda são adotados como principais integrantes das medidas de controle químico de mosquitos (Ministério da Saúde, 2009). Entre as classes de inseticidas existentes, os piretroides possuem seu uso recomendado pela OMS devido à sua estabilidade, rápida ação, degradação e baixa toxicidade em mamíferos (Braga e Valle, 2007; WHO, 2014). Por isso são comumente empregados em formulações de repelentes e inseticidas espaciais principalmente contra mosquitos (Kawada *et al.* 2014).

Assim como outros inseticidas, os piretroides agem sobre o sistema nervoso dos insetos, especificamente sobre o axônio dos neurônios, promovendo a abertura dos canais de sódio. Conseqüentemente, a transmissão dos impulsos nervosos é acelerada, resultando em um estado de hiperexcitação que pode causar convulsões, paralisias (*knockdown*), morte devido à fadiga e outros efeitos não-letais (Ware & Whitacre, 2004; Bibbs *et al.* 2018).

Entre os piretroides, a transflutrina é um inseticida volátil e por isso muito utilizada como composto ativo sob a forma de aerossóis e repelentes espaciais, formando um espaço aéreo livre de mosquitos onde é aplicada (Masalu *et al.* 2020). Estudos conduzidos na Tanzânia com tecidos de juta impregnados com transflutrina, promoveram a proteção contra picadas de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Aedes*, importantes transmissores de patógenos na região (Masalu *et al.* 2017; Ogoma *et al.* 2017; Tambwe *et al.* 2020).

Além dos efeitos de mortalidade e *knockdown* (Bibbs *et al.* 2018b; Estrada *et al.* 2019; Sukkanon *et al.* 2020), efeitos não-letais como repelência espacial (Masalu *et al.* 2017; Ogoma *et al.* 2017; Tambwe *et al.* 2020), efeitos sobre a alimentação (Ogoma *et al.* 2014; Batista, 2022), fecundidade, fertilidade e oviposição (Choi *et al.* 2016; Bibbs *et al.* 2018), também já foram observados em mosquitos expostos a diferentes doses de transflutrina. Portanto, o estudo de efeitos não-letais em mosquitos vetores expostos a inseticidas, também são importantes na determinação do grau de interferência sobre o *fitness* das espécies e, conseqüentemente, sobre o efeito nas doenças relacionadas aos mosquitos, beneficiando a saúde humana (Andreazza *et al.* 2021). No entanto, são desconhecidos estudos conduzidos com cepas brasileiras de mosquitos que verificaram efeitos letais e não-letais da exposição de *Ae. aegypti* à transflutrina.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar em laboratório os efeitos da exposição ao piretroide transflutrina sobre grávidas de *Ae. aegypti* e sobre parâmetros biológicos no desenvolvimento dos descendentes das fêmeas expostas ao composto.

Objetivos

Geral

Avaliar os efeitos da exposição à transflutrina sobre grávidas de *Aedes aegypti* e sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de seus descendentes.

Específicos:

- Avaliar os efeitos *knockdown* e mortalidade de *Aedes aegypti* grávidas após exposição à diferentes concentrações de transflutrina;
- Avaliar a taxa de inibição da oviposição de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina;
- Avaliar a taxa de eclosão e o tempo de desenvolvimento das larvas descendentes de *Aedes aegypti* expostas à transflutrina;
- Avaliar a longevidade, a razão sexual e o tamanho de mosquitos adultos descendentes de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina;
- Avaliar os efeitos e parâmetros citados sobre diferentes cepas de *Aedes aegypti*.

Material e Métodos

Mosquitos

Foram utilizadas nos experimentos fêmeas de *Ae. aegypti* de duas cepas, Rockefeller e a geração F4 de mosquitos provenientes do município de Piumhi – MG (Piumhi), criadas em insetário sobre condições ambientais controladas ($27\pm 2^\circ\text{C}$; 60 a 80% URA e 12:12h fotoperíodo).

Os ovos de *Ae. aegypti* foram colocados em cubas plásticas (7 x 22 x 30cm) contendo 2L de água desclorada para eclosão das larvas que foram mantidas no mesmo recipiente e alimentadas com ração para répteis aquáticos (Reptolife, Alcon[®]). As pupas foram retiradas diariamente das cubas, transferidas para potes com água desclorada (500ml) e os potes com pupas colocados em gaiolas de criação teladas (30 x 30 x 30cm, Bugdorm[®], Mega View Science Co. LTDA, Taiwan). Os mosquitos adultos emergidos foram mantidos nessas gaiolas e alimentados com solução açucarada 10% *ad libitum*.

Com o auxílio de um aparato separador de fêmeas (Posey & Schreck 1981), fêmeas de *Ae. aegypti* com 7 a 10 dias de idade foram selecionadas das gaiolas de criação, evitando assim a manipulação e dano aos insetos. A gaiola de criação foi colocada dentro do aparato no qual as fêmeas de *Ae. aegypti* eram atraídas pelo odor da mão humana da gaiola para potes plásticos (350 mL) perfurados em sua tampa para permitir a passagem dos mosquitos (Figura 4a). Nos potes, também foram feitas duas aberturas laterais e recobertas com uma tela de *nylon* para permitir a circulação de ar durante os bioensaios, além da realização da alimentação sanguínea dos mosquitos.

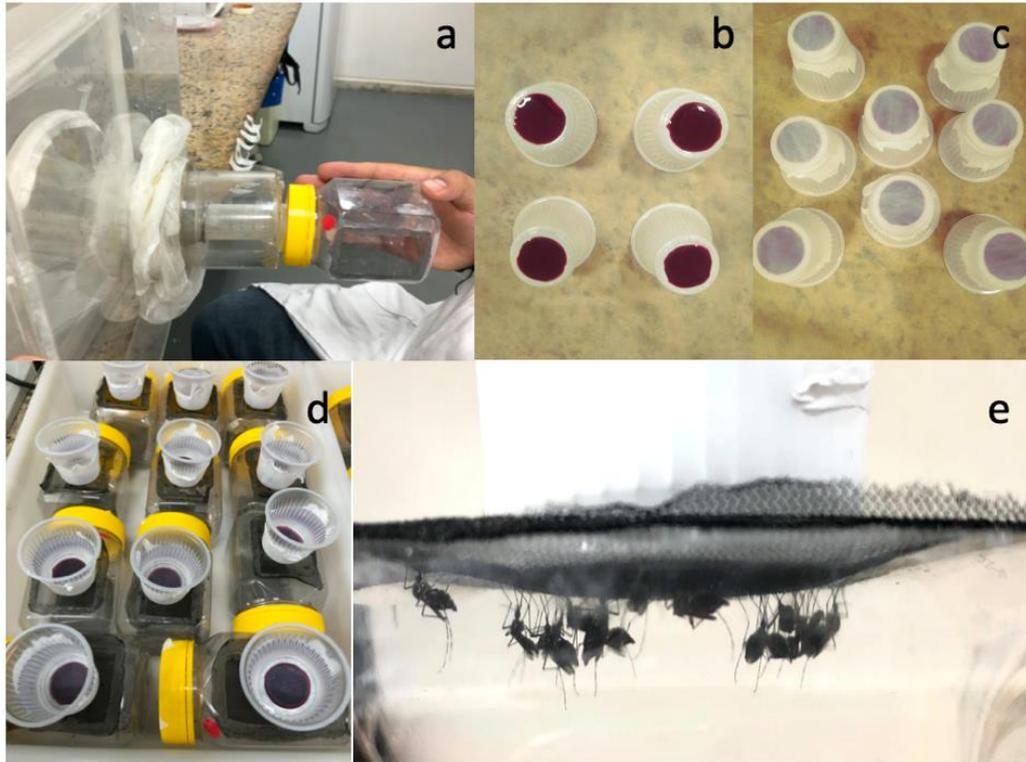


Figura 4: Seleção e repasto sanguíneo artificial das fêmeas de *Aedes aegypti*. Esquema de separação de mosquitos adultos (a) e da alimentação artificial sanguínea baseado numa membrana de politetrafluoretileno que recobre o fundo dos copos (b-c). Detalhes dos copos posicionados sobre os potes com os mosquitos (d) e dos mosquitos realizando repasto (e). Fonte: o autor.

O repasto sanguíneo das fêmeas de mosquitos foi realizado utilizando sangue de galinha (*Gallus gallus domesticus*), contendo anticoagulante (heparina sódica, Hemofol®), em um sistema de alimentação artificial (Sória *et al.* 2018), o qual funciona como uma membrana pela qual o sangue pode ser ingerido pelos mosquitos (Figura 4e). Nesse sistema, o sangue é colocado na parte externa do fundo de um copo descartável pequeno (50mL) (Figura 4b) e coberto por uma tira de politetrafluoretileno, popularmente conhecida e comercializada como fita veda rosca (Figura 4c). No interior do copo, água morna (~37°) foi adicionada e este posicionado em uma das laterais teladas das gaiolas de criação contendo as fêmeas de *Ae. aegypti* (Figura 4d). A alimentação sanguínea foi oferecida às fêmeas apenas uma vez por 1h e após este período os mosquitos foram alimentados com solução açucarada até a realização dos experimentos.

Transflutrina e liberadores

O piretroide transflutrina (TC 99%, Bayer AG, Alemanha), composto ativo (CA) avaliado nos experimentos, foi diluída em álcool etílico absoluto (99,8° GL, PA,) para obter soluções com concentrações resultantes de 2, 5, 10 e 15%. Tais concentrações foram utilizadas

para impregnar liberadores (10 x 15cm) confeccionados com tiras de juta (Castanhal Companhia Têxtil, modelo F9-328g/m² natural). Foram produzidos cinco dispositivos liberadores que consistiram em uma tira de juta impregnada com 10mL das soluções de transflutrina e um liberador impregnado apenas com álcool absoluto foi usado como controle em todos os experimentos.

Bioensaios de laboratório

Os bioensaios para avaliar os efeitos da exposição ao CA foram realizados com grávidas de *Ae. aegypti* (3 dias após a alimentação sanguínea) no laboratório. Os tratamentos avaliados foram as tiras de juta impregnadas com as soluções de transflutrina a (a) 2%; (b) 5%; (c) 10%; (d) 15%; e (e) controle (juta impregnada somente com álcool). Foram utilizados 10 potes, sendo cinco por cepa, com 15 fêmeas de mosquitos em cada.

Com o auxílio de um ventilador elétrico (Mosquitito, 12V/0.3A/3.6W, Biogents[®]) e um suporte para pendurar o dispositivo impregnado com o CA, foi montado um sistema para expor as fêmeas de *Ae. aegypti* aos tratamentos. O sistema consistiu do ventilador produzindo uma corrente de ar (0.09 m/s) que passava pelos tratamentos, suspenso pelo suporte, e atingia o pote contendo os mosquitos (Figura 5). O ventilador foi posicionado a 30 cm do dispositivo liberador e este se encontrava a 30 cm do pote contendo os mosquitos. A exposição foi realizada por 1 minuto para cada tratamento. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento, totalizando 750 mosquitos das duas cepas utilizados no experimento. A exposição dos mosquitos a todos os tratamentos, ocorreu em um único dia seguindo a ordem crescente das concentrações (controle até 15%).

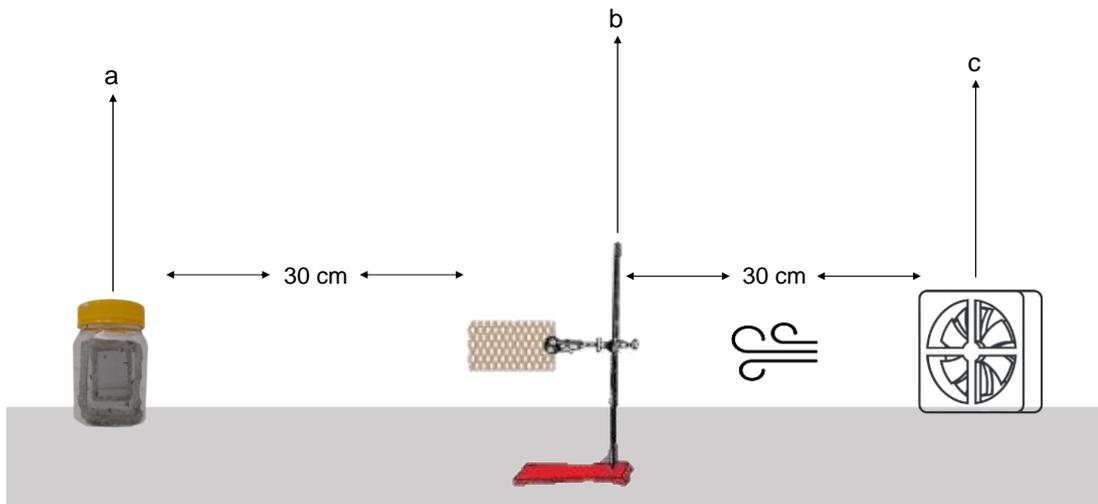


Figura 5: Esquema do bioensaio de exposição à transflutrina em laboratório. (a) Pote com mosquitos, (b) Tira de juta impregnada com transflutrina, e (c) ventilador elétrico. Fonte: o próprio autor.

Avaliação dos efeitos *knockdown* e mortalidade dos mosquitos *Aedes aegypti* após exposição à diferentes concentrações de transflutrina

Após os bioensaios, os mosquitos que se encontravam caídos no pote foram contabilizados em três períodos distintos: imediatamente ao final do experimento, 1h e 24h após a exposição. Os mosquitos caídos ao final do teste e 1h depois foram considerados em estado de *knockdown* (KD). A porcentagem de mosquitos que se encontravam em KD foi determinada pela diferença entre a quantidade de mosquitos utilizados e os que se encontravam caídos no momento da contagem. Após 24h da exposição, os mosquitos caídos no pote foram considerados mortos. A taxa de mortalidade foi determinada pela diferença entre o total de mosquitos caídos após 24h e o total de mosquitos utilizados no experimento.

Avaliação da taxa de inibição da oviposição de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

Após o período de exposição aos tratamentos, as fêmeas foram mantidas nos potes que se encontravam durante o experimento. Um copo plástico pequeno (50 mL), contendo aproximadamente 20 mL de água e uma tira de papel filtro (2,5 x 5 cm), foi fixado com fita adesiva à tampa do pote, que possui um orifício de aproximadamente 1 cm de diâmetro para permitir a passagem das fêmeas e o acesso ao pote (Figura 6A). O papel filtro serviu como substrato de oviposição (Figura 6B), o qual foi recolhido após 24h e os ovos foram contabilizados.

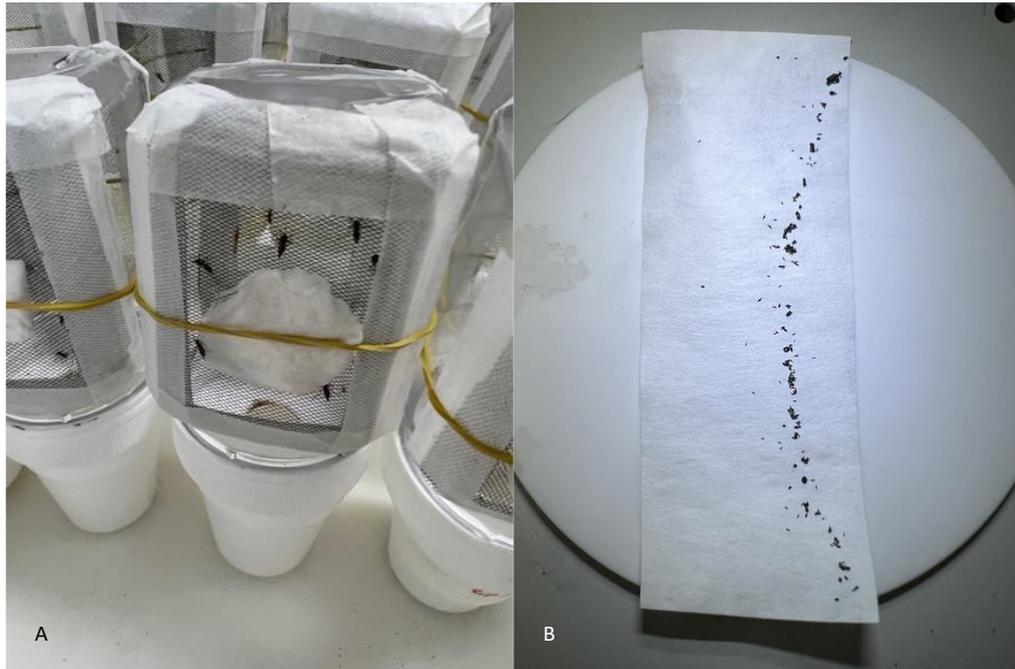


Figura 6: Acondicionamento dos mosquitos durante os experimentos. A) Pote com mosquitos acoplado a um copo contendo água e substrato para oviposição. B) Substrato de oviposição com ovos de *Aedes aegypti*. Fonte: o próprio autor.

A taxa de inibição da oviposição de *Ae. aegypti* foi verificada para cada tratamento através da seguinte fórmula:

$$\text{Inibição (\%)} = \left(\frac{\text{Controle} - \text{Tratamento}}{\text{Controle}} \right) \times 100$$

Na qual, Controle e Tratamento representam a quantidade de ovos coletados no substrato de oviposição dos potes contendo os mosquitos expostos ao controle ou ao tratamento durante os bioensaios. Quando a taxa de inibição resultou em valores positivos, foi considerado que houve inibição da oviposição.

Avaliação da taxa de eclosão e do tempo de desenvolvimento das larvas de descendentes de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

Após a contagem, os ovos foram colocados em cubas plásticas contendo água desclorada e durante sete dias foi realizado o acompanhamento da eclosão das larvas. A taxa de eclosão (TE) para cada tratamento foi determinada através da fórmula:

$$TE = \frac{N^{\circ} \text{ larvas}}{N^{\circ} \text{ Ovos}} \times 100\%$$

Onde, N° larvas é o número total de larvas eclodidas e N° ovos é o número total de ovos contabilizados no substrato de oviposição. Foram realizadas cinco repetições para cada tratamento.

Vinte larvas de cada tratamento foram aleatoriamente selecionadas para o acompanhamento do período larval. As larvas do 1° ínstar (1 dia de idade) foram removidas das cubas, individualmente colocadas em copos plásticos (50mL) contendo aproximadamente 40 mL de água desclorada, que foi trocada sempre que necessário. Os dias gastos para cada larva de 1° instar chegar até pupa foram contabilizados, sempre no mesmo horário (entre a 3ª e 5ª hora de foto fase). Cada larva foi considerada uma repetição, portanto, foram realizadas 20 repetições para cada tratamento e com ambas as cepas de *Ae. aegypti* (N=200). As larvas foram mantidas seguindo o padrão estabelecido para o insetário.

Avaliação da longevidade, da razão sexual e do tamanho de mosquitos adultos descendentes de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

A longevidade dos adultos compreendeu o período (dias) entre o dia de emergência e a da morte dos mosquitos. Os adultos foram mantidos seguindo o padrão de temperatura, umidade e luminosidade estabelecidos para o insetário e alimentados com sacarose 10% *ad libitum*. Após a morte, os mosquitos foram contabilizados em relação ao sexo e tiveram as asas mensuradas para estimar o seu tamanho. A razão sexual foi calculada a partir da proporção do número de machos em relação ao número de fêmeas emergidas descendentes dos mosquitos utilizados nos bioensaios de exposição ao CA, de ambas as cepas de *Ae. aegypti*. Para medir as asas, 20 fêmeas de cada um dos tratamentos foram separadas ao acaso, as quais tiveram uma de suas asas removidas e medidas entre a álula e a extremidade, desconsiderando a franja, utilizando um estereomicroscópio (40x, Olympus CX41) com lente milimétrica.

Análise de dados

Para avaliação dos parâmetros taxa de inibição da oviposição, taxa de eclosão, tempo de desenvolvimento das larvas, longevidade, razão sexual e tamanho das asas dos adultos, os tratamentos foram considerados as variáveis explicativas e cada um dos parâmetros a variável dependente. Cada parâmetro foi individualizado em tabelas e todos os dados foram analisados através de modelos estatísticos lineares generalizados (GLM) e comparados com análises de variância (ANOVA) com significância de 5%. Para verificar diferenças entre os grupos de tratamentos/controles, testes de comparações pareadas foram realizadas utilizando teste de significância honesta de Tukey (Tukey HSD). Todas as análises estatísticas foram realizadas

no software R versão 3.5.3 (R CORE TEAM, 2020) com o auxílio dos pacotes lme4, car, RT4Bio, multcomp e ggplot2.

Resultados

Avaliação dos efeitos *knockdown* e mortalidade dos mosquitos *Aedes aegypti* após exposição à diferentes concentrações de transflutrina

No período imediatamente após a exposição aos diferentes tratamentos, apenas oito mosquitos da cepa Rockefeller (2,1%) e 10 da cepa Piumhi (2,7%) foram observados em KD. Os mosquitos do grupo controle de ambas as cepas não apresentaram KD nesse período de observação quando não foram expostos à transflutrina. Não foram encontrados efeitos significativos dos tratamentos na quantidade de mosquitos em KD no período imediatamente após a exposição nem para mosquitos da cepa Rockefeller ($F=1,18$; $p=0,35$) nem da cepa Piumhi ($F=0,71$; $p=0,59$). As cepas de mosquitos utilizadas também não apresentaram diferenças na quantidade de mosquitos que sofreram KD imediatamente após a exposição quando comparadas entre si ($df=48$; $t=0,42$; $p=0,67$). Os resultados referentes aos efeitos KD e mortalidade sobre as duas cepas de *Ae. aegypti* após a exposição aos tratamentos com e sem transflutrina (controle), são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Efeitos de *Knockdown* e Mortalidade (média \pm erro padrão) sobre *Aedes aegypti* grávidas expostas a diferentes concentrações de transflutrina. O asterisco (*) nas colunas indica diferença significativa ($p < 0,05$) na quantidade de mosquitos dos tratamentos em relação ao controle. N=75 mosquitos por tratamento (375 por cepa).

Cepa	Tratamento	<i>Knockdown</i>		
		Imediato (Média \pm EP)	<i>Knockdown</i> 1h (Média \pm EP)	Mortes (24h) (Média \pm EP)
Rockefeller	Controle	0	1 (0,2 \pm 0,20)	6 (1,2 \pm 0,20)
Rockefeller	2%	2 (0,4 \pm 0,24)	50 (10,0 \pm 0,71) *	53 (10,6 \pm 0,40) *
Rockefeller	5%	2 (0,4 \pm 0,24)	38 (7,6 \pm 0,81) *	42 (8,4 \pm 0,40) *
Rockefeller	10%	3 (0,6 \pm 0,24)	56 (11,2 \pm 0,92) *	49 (9,8 \pm 0,37) *
Rockefeller	15%	1 (0,2 \pm 0,20)	33 (6,6 \pm 2,25) *	23 (4,6 \pm 1,66) *
Total	-	8 (0,3 \pm 1,10)	178 (7,1 \pm 0,92) **	173 (6,9 \pm 0,80)
Piumhi	Controle	0	0	7 (1,4 \pm 0,51)
Piumhi	2%	1 (0,2 \pm 0,20)	34 (6,8 \pm 0,92) *	40 (8,0 \pm 1,45) *
Piumhi	5%	3 (0,6 \pm 0,40)	26 (5,2 \pm 1,20) *	32 (6,4 \pm 0,93) *
Piumhi	10%	2 (0,4 \pm 0,40)	35 (7,0 \pm 0,71) *	33 (6,6 \pm 0,81) *
Piumhi	15%	4 (0,8 \pm 0,58)	20 (4,0 \pm 0,95) *	23 (4,6 \pm 0,68) *
Total	-	10 (0,4 \pm 0,16)	115 (4,6 \pm 0,63) **	135 (5,4 \pm 0,60)

** Diferença significativa ($p < 0,05$) entre as cepas.

As concentrações do CA avaliadas afetaram a quantidade de mosquitos em KD após 1h, sendo que, os mosquitos expostos sofreram significativamente mais KD após 1h que os mosquitos do controle, tanto na cepa Rockefeller ($df=20$; $F=12,91$; $p < 0,01$) quanto na cepa Piumhi ($df=20$; $F=11,03$; $p < 0,01$). Somente um indivíduo do controle da cepa Rockefeller e nenhum da cepa Piumhi foi verificado em KD nesse período. Entre os tratamentos com transflutrina, 10% causou mais KD após 1h tanto em mosquitos da cepa Rockefeller (56) quanto da cepa Piumhi (35). Decorrida 1h da exposição aos tratamentos, a cepa Rockefeller apresentou quantidade significativamente maior de mosquitos em KD 178 (47,5%) enquanto apenas 115 da cepa Piumhi (30%) foram verificados em KD nesse período ($df=42$; $t=2,26$; $p=0,02$). Aproximadamente 39% do total de mosquitos sofreram KD após 1h.

A mortalidade dos mosquitos de ambas as cepas foi afetada pelos tratamentos sendo que o número de mosquitos expostos ao CA que morreram, foi significativamente maior que no controle [Rockefeller (df=20; F=20,12; $p<0,001$) e Piumhi (df=20; F=7,44; $p<0,01$)]. Os controles de ambas as cepas apresentaram a menor mortalidade após 24h da exposição, sendo seis da cepa Rockefeller e sete da cepa Piumhi e o tratamento 2% apresentou a maior mortalidade de ambas as cepas (53 Rockefeller e 40 Piumhi). No total, a mortalidade de mosquitos da cepa Rockefeller foi maior 173 (46,1%) que da cepa Piumhi 135 (36%), no entanto, a quantidade de mosquitos mortos entre as duas cepas foi semelhante (df=44; t=1,51; $p=0,13$). Ao final do experimento, 308 mosquitos (aproximadamente 41%) de ambas as cepas morreram 24h após a exposição aos tratamentos.

Avaliação da taxa de inibição da oviposição de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

Foram contabilizados 17.318 ovos em todo o experimento, cuja quantidade variou entre as cepas de *Ae. aegypti* utilizadas e entre os tratamentos avaliados. Todos os tratamentos com a cepa Rockefeller apresentaram quantidades médias de ovos diferentes do controle, porém apenas o tratamento 2% inibiu a oviposição de *Ae. aegypti* em aproximadamente 58% (Tabela 2). Nos experimentos com a cepa de mosquitos Piumhi, a quantidade de ovos contabilizada não diferiu entre os tratamentos e controle em nenhum dos pares analisados. No entanto, foram verificadas taxas de inibição da oviposição positivas para todos os tratamentos com o CA, variando de 11% a 30%.

Tabela 2: Número de ovos (média \pm erro padrão) coletados e taxa de inibição da oviposição (%) de *Aedes aegypti* expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.

Cepa	Tratamento	Ovos (média \pm EP)	Taxa de Inibição (%)	<i>p</i>
Rockefeller	Controle	1.186 (237,2 \pm 84,44) ^a	-	-
Rockefeller	2%	500 (100 \pm 29,01) ^b	57,8	<0,01
Rockefeller	5%	1.918 (383,6 \pm 44,39) ^c	-61,7	<0,01
Rockefeller	10%	1.374 (274,8 \pm 49,86) ^d	-15,9	<0,01
Rockefeller	15%	1.868 (373,6 \pm 86,85) ^e	-57,5	<0,01
Total	-	6.846 (273,8 \pm 39,87)	-	-
Piumhi	Controle	2.701 (453,6 \pm 66,52) ^a	-	
Piumhi	2%	2.019 (403,8 \pm 127,14) ^a	25,2	>0,5
Piumhi	5%	2.405 (481 \pm 97,36) ^a	11,0	>0,5
Piumhi	10%	1.881 (376,2 \pm 94,87) ^a	30,4	>0,5
Piumhi	15%	1.899 (379,8 \pm 78,81) ^a	29,7	>0,5
Total	-	10.472 (418,9 \pm 38,97)	-	-

A quantidade de ovos da cepa Piumhi foi significativamente maior que na cepa Rockefeller (df=48; t=2,80; $p < 0,01$; Figura 7).

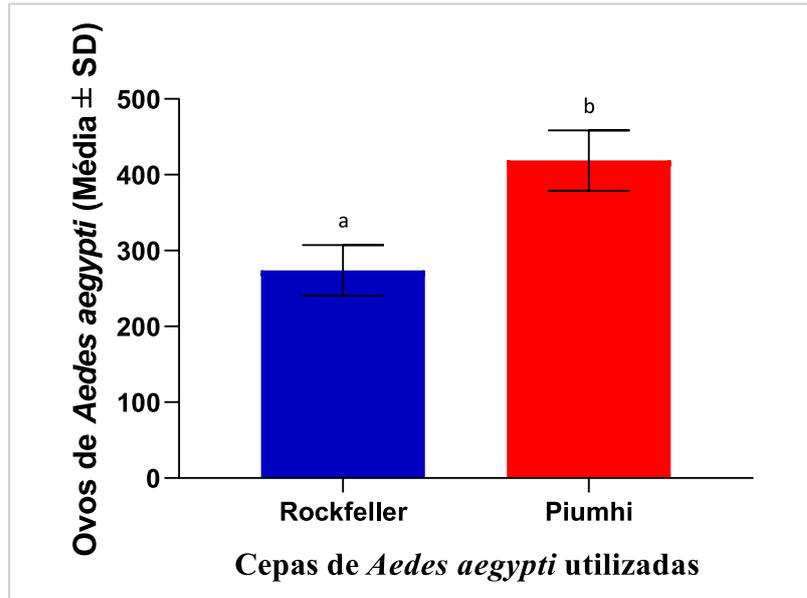


Figura 7: Número de ovos (média \pm erro padrão) de ambas as cepas de *Aedes aegypti* utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Avaliação da taxa de eclosão e do tempo de desenvolvimento das larvas descendentes de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

Ao todo, 9.250 larvas de *Ae. aegypti* eclodiram, representando uma taxa de eclosão de 53,4% em relação ao total de ovos (17.318). A taxa de eclosão de larvas da cepa Rockefeller, descendentes de fêmeas expostas a diferentes concentrações de transflutrina, foi semelhante em todos os tratamentos avaliados ($df=4$; $F= 0,54$; $p=0,70$; Figura 8A), com a menor taxa de eclosão obtida de mosquitos expostos à solução de 15% de transflutrina e a maior no tratamento transflutrina a 5%. Resultados semelhantes foram verificados com a cepa Piumhi, na qual as taxas de eclosão das larvas descendentes de fêmeas expostas a diferentes concentrações de transflutrina, também foram semelhantes entre os tratamentos ($df=4$; $F= 1,37$; $p=0,28$; Figura 8B). A taxa de eclosão das larvas foi significativamente maior na cepa Piumhi em comparação com a cepa Rockefeller ($df=41,16$; $t=4,06$; $p < 0,01$).

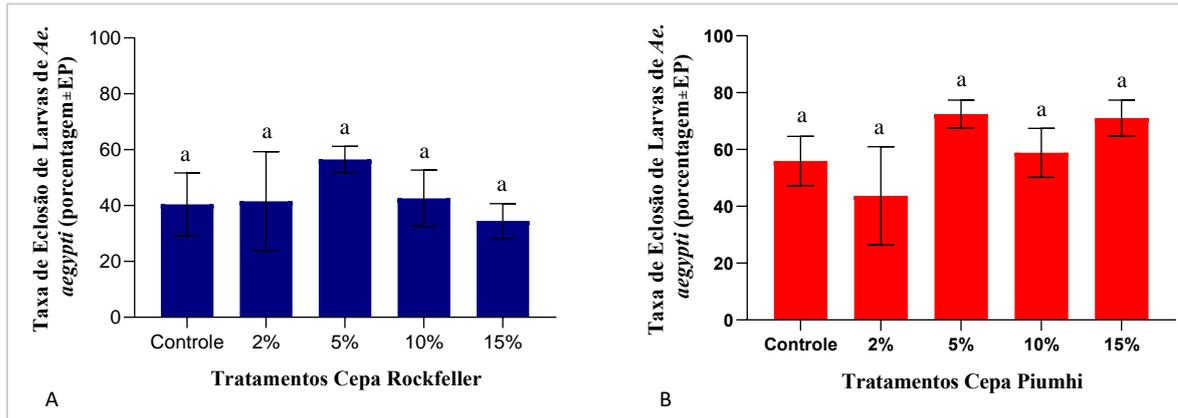


Figura 8: Taxa de ecloração de larvas (porcentagem \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.

As larvas da cepa Rockefeller descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina, apresentaram tempo médio (\pm EP) de desenvolvimento (L1 a Pupa) de 5,5 dias ($\pm 0,06$; $n=100$). As larvas de mosquitos Rockefeller descendentes de fêmeas expostas aos tratamentos 10 e 15% de transflutrina apresentaram tempo de desenvolvimento larval significativamente menor que o controle [controle x 10% ($df=20,75$; $F=21,63$; $p < 0,01$); controle x 15% ($df=27,94$; $F=4,0$; $p < 0,01$)]. O tempo de desenvolvimento das larvas descendentes de fêmeas expostas aos outros tratamentos, foi semelhante ao tempo das larvas do controle (Tabela 3). As larvas da cepa Piumhi de mosquitos da geração F1, descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina demoraram em média 5,3 dias ($\pm 0,04$; $n=100$) para alcançar o estágio pupal e apenas as larvas descendentes de fêmeas expostas ao tratamento 15% necessitaram de período significativamente maior que as do controle para alcançarem a fase de pupa ($df=4$, $F=48,70$; $p < 0,01$). Quando ambas as cepas foram avaliadas entre si, as larvas da cepa Rockefeller apresentaram tempo de desenvolvimento significativamente maior que as da cepa Piumhi ($df=169,9$; $t=2,98$; $p < 0,001$).

Tabela 3: Período larval (média de dias \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.

Cepa	Tratamento	Período larval (média \pm EP)	<i>p</i>
Rockefeller	Controle	5,9 \pm 0,05 ^a	
Rockefeller	2%	5,9 \pm 0,07 ^a	>0,05
Rockefeller	5%	5,8 \pm 0,09 ^a	>0,05
Rockefeller	10%	5,1 \pm 0,23 ^b	<0,01
Rockefeller	15%	4,9 \pm 0,10 ^b	<0,01
Piumhi	Controle	5,5 \pm 0,11 ^a	
Piumhi	2%	5,0 \pm 0,00 ^a	>0,05
Piumhi	5%	5,0 \pm 0,00 ^a	>0,05
Piumhi	10%	5,0 \pm 0,00 ^a	>0,05
Piumhi	15%	5,9 \pm 0,07 ^b	<0,01

Avaliação da longevidade, da razão sexual e do tamanho de mosquitos adultos descendentes de *Aedes aegypti* expostos à transflutrina

Mosquitos da cepa Rockefeller descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina apresentaram tempo médio de vida de $9,3 \pm 1,63$ dias. Os tratamentos não afetaram a longevidade dos mosquitos dessa cepa ($df=70$; $F=2,37$; $p=0,06$; Tabela 4). Para mosquitos da cepa Piumhi, descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina, o tempo médio de vida observado foi de $7,0 \pm 1,64$ dias. Porém, a longevidade dos mosquitos da cepa Piumhi foi afetada pelos tratamentos ($F=3,38$; $p=0,01$) sendo que os mosquitos dos tratamentos 10 e 15% apresentaram longevidade significativamente maior que os do controle ($df=45$; $t=2,63$; $p=0,03$ e $df=45$; $t=2,61$; $p=0,04$ respectivamente), enquanto mosquitos dos outros tratamentos apresentaram longevidade semelhantes aos do controle. A longevidade dos mosquitos foi semelhante quando ambas as cepas foram comparadas entre si ($df=98$; $t=0,99$; $p=0,32$).

Tabela 4: Longevidade (média de dias \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos com ambas as cepas.

Cepa	Tratamento	Longevidade (média \pm EP)	<i>p</i>
Rockefeller	Controle	6,9 \pm 2,71 ^a	
Rockefeller	2%	17,9 \pm 5,34 ^a	>0,05
Rockefeller	5%	5,3 \pm 2,37 ^a	>0,05
Rockefeller	10%	12,2 \pm 3,44 ^a	>0,05
Rockefeller	15%	4,3 \pm 2,09 ^a	>0,05
Piumhi	Controle	2,7 \pm 1,85 ^a	
Piumhi	2%	1,9 \pm 0,78 ^a	>0,05
Piumhi	5%	4,0 \pm 2,52 ^a	>0,05
Piumhi	10%	13,3 \pm 5,10 ^b	<0,05
Piumhi	15%	13,2 \pm 4,72 ^b	<0,05

A razão sexual dos mosquitos da cepa Rockefeller de descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina, foi afetada pelos tratamentos ($df=20$; $F=9,21$; $p < 0,01$; Tabela 5) sendo que a quantidade de machos foi prevalente sobre a de fêmeas em ambas as cepas e em todos os tratamentos. Os mosquitos descendentes de todos os tratamentos com a cepa Rockefeller apresentaram razão sexual menor que os do controle, sendo ainda que os descendentes de mosquitos expostos ao tratamento 10% de transflutrina, apresentaram a menor razão sexual média ($1,2 \pm 0,27$), enquanto a maior variação entre machos e fêmeas foi verificada nos mosquitos do controle ($2,8 \pm 0,20$). A cepa de mosquitos Piumhi não apresentou diferenças na razão sexual de mosquitos descendentes de fêmeas expostas às diferentes concentrações de transflutrina, quando comparadas aos mosquitos descendentes do controle ($df=20$; $p > 0,05$). No entanto, mosquitos descendentes de fêmeas expostas à transflutrina 2% apresentaram a menor razão sexual entre os tratamentos ($1,06 \pm 0,06$) e os mosquitos descendentes de fêmeas expostas ao tratamento com 10% de transflutrina a maior razão sexual ($1,65 \pm 1,11$) entre os tratamentos avaliados.

Tabela 5: Razão sexual machos/fêmeas (média \pm erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e tratamentos para cada cepa.

Cepa	Tratamento	Razão Sexual (média \pm EP)	<i>p</i>
Rockefeller	Controle	2,8 \pm 0,12 ^a	
Rockefeller	2%	1,5 \pm 0,17 ^b	<0,05
Rockefeller	5%	1,6 \pm 0,05 ^b	<0,05
Rockefeller	10%	1,2 \pm 0,05 ^b	<0,05
Rockefeller	15%	1,6 \pm 0,10 ^b	<0,05
Total	-	1,75 \pm 0,1	-
Piumhi	Controle	1,2 \pm 0,20 ^a	
Piumhi	2%	1,1 \pm 0,19 ^a	>0,05
Piumhi	5%	1,2 \pm 0,04 ^a	>0,05
Piumhi	10%	1,6 \pm 0,08 ^a	>0,05
Piumhi	15%	1,6 \pm 0,06 ^a	>0,05
Total	-	1,35 \pm 0,08	-

Os mosquitos da cepa Rockefeller e Piumhi tiveram razão sexual média de $1,75 \pm 0,13$ e $1,35 \pm 0,08$ respectivamente e apresentaram diferenças estatísticas significativas quando comparadas as razões sexuais dos mosquitos de ambas as cepas ($df=48$; $t=2,44$; $p=0,02$; Figura 9).

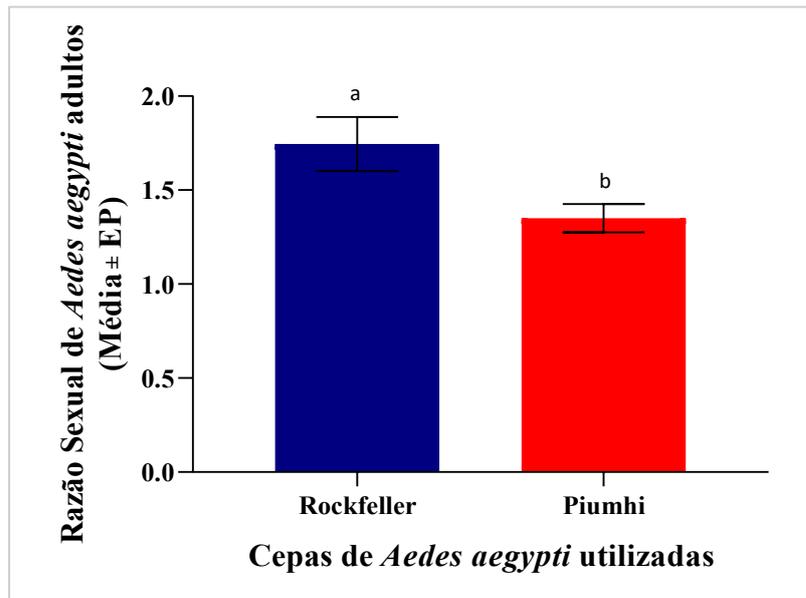


Figura 9: Razão sexual (média ± erro padrão) de ambas as cepas de *Aedes aegypti* utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a razão sexual média das cepas.

O tamanho das asas de mosquitos da cepa Rockefeller descendentes de fêmeas expostas a diferentes concentrações de transflutrina, não foi afetado pelos tratamentos avaliados ($df=45$; $F=1,01$; $p=0,41$; Figura 10A). Os mosquitos da cepa Rockefeller descendentes de fêmeas expostas ao tratamento 2% de transflutrina, apresentaram o menor tamanho médio das asas ($1,58 \pm 0,06$) enquanto os mosquitos que apresentaram o maior tamanho médio das asas foram os descendentes das fêmeas expostas ao tratamento 15% de transflutrina ($1,76 \pm 0,07$). O tamanho das asas de mosquitos da cepa Piumhi descendentes de fêmeas expostas a diferentes concentrações de transflutrina, foi influenciada pelos tratamentos ($df= 4$; $F= 2,91$; $p=0,03$), sendo que, descendentes de fêmeas expostas ao tratamento 2% de transflutrina, apresentaram asas significativamente maiores que aqueles do controle ($df=45$; $z=2,80$; $p=0,02$; Figura 10B). Enquanto mosquitos da cepa Piumhi descendentes de fêmeas expostas aos outros tratamentos, apresentaram tamanho das asas semelhantes aos dos mosquitos descendentes de fêmeas não expostas (controle).

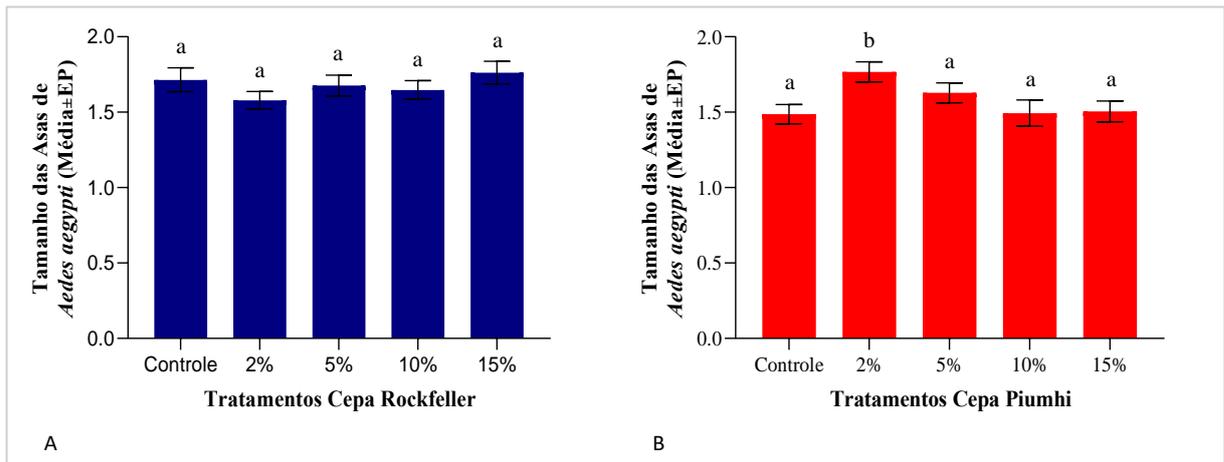


Figura 10: Tamanho das asas (média ± erro padrão) de *Aedes aegypti* descendentes de adultos expostos à diferentes concentrações de transflutrina. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre controle e os tratamentos para cada cepa.

Os mosquitos da cepa Rockefeller e Piumhi apresentaram tamanho médio de asas de $1,68 \pm 0,03$ e $1,58 \pm 0,03$ respectivamente e diferenças estatísticas significativas foram verificadas quando comparados os tamanhos das asas dos mosquitos de ambas as cepas ($df=96,9$; $t=2,18$; $p=0,03$; Figura 11).

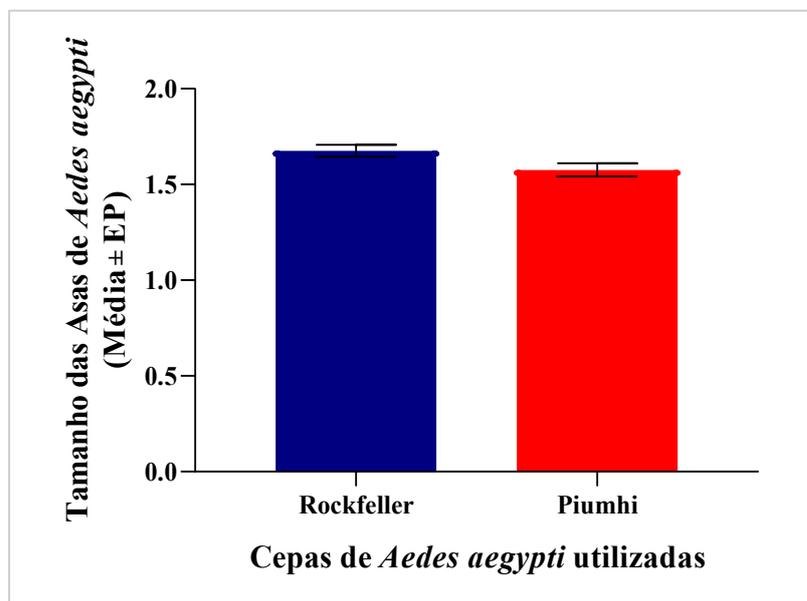


Figura 11: Tamanho das asas (média ± erro padrão) de ambas as cepas de *Aedes aegypti* utilizadas durante os experimentos. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a razão sexual média das cepas.

Discussão

No presente estudo foi verificado o efeito da exposição à transflutrina sobre duas cepas de mosquitos *Ae. aegypti* e sobre parâmetros do desenvolvimento da primeira geração de seus descendentes. A ação tóxica rápida do piretroide volátil transflutrina sobre o sistema nervoso dos insetos, promove uma área segura livre de mosquitos onde é aplicada, permitindo, portanto, sua atuação como um repelente espacial (Achee *et al.* 2012; Ogoma *et al.* 2012; 2014; 2017; Masalu *et al.* 2017; 2018; Sukkanon *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020; 2021). Além disso, baixas doses desse composto, são capazes de provocar morte e *knockdown* de mosquitos no entorno da área protegida, evitando assim, a evasão de mosquitos para áreas não tratadas (Achee *et al.* 2012; Ogoma *et al.* 2017). Efeitos não letais sobre a oviposição, fertilidade e fecundidade, também já foram observados em mosquitos expostos a diferentes doses de transflutrina (Choi *et al.* 2016; Bibbs *et al.* 2018a). Portanto, entender os efeitos causados sobre mosquitos expostos a esse composto, bem como sobre a geração descendente de mosquitos expostos, contribui para a correta utilização da transflutrina e permite sua aplicação como uma ferramenta efetiva para o controle populacional de mosquitos, como por exemplo, constituindo um componente “*push*” em um sistema *push-pull* (Tambwe *et al.* 2020).

Efeitos de KD e mortalidade como os que foram observados no presente estudo, eram esperados, uma vez que o experimento consistiu basicamente em uma exposição direcionada das fêmeas a um composto de ação inseticida com alta toxicidade verificada para mosquitos (Bibbs *et al.* 2018b). No entanto, o grau desses efeitos causados pelas concentrações de transflutrina, no curto período de exposição avaliado, ainda era desconhecido para as cepas estudadas. Efeitos KD e de mortalidade sobre fêmeas de *Ae. aegypti* expostas a transflutrina também foram observados em experimentos conduzidos tanto em laboratório (Sukkanon *et al.* 2019) quanto em condições de semicampo (Batista, 2022), nesse último, realizado com concentração de transflutrina semelhante àquelas utilizadas no presente estudo, porém com outras cepas de mosquitos. Portanto, verificou-se que a transflutrina mesmo diluída em soluções com diferentes concentrações, causaram KD e mortalidade nas cepas Rockefeller e Piumhi.

A oviposição de *Ae. aegypti* também foi afetada pela exposição ao CA. Embora os mosquitos da cepa Rockefeller expostos à concentração mais baixa de transflutrina avaliada (2%) tenham apresentado a maior taxa de inibição da oviposição nesse estudo (aproximadamente 58%), os mosquitos dessa cepa que foram expostos aos outros tratamentos com concentrações de transflutrina maiores apresentaram um aumento da quantidade de ovos depositados em relação ao controle. Tais resultados podem ser atribuídos a uma resposta

mediante o estresse sofrido pelas fêmeas ao serem forçadamente expostas ao CA, pois o mecanismo de ação da transflutrina atua sobre o sistema nervoso dos insetos promovendo hiperexcitabilidade (Meyer, 1989). Como consequência, a exposição à transflutrina pode hiperativar o sistema olfatório dos mosquitos causando maior atratividade aos sítios de oviposição disponíveis (Choi *et al.* 2016). Ainda sobre a oviposição, efeitos de diminuição do comportamento de oviposição em saltos e da viabilidade dos ovos, já foram verificados em outro estudo com mosquitos expostos à transflutrina (Bibbs *et al.* 2018a).

Como verificado, mosquitos da cepa Rockefeller sofreram mais KD após 1h e mortes que mosquitos da cepa Piumhi, conseqüentemente, a cepa Rockefeller também apresentou menos ovos depositados, menor quantidade de larvas, maior período de desenvolvimento larval, maior razão sexual e asas maiores que mosquitos da cepa Piumhi. A cepa Rockefeller é uma cepa padrão mantida por diversas gerações em laboratório e muito utilizada mundialmente em testes laboratoriais, como em ensaios de suscetibilidade de *Ae. aegypti* a inseticidas (Lima *et al.* 2011). Portanto a maior suscetibilidade aos efeitos da exposição à transflutrina na cepa Rockefeller em relação à cepa Piumhi eram esperados. Adicionalmente, embora não tenham sido realizados ensaios de suscetibilidade à transflutrina com ambas as cepas, podemos especular que a resistência a esse piretroide ainda não foi difundida nessas populações pois ambas as cepas sofreram KD e mortalidade significativos durante os experimentos.

Pelo cálculo da taxa de eclosão das larvas de *Ae. aegypti*, verificou-se a diminuição do “*fitness*” (ou sucesso reprodutivo), das fêmeas utilizadas no presente estudo, pois 53% do total de ovos contabilizado deu origem a larvas. Durante estudos conduzidos em condições laboratoriais, sem a exposição a agentes tóxicos, é comum verificar taxas de eclosão de larvas maiores que 80% (Farnesi *et al.* 2009; Mohammed & Chadee, 2011). No entanto, reduções drásticas entre aproximadamente 30 e 70% na viabilidade de ovos foram observadas em outros estudos com fêmeas de *Ae. aegypti* expostas à transflutrina (Bibbs *et al.* 2018a). Porém, não foi possível associar estatisticamente essa redução da taxa de eclosão aos tratamentos avaliados com ambas as cepas no presente estudo.

No presente estudo, o tempo de desenvolvimento das larvas de *Ae. aegypti* originadas de fêmeas de ambas as cepas foi afetado de diferentes formas pela exposição ao CA, sendo que os tratamentos 10 e 15% diminuíram o período larval da cepa Rockefeller, enquanto o tratamento 15% prolongou o período larval da cepa Piumhi. Modificações no período larval de *Ae. aegypti* podem ser favoráveis ao controle populacional desse vetor, uma vez que, em condições naturais, um atraso no desenvolvimento pode deixar as larvas suscetíveis a ação de

predadores e parasitas, diminuindo sua taxa de sobrevivência (Agnew & Koella, 1999). Por outro lado, acelerar o desenvolvimento pode ocasionar em malformação do organismo, levando a consequente diminuição do *fitness* geral do indivíduo (Barbosa *et al.* 1972). Pela observação dos resultados obtidos, concluiu-se que a exposição de grávidas de *Ae. aegypti* por apenas um minuto ao CA levou a modificações do período necessário para que larvas da próxima geração atingissem o estágio pupal. Portanto, utilizar a transflutrina como repelente espacial ou mesmo como um inibidor de oviposição em programas de combate ao *Ae. aegypti*, pode provocar a diminuição do *fitness* e, conseqüentemente, a redução da população desse mosquito, com efeitos negativos tanto na geração parental quanto na filial.

A razão sexual de mosquitos descendentes de fêmeas expostas a diferentes concentrações de transflutrina também sofreu alterações. O valor de razão sexual referência, ou seja, aquele que se espera observar em populações naturais, é igual ou próximo a 1:1, porém, devido a fatores hereditários, é comum verificar populações naturais com mais machos do que fêmeas (Hickey & Craig, 1966). Machos de *Ae. aegypti* contribuem pouco para o sucesso de sua prole, portanto, aumentar a quantidade de machos numa população, pode reduzir ou mesmo eliminar a população-alvo (Burt, 2014). Alterações da razão sexual de mosquitos promovidas pela exposição a agentes nocivos ou estressantes também já foram observadas em outros estudos (Robert & Olson, 1989; Unlu *et al.* 2014). Os presentes resultados mostraram que a exposição por apenas 1 minuto à transflutrina causou um balanceamento na razão sexual da geração descendente dos mosquitos expostos, com quantidade sutilmente maior de machos gerados em todos os tratamentos. Sendo assim, o conhecimento dos efeitos provocados pela exposição de mosquitos à transflutrina, são relevantes, pois a exposição ao CA sobre a população de *Ae. aegypti*, podem ser verificados por um período de tempo maior que o tempo de vida de uma geração de mosquitos.

Entre os parâmetros biológicos comumente estudados, a biometria das asas de mosquitos é um dos parâmetros utilizados para se verificar o crescimento corporal dos indivíduos (Christophers, 1960), além de um indicador do sucesso reprodutivo dos mosquitos (Nasci, 1990). No presente estudo, mosquitos descendentes de fêmeas da cepa Rockefeller expostas às diferentes concentrações do CA, não tiveram seu tamanho corporal afetado pelos tratamentos. Enquanto mosquitos da cepa Piumhi descendentes de fêmeas expostas ao tratamento 2%, tiveram indivíduos maiores que aqueles do controle. Indivíduos maiores, podem representar maior qualidade nutricional e que, portanto, podem viver por mais tempo e apresentarem, conseqüentemente, maior sucesso reprodutivo em relação aos indivíduos

menores (Nasci, 1990). No entanto, o sucesso reprodutivo de mosquitos maiores nem sempre ocorre e existem relatos da preferência de fêmeas menores por machos menores, que são mais comumente encontrados em campo (Callahan *et al.* 2018). Apesar de efeitos negativos serem comumente verificados após a exposição de insetos à inseticidas (Cohnstaedt & Allan, 2011; Buhagiar *et al.* 2017; Bibbs *et al.* 2018), a ausência de efeitos negativos ou mesmo a ocorrência de efeitos positivos para o *fitness* do inseto, embora menos frequentes, também podem ocorrer (Andreazza *et al.* 2021). Efeitos benéficos aos insetos após serem expostos a doses não letais de agentes nocivos, são chamados hormese (Kendig *et al.* 2010) e foram verificados nos descendentes de mosquitos da cepa Piumhi expostos a 2% de transflutrina, resultando em mosquitos maiores que os do controle. Em relação às diferenças encontradas no tamanho das asas quando mosquitos de ambas as cepas utilizadas no presente estudo foram comparadas entre si, mosquitos mantidos em laboratório por muitas gerações, apresentam maior tamanho corporal que mosquitos selvagens ou recém-criados em laboratório (Yeap *et al.* 2013), além disso, o maior tamanho das asas de mosquitos da cepa Rockefeller, pode ser atribuído ao maior período larval que apresentaram, uma vez que a alimentação no período larval influencia diretamente no tamanho das asas (Jirakanjanakit *et al.* 2007). Portanto, o conhecimento das consequências da aplicação de diferentes doses da transflutrina sobre *Ae. aegypti* e sobre as gerações descendentes dos mosquitos expostos, é de extrema relevância para o sucesso no controle desse vetor com a utilização desse piretroide.

De forma geral, verificamos na presente pesquisa que a exposição às diferentes concentrações do CA avaliadas, provocou várias consequências tanto nas fêmeas de *Ae. aegypti* expostas quanto na sua prole. Foram verificados efeitos de KD, mortalidade e sobre a oviposição das fêmeas expostas. Além disso, foi observada a redução da viabilidade dos ovos postos pelas fêmeas expostas, bem como alterações no tempo de desenvolvimento larval, na razão sexual e no tamanho de adultos originados de fêmeas expostas ao CA. Portanto, por provocar efeitos que causaram a depreciação em duas cepas de *Ae. aegypti*, em vários parâmetros avaliados, a transflutrina pode ser recomendada para utilização como composto ativo em futuros estudos visando o controle populacional de mosquitos, seja atuando como inseticida, repelente espacial ou mesmo como um inibidor de oviposição em criadouros permanentes associado a armadilhas de captura massal de grande poder atrativo para mosquitos, formando um sistema *push-pull*.

CAPÍTULO 2

Desenvolvimento e avaliação de um dispositivo liberador de transflutrina como inibidor de oviposição de *Aedes aegypti* em condições de semicampo e campo

Introdução

Devido à ausência de vacinas disponíveis para a população em geral para doenças como dengue, Zika e chikungunya, a redução da densidade populacional do vetor *Ae. aegypti* através da eliminação dos seus criadouros e a aplicação de inseticidas de ação residual ainda são as medidas mais utilizadas para a prevenção de surtos epidêmicos dessas arboviroses (WHO, 2009; Sivagnaname & Gunasekaran, 2012). No entanto, a aplicação de tais medidas enfrenta obstáculos no combate ao vetor, como a dificuldade em encontrar e acessar todos os criadouros devido ao próprio comportamento da *Ae. aegypti* grávida que espalha seus ovos em vários criadouros diferentes (Abreu *et al.* 2015). Além disso, a utilização incorreta e em excesso dos inseticidas pode resultar na seleção de populações de mosquitos resistentes à tais substâncias (WHO, 2009).

A escolha do sítio de oviposição por *Ae. aegypti* é um momento crucial para o sucesso reprodutivo da espécie. Essa escolha ocorre com a identificação de diversas características físico-químicas, bióticas e/ou abióticas presentes no sítio de oviposição, que sinalizam para as fêmeas a qualidade e capacidade daquele local para manter sua prole (Bentley & Day, 1989; Wong *et al.* 2011). Portanto, estratégias de controle vetorial que visam eliminar os criadouros com melhores características para abrigar a prole de *Ae. aegypti*, ou mesmo interferir na escolha do sítio de oviposição pelas fêmeas, são amplamente adotadas e o desenvolvimento de novas intervenções, ferramentas e abordagens nesse campo são necessárias (Achee *et al.* 2019; PAHO, 2019).

Uma ferramenta que pode ser eficaz na redução de criadouros, mas ainda pouco testada em campo, são os inibidores de oviposição (Shalan & Canyon, 2018). Também conhecidos como deterrentes, inibidores de oviposição são compostos ou substâncias químicas que impedem a oviposição dos insetos nos locais onde são aplicados (Clements, 1999, Day, 2016), obrigando as fêmeas a procurarem outro local para depositar seus ovos. Diversas substâncias naturais e sintéticas podem atuar como inibidores de oviposição, como extratos e derivados de plantas (Shalan & Canyon, 2018; Gharsan, 2019) e nanopartículas (Rajaganesh *et al.* 2016; Benelli *et al.* 2018). Porém, um composto ainda pouco testado nessa função é a transflutrina.

A transflutrina (2, 3, 5, 6-tetrafluorobenzyl (1R, 3S) - 3 - (2, 2-dichlorovinyl) - 2,2 - dimethylcyclopropanecarboxylate) é um composto químico sintético, apresenta a fórmula $C_{15}H_{12}Cl_2F_4O_2$ e foi desenvolvida inicialmente como um inseticida de ação rápida da classe dos piretroides (WHO, 2006). Porém, devido à sua volatilidade e baixo risco de toxicidade em

humanos, foi rapidamente empregada como repelente espacial de mosquitos, sendo licenciada em mais de 50 países, incluindo o Brasil, para uso doméstico como principal composto ativo em formulações sob a forma de espirais, pastilhas e aerossóis (WHO,2006; Logan *et al.* 2020). A transflutrina atua nos canais de sódio (Na) neuronais dos insetos (Narahashi *et al.* 2007) causando diferentes respostas fisiológicas, como hiperexcitabilidade (Meyer, 1989), “*knockdown*” (perda da capacidade de movimentação, estado de choque) (Page *et al.* 1949), paralisia neuromuscular e morte (Narahashi, 1996).

A repelência espacial pode ser entendida como a indução de diversos comportamentos em insetos provocados por compostos químicos dispersos no ar, como movimentos para longe da fonte emissora, diminuição da atração ao hospedeiro ou da alimentação, que diminuem o contato entre vetores e humanos resultando em uma proteção pessoal (WHO, 2019). A efetividade da transflutrina como repelente espacial de mosquitos pode ser verificada por se tratar de um composto volátil que, ao ser disperso no ar, promove um espaço livre de mosquitos, oferecendo proteção contra picadas a possíveis hospedeiros que se encontrarem no raio de ação do repelente, o que, conseqüentemente, pode diminuir a transmissão de patógenos (Achee *et al.* 2012; Ogoma *et al.* 2012; 2014; 2017; Sangoro *et al.* 2020; Tambwee *et al.* 2020, 2021).

Contudo, os efeitos sobre a oviposição de mosquitos expostos à transflutrina ainda estão em investigação. Em experimentos realizados em laboratório, fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* reduziram a dispersão, a quantidade e a viabilidade dos ovos quando expostas a doses não-letais de transflutrina (Bibbs *et al.* 2018). Em um estudo realizado na Tanzânia, em semicampo, a oviposição de fêmeas de *An. arabiensis* expostas a espirais com 0,03% de transflutrina, foi reduzida em 97% (Ogoma *et al.* 2014), demonstrando assim o potencial da transflutrina como inibidor da oviposição de mosquitos. Porém, o efeito inibidor de oviposição da transflutrina sobre *Ae. aegypti* ainda não foi avaliado em condições de semicampo.

Compostos voláteis sintéticos capazes de modificar o comportamento de insetos como repelentes, atraentes e inibidores, geralmente são impregnados em sistemas liberadores passivos, ou seja, sistemas que não necessitam de uma fonte de energia, calor ou fluxo de ar para a liberação dos compostos ativos (Kline & Urban, 2018). A escolha do material ideal para atuar como matriz liberadora influencia diretamente na efetividade e duração do composto (Okumu *et al.* 2010, Mukabana *et al.* 2012; Mweresa *et al.* 2014). É desejável que as substâncias químicas sejam liberadas em doses fixas e contínuas ao longo do tempo, suficientemente altas para serem detectadas pelos insetos e permanecerem efetivas por períodos prolongados (Vilela & Della-Lúcia, 2001; Okumu *et al.* 2010; Heuskin *et al.* 2011). Uma grande variedade de

tecidos e polímeros de diversas composições podem ser utilizados como liberadores de compostos químicos voláteis de forma passiva no ambiente (Achee *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2013; Agramonte *et al.* 2017; Batista *et al.* 2017). O tecido juta é um produto comum, de baixo custo, produzido com fibras de origem vegetal e vem sendo utilizado como matriz de liberação da transflutrina em diversos estudos, principalmente atuando na inibição das picadas de mosquitos relacionados com a transmissão de patógenos (Ogoma *et al.* 2012; 2017; Masalu *et al.* 2017; Mmbando *et al.* 2019; Tambwee *et al.* 2020).

Para alcançar o sucesso no enfrentamento às doenças relacionadas ao *Ae. aegypti* e principalmente no combate direto ao vetor, é necessário o desenvolvimento de ferramentas de fácil manipulação, baixo custo operacional, que sejam efetivas em proteger contra os mosquitos e possíveis de serem aplicadas em larga escala (Masalu *et al.* 2017). Portanto, o objetivo do presente estudo foi desenvolver um dispositivo liberador de transflutrina confeccionado com tiras de juta e avaliar sua ação inibidora de oviposição de *Ae. aegypti* em condições de semicampo e campo.

Objetivos

Geral:

Desenvolver e avaliar em condições de semicampo e campo um dispositivo liberador passivo de transflutrina para inibir a oviposição de *Ae. aegypti*.

Específicos:

- Determinar o tempo dos experimentos em semicampo
- Avaliar diferentes concentrações de transflutrina na inibição de oviposição de *Aedes aegypti* em experimentos de semicampo e campo;
 - Avaliar o tamanho do dispositivo liberador da transflutrina e o seu efeito inibidor de oviposição de *Aedes aegypti* em condições de semicampo;
 - Avaliar a posição do liberador de transflutrina em relação ao criadouro artificial e o efeito inibidor de oviposição de *Aedes aegypti* em semicampo;
 - Definir a melhor configuração (concentração, tamanho e posição) do liberador de transflutrina para inibir a oviposição de *Aedes aegypti*.

Material e Métodos

Local do estudo

Semicampo:

Os experimentos foram realizados no sistema de semicampo (SSC) do Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo em Controle de Vetores - LINTEC, localizado em uma área externa anexa ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no *campus* Pampulha em Belo Horizonte (MG). O SSC consiste em uma grande área de aproximadamente 7,0 x 14,0 x 3,5 m em forma de celeiro, construída com estrutura de metal revestida por telas nas laterais e portas, além de placas de polietileno no teto da estrutura que permitem a entrada de luz natural e piso coberto por brita. A entrada do SSC apresenta uma antessala com armários, prateleiras, uma pia e duas portas de correr revestidas por telas para evitar escapes ou entrada de insetos durante os experimentos. Internamente o SSC é formado por duas câmaras de teste em formato de túnel, com paredes e teto feitos de tecido branco (voil) e medindo aproximadamente 92,4 m³ (2,8 x 13,2 x 2,5 m) cada, que podem ainda ser ajustadas formando até oito câmaras menores (2,5 x 2,5 x 2 m), com entradas independentes, se necessário. Um sistema de arrefecimento automatizado no teto da estrutura e termo-higrômetros portáteis, também estão presentes no SSC (Roque & Eiras, 2008). Os experimentos em semicampo ocorreram com temperaturas médias de 29,4 ± 2,5° C e umidade relativa do ar de 60,8 ± 14,2% (Roque & Eiras, 2008).

Campo:

Os experimentos em campo foram conduzidos em área de circulação externa do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) no *campus* Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em Belo Horizonte (MG, Brasil) (Figura 12).

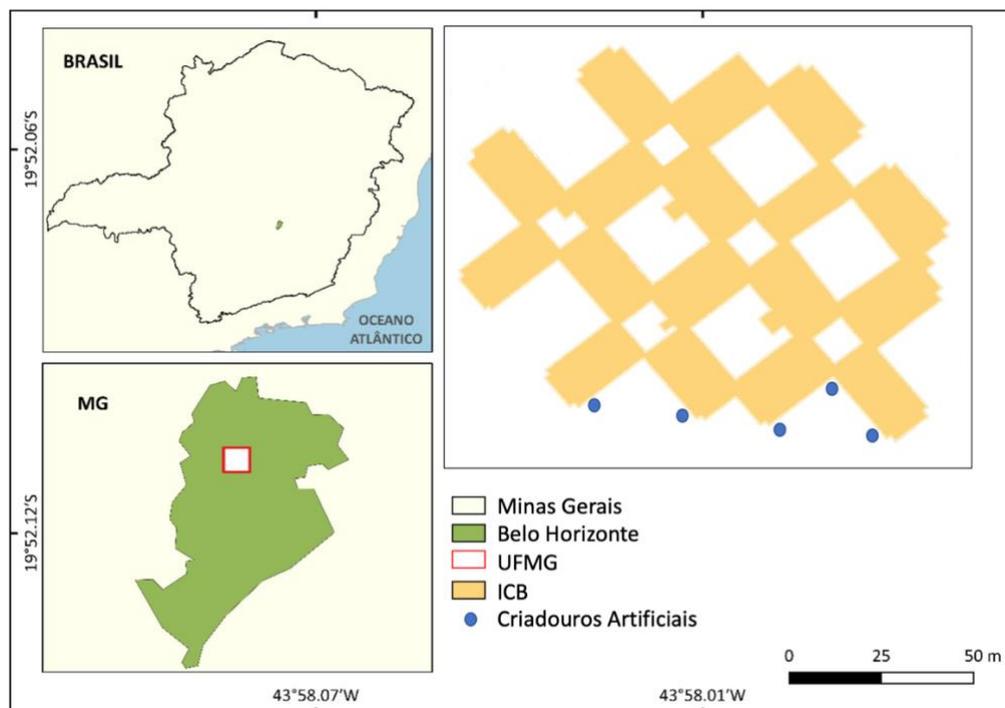


Figura 12: Mapa mostrando os locais de instalação dos criadouros artificiais durante experimento de campo no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) no *campus* Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Fonte: Adaptado de Google Earth Pro

Mosquitos:

Foram usados mosquitos *Ae. aegypti* (Colônia-F8) mantidos no insetário sobre condições ambientais controladas ($27 \pm 2^\circ \text{C}$; 60 a 80% URA e 12:12 h fotoperíodo). Todos os procedimentos necessários para manutenção e alimentação e seleção dos mosquitos no insetário foram previamente descritos no capítulo 1 da presente tese.

Confeção de dispositivos liberadores de transflutrina:

Tiras de juta (Castanhal Companhia Têxtil, modelo F9-328 g/m^2 natural) foram utilizadas como dispositivo liberador de transflutrina (Ogoma *et al.* 2012). Cada liberador foi confeccionado utilizando três tiras de juta (15 x 10 cm), sobrepostas e fixadas entre si nas extremidades por grampos de metal (Figura 13).



Figura 13: Dispositivo liberador confeccionado com três tiras de juta sobrepostas e fixadas com grampos de metal.

Preparo da transflutrina:

A transflutrina foi novamente utilizada como composto ativo e as concentrações (2, 5, 10 e 15%) que foram avaliadas como inibidoras de oviposição de *Ae. aegypti* foram obtidas como descrito no capítulo 1 da presente tese. Cada concentração de transflutrina resultante da dissolução em álcool etílico absoluto, foi utilizada para impregnar dois dispositivos liberadores resultando em oito dispositivos impregnados com transflutrina (Figura 14). Outros dois dispositivos foram impregnados apenas com álcool etílico absoluto e utilizados como dispositivos controle nos experimentos.



Figura 14: Dispositivos liberadores impregnados com diferentes concentrações de transflutrina (2, 5, 10 e 15% - tratamentos) e álcool etílico absoluto (controle) avaliados como inibidores de oviposição de *Aedes aegypti*.

Criadouros Artificiais (Ovitrampas):

Devido à alta sensibilidade das ovitrampas em receber a deposição de ovos de *Ae. aegypti*, essas armadilhas foram adaptadas para os experimentos em semicampo e campo e foram denominadas como criadouros artificiais. Os criadouros artificiais consistiram de baldes pretos (10 L) com aproximadamente 1 L de água e uma tira de papel camurça vermelho (16 x 8 cm) utilizada como substrato de oviposição (Figura 15). O liberador de inibidor de oviposição (tratamento ou controle) e o substrato de oviposição foram fixados por prendedores de metal à parede interna do criadouro e posicionados de maneira oposta.



Figura 15: Criadouro artificial (ovitrampa): Baldes pretos (10 L) utilizados como criadouros artificiais durante os experimentos em campo e semicampo. Os criadouros foram preparados para os experimentos com aproximadamente 1L de água, uma tira de papel camurça (16 x 8 cm) como substrato de oviposição e um dispositivo liberador.

Experimentos

Os experimentos de semicampo consistiram em comparações diretas do liberador controle (liberador impregnado apenas com álcool absoluto) com um liberador tratamento (impregnado com uma concentração de transflutrina).

Em cada teste, dois potes contendo 25 grávidas de *Ae. aegypti*/pote foram posicionados no solo ao centro cada túnel para a aclimação dos insetos por 15 min. Após este período, os criadouros (controle e tratamento ou somente controles) foram dispostos um em cada extremidade do túnel, de maneira equidistante das paredes e alinhados ao centro.

Duas repetições foram conduzidas simultaneamente em cada área experimental no semicampo e os experimentos iniciavam a partir da liberação simultânea dos mosquitos em cada área. Após o fim de cada repetição, os mosquitos remanescentes foram eliminados com o auxílio de raquetes elétricas. Ventiladores foram acionados em cada túnel por cerca de 15 min. visando remover qualquer resíduo de transflutrina deixado no ar pelo tratamento utilizado. Todos os substratos de oviposição dos criadouros artificiais foram levados ao laboratório para contagem dos ovos sob uma lupa estereoscópica (20x, Olympus SZ51).

Experimento 1: Determinação do tempo dos experimentos de inibição de oviposição em condições de semicampo: Neste experimento foram utilizados apenas criadouros controle (contendo substrato de oviposição e tiras de juta impregnadas somente com álcool absoluto). O objetivo deste experimento preliminar foi determinar o tempo necessário para cada teste em condições de semicampo. Os criadouros (controle x controle) foram montados e dispostos nos túneis do semicampo como descrito anteriormente. O experimento teve a duração de 24 h, sendo iniciado às 10:00 h da manhã. Durante as seis primeiras horas (10:00 h – 16:00 h), os substratos de oviposição foram retirados e substituídos por um novo a cada hora. Após 6h de experimento, um novo substrato de oviposição foi mantido no criadouro por 18h, totalizando 24h de experimento por repetição. Foram realizadas seis repetições e 300 grávidas de *Ae. aegypti* foram utilizadas. Ao final de cada repetição, os substratos de oviposição foram encaminhados ao laboratório para contabilização dos ovos. A duração dos experimentos subsequentes foi determinada a partir da verificação do tempo necessário para se obter aproximadamente 75% do total de ovos acumulados ao final deste experimento

Experimento 2: Avaliação de diferentes concentrações do inibidor de oviposição para *Aedes aegypti* em condições de semicampo e campo: Para verificar o efeito inibidor de oviposição da transflutrina sobre *Ae. aegypti*, foram realizados testes em condições de semicampo e campo com as diferentes concentrações de transflutrina (2, 5, 10 e 15%) impregnadas nos liberadores confeccionados com juta. As concentrações de transflutrina foram consideradas os tratamentos neste experimento e o controle consistiu do liberador impregnado apenas com álcool absoluto.

Dois criadouros artificiais, um contendo um dos tratamentos e outro o controle, foram posicionados nos túneis de teste do semicampo como descritos no Experimento 1. Os experimentos seguiram uma ordem crescente das concentrações testadas, iniciando com a concentração 2% e finalizando com a 15%. Foram realizadas oito repetições para cada tratamento e 1.600 mosquitos foram utilizados em todo o experimento. A duração de cada repetição foi de 4h, conforme estabelecida no experimento 1. A concentração de transflutrina que se mostrou mais eficiente em inibir a oviposição de *Ae. aegypti* foi utilizada nos experimentos seguintes.

Em campo, os criadouros artificiais contendo os cinco tratamentos (2%, 5%, 10%, 15% e controle) foram simultaneamente colocados no solo protegidos do sol e da chuva, posicionados aleatoriamente espalhados, respeitando uma distância mínima de 30 metros entre

cada tratamento. O delineamento experimental foi o quadrado latino (5x5) com seis repetições. Os criadouros artificiais foram vistoriados duas vezes por semana para recolher os substratos de oviposição e trocar a água. Após a vistoria, as posições entre os criadouros foram alternadas seguindo sempre uma mesma ordem e um mesmo sentido, permitindo que todos os tratamentos e controle passassem por todas as posições selecionadas, evitando assim, o efeito da posição nos resultados. Os substratos de oviposição recolhidos em cada vistoria foram levados ao laboratório do LINTEC/UFMG para contagem dos ovos sob uma lupa estereoscópica (20x).

Experimento 3: Avaliação do tamanho do liberador de inibidor de oviposição de *Aedes aegypti* em condições de semicampo: Para verificar e definir o tamanho do liberador de transflutrina em semicampo que apresenta maior inibição, foram confeccionados liberadores apenas com uma tira de juta e com três diferentes áreas de superfície: 150 cm² (15cm x 10cm), 300cm² (30cm x 10cm) e 450cm² (45cm x 10 cm). Os liberadores de diferentes tamanhos foram impregnados com a concentração de transflutrina mais eficiente em inibir a oviposição, definida no experimento 2. Como dispositivo controle, foi utilizado o liberador formado por três tiras sobrepostas de juta (15 x 10cm) e impregnado somente com álcool absoluto.

Foram realizadas oito repetições para cada tratamento avaliado e o total de 1.200 mosquitos foram utilizados. Cada repetição teve o tempo de duração definido após o experimento 1 e a concentração de transflutrina utilizada para impregnar os liberadores foi estabelecida após o experimento 2. O tratamento mais eficiente em inibir a oviposição de *Ae. aegypti* foi utilizado no experimento seguinte.

Experimento 4: Avaliação da posição do liberador de transflutrina em relação ao criadouro artificial e o seu efeito inibidor da oviposição de *Aedes aegypti* em semicampo: Foram utilizados neste experimento os liberadores com as características que obtiveram maior inibição de oviposição nos experimentos 2 e 3. O objetivo deste experimento foi avaliar a distância entre o liberador impregnado com transflutrina e a abertura do criadouro que mantém a inibição da oviposição. Foi desenvolvido um protótipo do liberador com estrutura circular, de maneira que a tira de juta é mantida distendida para aumentar a superfície de liberação. As duas extremidades da tira de juta foram fixadas em uma cinta de PVC (15cm de diâmetro) com cliques de aço galvanizado (4/0), resultando em um dispositivo com estrutura circular que foi revestido por uma rede de *nylon*.

Uma haste de metal em formato de L invertido foi utilizada para posicionar os liberadores em diferentes alturas acima da borda do criadouro artificial (Figura 16). Os liberadores foram posicionados (a) dentro do criadouro artificial e em três diferentes alturas acima a parte superior do criadouro artificial: (b) 10cm, (c) 25cm e (d) 50cm. As diferentes alturas em que o dispositivo foi posicionado foram consideradas como tratamentos nesse experimento, e como controle, foi considerado o liberador (150 cm²) posicionado na parede interna do criadouro e impregnado apenas com álcool absoluto. Foram realizadas oito repetições para cada tratamento e um total de 1.600 mosquitos foram utilizados.



Figura 16: Avaliação da posição do dispositivo liberador em relação ao criadouro artificial. Protótipo de dispositivo liberador, montado dentro de uma rede de *nylon*, com uma cinta de PVC e suspenso por uma haste de metal e barbante acima do criadouro artificial durante o experimento realizado em condições de semicampo.

Análises estatísticas

A taxa de inibição da oviposição de *Ae. aegypti* foi verificada para cada tratamento através da seguinte fórmula:

$$\text{Inibição (\%)} = \left(\frac{\text{Controle} - \text{Tratamento}}{\text{Controle}} \right) \times 100$$

Na qual, Controle e Tratamento representam a quantidade de ovos coletados no substrato de oviposição do criadouro artificial contendo os liberadores controle e tratamento, respectivamente.

Para avaliar o efeito inibidor de oviposição da transflutrina, os ovos coletados em cada substrato de oviposição foram comparados em função dos tratamentos, no qual a quantidade de ovos foi a variável resposta (dependente) e as diferentes concentrações de transflutrina, as áreas de liberação e as diferentes alturas em que os liberadores foram posicionados (tratamentos dos experimentos) foram as variáveis explicativas (independentes). Modelos estatísticos lineares generalizados (GLM) foram usados para estimar se houve diferenças entre a quantidade de ovos coletados em cada tratamento dos experimentos. Para corrigir a sobredispersão dos dados, o número de ovos foi modelado seguindo uma binomial negativa com função logarítmica. Para explicar variações em relação à temperatura, vento e outros fatores durante o estudo, o posicionamento de cada criadouro artificial nos túneis do semicampo e durante o experimento de campo, a temperatura e umidade médias de cada repetição em semicampo, foram considerados como fatores aleatórios na análise dos dados. Os modelos foram comparados por análises de variância (ANOVA). Além disso, para verificar diferenças entre os grupos de tratamentos/controles, testes de comparação pareadas foram realizadas utilizando teste de significância honesta de Tukey (Tukey HSD). Em todas as análises, um p-valor menor ou igual a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R versão 3.5.3 (R CORE TEAM, 2020) com o auxílio dos pacotes *lme4*, *car*, *RT4Bio*, *multcomp* e *ggplot2*.

Resultados

Experimento 1: *Determinação da duração dos experimentos de inibição de oviposição em condições de semicampo*

Foram coletados um total de 5.292 ovos no experimento. Não houve diferença entre a média de ovos coletados em cada túnel do semicampo ($\bar{X}_{túnel1} = 85,5$; $\bar{X}_{túnel2} = 104,8$; $df=1$; $p=0,35$) e também não foram observadas diferenças entre a quantidade de ovos coletados em cada posição nos túneis ($df=1$; $p=0,19$). Foi observado que, a cada hora após o início do experimento ocorreu um aumento de aproximadamente 15 a 20% do total de ovos coletados. Durante o período entre 6h e 24h de experimento, observou-se apenas um acréscimo de 20% (835 ovos). Os resultados demonstraram que a coleta de 75% dos ovos foi alcançada com 4h após o início do experimento e, portanto, este tempo foi utilizado nos experimentos posteriores em semicampo (Figura 17).

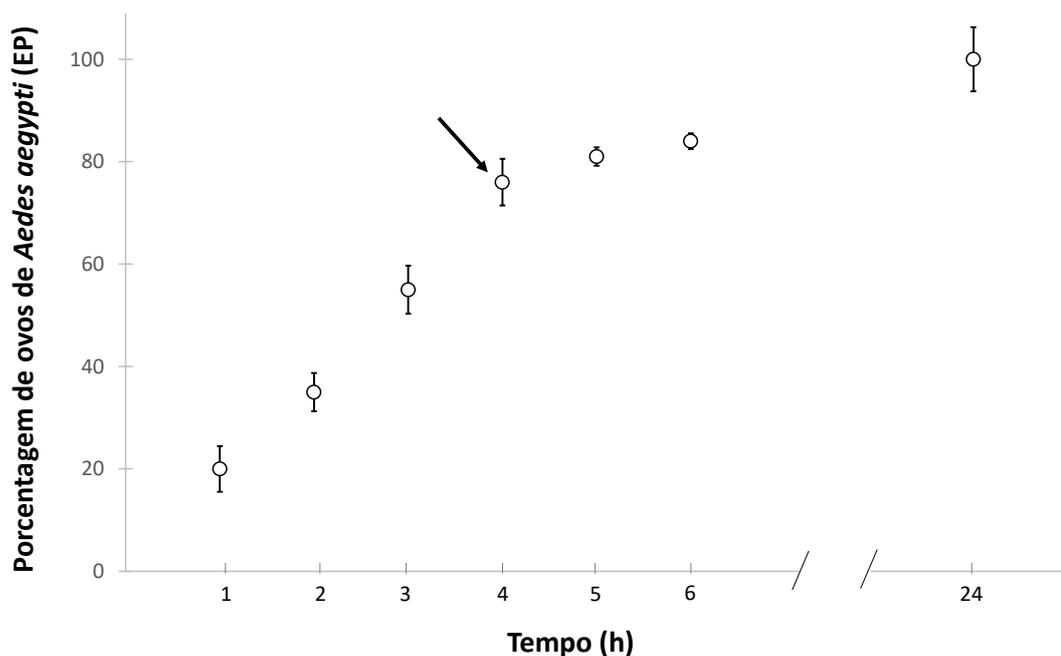


Figura 17: Porcentagem acumulada de ovos de *Aedes aegypti* do experimento para determinar o tempo de duração dos experimentos com inibidores de oviposição em semicampo. A seta indica o tempo de experimento necessário para atingir ao menos 75% do total de ovos e o tempo determinado para os próximos experimentos em semicampo.

Experimento 2: *Avaliação de diferentes concentrações do inibidor de oviposição para *Ae. aegypti* em condições de semicampo e campo*

Em semicampo, foram coletados o total de 37.179 ovos de *Ae. aegypti* em todo o experimento, dos quais 35.448 (95%) foram contabilizados nos substratos de oviposição dos

criadouros contendo o controle e apenas 1.731 (5%) foram coletados nos criadouros contendo as concentrações de transflutrina. Portanto, a presença da transflutrina inibiu a deposição de aproximadamente 95% dos ovos nos criadouros em que foi aplicada. Todas as concentrações de transflutrina avaliadas inibiram a oviposição de *A. aegypti*, o que foi verificado pelo número de ovos significativamente inferior nos tratamentos em relação aos seus respectivos controles (df=7; $p < 0,01$; Tabela 6). O liberador contendo a transflutrina a 5% apresentou a menor quantidade de ovos entre os tratamentos, porém, não foram observadas diferenças significativas na quantidade de ovos coletados entre as concentrações de transflutrina utilizadas no liberador.

Tabela 6: Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média \pm Erro Padrão) e taxa de inibição da oviposição (%) em criadouros contendo diferentes concentrações de transflutrina em condições de semicampo. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey.

Tratamentos	Controle	Tratamentos	P valor	Taxa de Inibição da oviposição (%)
	Número de Ovos (Média \pm EP)	Número de Ovos (Média \pm EP)		
2%	10.105 (1263 \pm 236,50) ^a	827 (103,4 \pm 88,80) ^b	<0,01	91,8
5%	7.614 (951,8 \pm 292,79) ^a	172 (21,5 \pm 12,21) ^b	<0,01	97,7
10%	8.609 (1076,1 \pm 245,09) ^a	343 (42,9 \pm 7,46) ^b	<0,01	96,0
15%	9.120 (1140,0 \pm 226,00) ^a	389 (48,6 \pm 17,70) ^b	<0,01	95,7
Total	35.448 (95%)	1.731 (5%)		

A transflutrina inibiu a oviposição de *Ae. aegypti* em taxas superiores a 90% em todas as concentrações avaliadas. A concentração de 5% de transflutrina apresentou a maior taxa de inibição de oviposição de *Ae. aegypti* (97,7%) e, portanto, esta concentração foi utilizada nos experimentos posteriores.

Durante o período do experimento de campo, foram contabilizados 1.793 ovos de *Ae. aegypti*, tendo o controle apresentado 1.037 ovos, representando 58% do total. O tratamento com 2% de transflutrina apresentou menor quantidade de ovos (73), aproximadamente 4% do total, enquanto o tratamento 5% apresentou a maior quantidade de ovos (355) correspondendo a aproximadamente 20% do total de ovos coletados em campo.

A análise de contrastes nos permitiu amalgamar a quantidade de ovos dos tratamentos 2, 5, 10 e 15% e comparar com os ovos apresentados no controle. No entanto, todos os tratamentos apresentaram significativamente menos ovos em relação ao controle (DF=1; $z=2,28$; $p<0,01$). A oviposição de *Ae. aegypti* foi influenciada em diferentes taxas pelas concentrações de transflutrina utilizadas no experimento de campo. O tratamento 2% exibiu a maior taxa de inibição da oviposição de *Ae. aegypti*, enquanto o tratamento 5% apresentou a menor taxa de inibição (tabela 7).

Tabela 7: Quantidade de ovos (média e erro padrão) de *Aedes aegypti* coletados, taxa de inibição da oviposição (%) e valor de p resultantes para os diferentes tratamentos utilizados no experimento de campo. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p<0,05$) teste de significância honesta de Tukey.

Tratamentos (Concentrações)	Número de ovos (Média \pm EP)	Inibição da oviposição (%)	p-value
Controle	1.037 (34,6 \pm 14,12) ^a	-	-
2%	73 (2,4 \pm 1,43) ^b	93,0	<0,01
5%	355 (11,8 \pm 4,14) ^b	65,8	<0,01
10%	116 (3,9 \pm 2,30) ^b	88,8	<0,01
15%	212 (7,1 \pm 4,38) ^b	79,6	<0,01

Experimento 3: Avaliação do tamanho do liberador de inibidor de oviposição de *Ae. aegypti* em condições de semicampo

Foram coletados o total de 12.897 ovos no presente experimento, destes 12.405 foram coletados em criadouros controle e apenas 492 foram coletados nos criadouros contendo os tratamentos. Portanto, os liberadores em diferentes tamanhos impregnados com transflutrina inibiram a deposição de aproximadamente 96% dos ovos nos criadouros. A quantidade de ovos coletada em todos os tamanhos de liberadores foi significativamente menor que a dos seus respectivos controles ($df=5$; $p<0,01$). Observou-se que o liberador com área de 450cm² apresentou a média de ovos de *Ae. aegypti* significativamente menor do que as demais ($Z=3,91$; $p<0,01$), enquanto as áreas de superfície de 150cm² e 300cm² não apresentaram diferenças entre si ($Z=0,69$; $p=0,98$; Tabela 8).

Tabela 8: Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média ± Erro Padrão) e taxa de inibição da oviposição (%) de diferentes tamanhos de liberadores impregnados com transflutrina 5%. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey.

Tamanhos	Controle	Tratamento	<i>P</i> valor	Taxa de Inibição da oviposição (%)
	Número de Ovos (Média ± EP)	Número de Ovos (Média ± EP)		
150 cm ²	6.370 (796,2 ± 161,31) ^a	275 (34,4 ± 16,74) ^b	<0,01	95,7
300 cm ²	3.402 (425,2 ± 111,60) ^a	187 (23,4 ± 12,40) ^b	<0,01	94,5
450 cm ²	2.633 (329,1 ± 114,39) ^a	30 (3,7 ± 1,50) ^c	<0,01	98,9
Total	12.405 (96%)	492 (4%)		

A inibição de oviposição de *Ae. aegypti* em condições de semicampo foi superior a 94% para todas as áreas de superfície dos liberadores avaliadas (Tabela 8). No entanto, o liberador com área de superfície de 450cm² obteve maior taxa de inibição da oviposição e, portanto, este liberador foi utilizado no experimento 4.

Experimento 4: Avaliação da posição de instalação do liberador de transflutrina em relação ao criadouro artificial e o seu efeito inibidor da oviposição de *Ae. aegypti* em semicampo:

Foram coletados o total de 32.174 ovos de *Ae. aegypti*, no qual 22.751 foram coletados nos criadouros controle e 9.423 nos criadouros tratamento. Assim, a quantidade de ovos observada nos criadouros contendo a transflutrina foi significativamente inferior que a observada nos criadouros controle (Tabela 9).

Tabela 9: Número total de ovos de *Aedes aegypti* (Média ± Erro Padrão) e porcentagem de ovos (%) do dispositivo liberador de transflutrina posicionado dentro e em diferentes alturas acima do criadouro artificial em condições de semicampo. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com teste de significância honesta de Tukey.

Tratamento	Controle		Tratamentos		P valor
	Número de Ovos (Média ± EP)	Porcentagem (%)	Número de Ovos (Média ± EP)	Porcentagem (%)	
0 cm	2.633 (329,1 ± 114,39) ^a	98,3	30 (3,7 ± 1,50) ^c	1,7	<0,01
10 cm	6.001 (750,1 ± 243,43) ^b	82,0	1.316 (164,5 ± 37,38) ^a	18,0	<0,01
25 cm	7.269 (908,6 ± 229,94) ^b	66,7	3.635 (454,4 ± 50,29) ^a	33,3	<0,01
50 cm	6.848 (856,0 ± 294,04) ^b	60,7	4.442 (555,2 ± 107,71) ^b	39,3	0,96
Total	22.751 (71%)		9.423 (29%)		

Foi observado que os liberadores contendo transflutrina inibiram a oviposição de *Ae. aegypti* independentemente da altura que foram posicionados em relação aos criadouros artificiais (Figura 18).

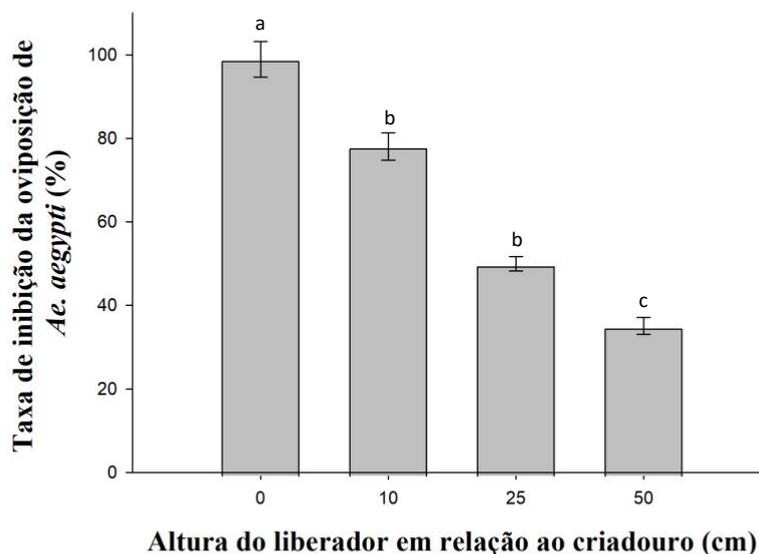


Figura 18: Taxa de inibição de oviposição de *Aedes aegypti* do dispositivo liberador de transflutrina 5% posicionado dentro e em diferentes alturas acima do criadouro artificial em condições de semicampo. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

No entanto, a maior taxa de inibição da oviposição de *Ae. aegypti* foi observada quando o liberador de transflutrina foi posicionado dentro do criadouro artificial (aproximadamente 99%), sendo este o tratamento que apresentou uma quantidade média de ovos significativamente menor que o controle e os demais tratamentos ($p < 0,01$). Foi observada uma redução da taxa de inibição de oviposição à medida que o liberador foi posicionado em alturas maiores, sendo que a 10 e 25 cm de altura, as taxas de inibição foram de 78,1 e 50,0%, respectivamente. Enquanto o liberador posicionado a 50 cm apresentou a menor taxa de inibição entre os tratamentos avaliados não havendo diferença estatística deste com o seu controle ($Z=1,07$; $p=0,96$).

Discussão

No presente estudo, um dispositivo liberador de transflutrina confeccionado com tiras de juta foi desenvolvido e avaliado como inibidor da oviposição de *Ae. aegypti* em experimentos realizados em condições de semicampo e campo.

Várias substâncias voláteis de ação inseticida e/ou repelente, como a transflutrina, podem ser impregnadas em tecidos e polímeros de diversas composições que atuarão como matrizes de liberação passiva de tais substâncias no ambiente (Achee *et al.* 2012; Salazar *et al.* 2013; Agramonte *et al.* 2017). A juta foi escolhida como matéria prima para elaboração dos liberadores utilizados nesse estudo principalmente por ser um produto acessível, possibilitando a confecção de dispositivos liberadores com baixo custo de produção (Poopathi & Rao, 1995). O tecido de juta foi usado com sucesso como liberador de substâncias de ação repelente em diversos experimentos, sendo utilizada como cortinas (Poopathi & Rao, 1995), artigos de decoração (Masalu *et al.* 2017; 2018), tiras e fitas de beiral (Ogoma *et al.* 2012; 2017; Govella *et al.* 2015; Mmbando *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020), em sandálias (Sangoro *et al.* 2020) e até sob bancos de madeira (Masalu *et al.* 2020), impedindo com êxito a picada de mosquitos relacionados com a transmissão local de vários patógenos à população, além de provocar grande aceitação dos usuários (Masalu *et al.* 2017). Tiras de juta (4m x 30cm) promoveram uma liberação lenta e gradual da transflutrina em estudo de campo conduzido na Tanzânia, conferindo uma eficácia protetiva aos usuários em mais de 90% contra picadas de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Mansonia* (Ogoma *et al.* 2017). Em estudo mais recente realizado também na Tanzânia, sandálias fabricadas com tiras de apenas 48cm² de juta, tratadas com 0,10g de transflutrina, reduziram aproximadamente 61% das picadas de *An. arabiensis* nos usuários em semicampo (Sangoro *et al.* 2020). Ainda nesse mesmo estudo, quando avaliadas em vilas localizadas no Sudeste da Tanzânia, sandálias tratadas com 0,15g de transflutrina reduziram em mais de 65% das picadas de mosquitos de diversas espécies (gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*) e em até 75% das picadas de *An. gambiae* s.l. (Sangoro *et al.* 2020).

No presente estudo, demonstramos que tiras de juta podem ser usadas como um eficiente liberador de transflutrina para atuar também como inibidor de oviposição de *Ae. aegypti*.

A utilização de uma área experimental como o sistema de semicampo (SSC) permite que estudos biológicos e comportamentais sejam desenvolvidos em condições muito semelhantes aos naturais e com isso, revelar aspectos que não poderiam ser observados em experimentos laboratoriais ou em experimentos de larga escala em campo (Knols *et al.* 2004).

Além disso, o SSC permite a medição mais precisa dos principais fatores ambientais como temperatura, umidade, incidência de luz e ventos dentro do semicampo, embora tais fatores não possam ser totalmente controlados, são mais constantes no interior do semicampo devido à cobertura do mesmo (Knoils *et al.* 2002; Fergusson *et al.* 2008; Roque e Eiras, 2008; Ritchie *et al.* 2011). Como a atividade dos insetos é sensível a variações climáticas (Bentley & Day, 1989) os experimentos no SSC devem ser conduzidos em períodos apropriados de acordo com a espécie avaliada (WHO, 2013; Yoon *et al.* 2014). Portanto, as condições de temperatura, umidade e duração dos experimentos de estudos comportamentais de mosquitos em semicampo são pré-requisitos importantes para que os resultados possam ser reproduzidos com segurança (Roque e Eiras, 2008). No presente estudo, a temperatura e a umidade não apresentaram influências sobre a quantidade de ovos coletados durante todos os experimentos, confirmando uma uniformidade entre os resultados, até mesmo quando foram avaliados apenas os tratamentos controle (experimento 1).

Estabelecemos o tempo de duração dos experimentos que possibilitou não somente a otimização do tempo necessário para cada experimento, mas também conhecer o período de resposta dos insetos à oviposição. Verificamos que aproximadamente 20% de ovos foram coletados após 2 horas de experimento e 4 horas foram suficientes para obter 75% da oviposição. Consequentemente, foi possível realizar quatro repetições/dia, com duração de 4h cada, utilizando os dois túneis do semicampo.

Demonstramos que em condições de semicampo e em campo de pequena escala, diferentes concentrações do piretroide transflutrina impregnadas em tiras de juta, como um sistema liberador passivo, atuaram como inibidores efetivos da oviposição de *Ae. aegypti*. As concentrações de transflutrina foram definidas com base em diversos estudos anteriores que avaliaram a proteção contra picadas de mosquitos resultante de diferentes concentrações do piretroide (Ogoma *et al.* 2012; Mmbando *et al.* 2018; Sangoro *et al.* 2020).

As quatro concentrações de transflutrina avaliadas tanto no semicampo quanto em campo inibiram a oviposição de *Ae. aegypti* em criadouros artificiais. Resultados semelhantes foram obtidos em estudo realizado em semicampo, porém, com mosquitos *An. gambiae* (s.s.) na Tanzânia, no qual verificaram a redução de 97% dos ovos colocados quando expostos à repelente espiral com transflutrina à 0,03% (Ogoma *et al.* 2014). Porém, ainda existem algumas inconsistências nas consequências da exposição a doses não-letais de transflutrina sobre a oviposição de mosquitos. Em experimentos conduzidos em laboratório, foram verificadas reduções drásticas na quantidade de ovos depositados por *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* expostos

a vapores de transflutrina com concentrações que variavam 0,009% a 0,029% (Bibbs *et al.* 2018). Do mesmo modo, em laboratório, fêmeas de *Ae. aegypti* grávidas expostas à concentração não letal de apenas $8,4 \times 10^{-4}$ mg/mL de transflutrina, mostraram uma atratividade por sítios de oviposição em comparação com fêmeas não expostas (Choi *et al.* 2016). Portanto, o mecanismo de ação de concentrações extremamente baixas da transflutrina sobre a oviposição dos mosquitos, ainda não foram claramente evidenciados. E embora no presente estudo tenham sido utilizadas concentrações de transflutrina relativamente altas (quando comparadas aos estudos anteriormente citados, foi possível verificar o efeito inibidor de oviposição de *Ae. aegypti* desse composto, contribuindo para o entendimento das consequências da exposição a piretroides sobre os insetos.

No presente estudo, verificamos que a área de superfície da tira de juta provocou efeitos sobre *Ae. aegypti* durante os experimentos conduzidos em semicampo, mostrando que quanto maior a área da faixa de juta, maior a inibição da oviposição. Estudos anteriores usando grandes tiras de juta (>1 m) relataram alta eficácia na proteção contra picadas de várias espécies de mosquitos (Govela *et al.* 2015; Masalu *et al.* 2017; 2020; Ogoma *et al.*; 2012; 2017) atingindo até um ano de duração do efeito protetivo (Ogoma *et al.* 2017). No entanto, em um estudo realizado com tiras de juta com áreas menores (48 cm² e 240 cm²), não foi verificada influência das áreas de superfície das tiras de juta na proteção contra picadas de mosquitos, indicando que a diferença no tamanho das tiras de juta, pode não ter sido grande o suficiente para expressar qualquer efeito notável (Sangoro *et al.* 2020). Embora os estudos citados anteriormente não indiquem efeitos sobre a oviposição, mas sim sobre a eficácia protetora contra picadas de mosquitos, eles destacam que a área de superfície dos dispositivos de liberação confeccionados com tecido de juta é uma característica importante a ser considerada em estudos futuros utilizando este material como liberador de piretroide volátil.

O dispositivo liberador desenvolvido com juta, tratado com transflutrina e posicionado em diferentes alturas acima do criadouro artificial também reduziu a quantidade de ovos depositados por fêmeas de *Ae. aegypti* no semicampo em relação ao controle. Verificamos que quanto maior a altura em que o liberador foi posicionado em relação ao criadouro, menor foi o efeito de inibição da oviposição, sugerindo, portanto, que quanto mais próximo do criadouro, maior será o efeito inibidor de oviposição para *Ae. aegypti*. Outros estudos utilizando grandes dispositivos liberadores confeccionados com juta e impregnados com transflutrina conduzidos tanto em semicampo quanto em campo na Tanzânia verificaram que a ação protetiva contra picadas de mosquitos foi maior em voluntários que estavam mais próximos dos dispositivos

impregnados (Ogoma *et al.* 2017; Tambwe *et al.* 2020). Portanto, nossos resultados são condizentes com o mecanismo de ação da transflutrina que é dependente da distância da fonte emissora por se tratar de um composto volátil (Tambwe *et al.* 2020).

Nosso dispositivo possui baixo custo de fabricação, fácil manipulação, além de funcionar de forma passiva. Porém, futuros estudos de durabilidade do efeito inibidor de oviposição do dispositivo impregnado ainda serão conduzidos, embora dispositivos confeccionados com juta e impregnados com transflutrina apresentaram efetividade contra picadas de mosquitos por períodos de até um ano (Ogoma *et al.* 2017), indicando que são dispositivos duráveis. Além disso, a taxa de liberação dos compostos promovida pelo tecido de juta também é desconhecida. Mesmo com tais limitações e testes ainda a serem realizados, podemos recomendar a utilização do dispositivo avaliado em locais onde se deseja reduzir a oviposição em criadouros de *Ae. aegypti*. Adicionalmente, nosso dispositivo pode ser integrado em um sistema de manejo da população de mosquitos, associado a armadilhas de captura, formando um sistema *push-pull*, com o objetivo de suprimir a população de mosquitos em uma determinada área.

CAPÍTULO 3

Avaliação de um sistema *Push-Pull* formado por dispositivos inibidores de oviposição e armadilhas *Gravid Aedes Trap* na supressão populacional de *Aedes aegypti* em Piumhi (MG).

Introdução

Entre as características mais importantes que o mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) possui estão seus hábitos sinantrópicos, ou seja, esse mosquito realiza suas principais atividades, como alimentação e reprodução, sempre associadas ao ser humano (Terra *et al.* 2018). As fêmeas se alimentam preferencialmente de sangue humano (McBride *et al.* 2014) e depositam seus ovos em quaisquer recipientes capazes de armazenar água como pneus, vasos de plantas, garrafas, potes e reservatórios de água potável como caixas d'água e cisternas (Forattini e Brito, 2003). Recipientes e reservatórios localizados na área externa das habitações, com ou sem matéria orgânica, são preferencialmente escolhidos para abrigar a prole de *Ae. aegypti* (Kroth *et al.* 2019), formando seus criadouros.

A maioria dos estudos sobre oviposição de *Ae. aegypti* são realizados principalmente em laboratórios, com mosquitos mantidos em colônias por várias gerações (Ponnusamy *et al.* 2010, Afify *et al.* 2014; Choi *et al.* 2016; Soonwera *et al.* 2017; Bibbs *et al.* 2018; 2019; Dilly *et al.* 2023) o que limita o comportamento natural de oviposição dos mosquitos, podendo levar a resultados contraditórios e impossibilitando extrapolar para campo (Day J, 2016). Adicionalmente, a alta resistência dos ovos à dessecação e o comportamento de oviposição em saltos de *Ae. aegypti* representam grandes desafios na tentativa de controlar a população desse mosquito (Forattini, 1996, Reiter *et al.* 1995; Abreu *et al.* 2015).

A principal ferramenta utilizada para estudos de oviposição de *Ae. aegypti* em campo é a armadilha de oviposição (ovitrampa), que permite a coleta de ovos com fácil manuseio, baixo custo e por isso são amplamente utilizadas em programas de vigilância entomológica (Ortega-Morales *et al.* 2018). Porém, seu uso é laborioso em laboratório para contagem dos ovos e identificação da espécie, o que pode onerar os custos dessa técnica a longo prazo (Resende *et al.* 2013). Algumas adaptações na ovitrampa permitem eliminar larvas originadas dos ovos depositados na armadilha e também as próprias fêmeas grávidas e outros mosquitos que entrem na armadilha, seja pela aplicação de inseticidas no interior das armadilhas (Zeichner & Perich, 1999; Santos *et al.* 2003) ou pela adição de cartão adesivos (Ritchie *et al.* 2003; Gama *et al.* 2007; Mackey *et al.* 2013). Todas essas adições transformam a ovitrampa em uma armadilha letal para o *Ae. aegypti*, como por exemplo a armadilha *Gravid Aedes Trap* (GAT) (Eiras *et al.* 2014).

A armadilha GAT é uma armadilha letal que vem atuando com sucesso em programas de monitoramento e controle de vetores em várias cidades (Becker *et al.* 2017; Johnson *et al.*

2018; Mota, 2018; Hall *et al.* 2022; Jahir *et al.* 2022). Ela consiste em uma armadilha de funcionamento passivo, que simula características físico-químicas de um criadouro e foi desenvolvida especificamente para a captura de grávidas de *Ae. aegypti* (Eiras *et al.* 2014). A GAT é uma ferramenta de fácil operação, baixo custo e de grande aceitação por moradores, mostrando que essa armadilha é uma excelente candidata para operação em programas de supressão massal de *Ae. aegypti* (Eiras *et al.* 2021), podendo ainda atuar concomitantemente com outras abordagens e tecnologias no controle de vetores urbanos, inclusive com a participação da população (Johnson *et al.* 2018; Bazin *et al.* 2018).

Outra ferramenta ainda pouco testada em estudos de campo é a utilização de inibidores de oviposição. Inibidores ou deterrentes de oviposição são substâncias químicas capazes de impedir a oviposição dos insetos nas proximidades dos locais que são aplicados (Day, 2016). Substâncias presentes em extratos de plantas e óleos essenciais (Shaalán & Canyon, 2018; Pavela, 2015), semioquímicos (Navarro-Silva *et al.* 2009) e também nano partículas (Rajaganesh *et al.* 2016), inseticidas e repelentes sintéticos (Afify *et al.* 2014; Choi *et al.* 2016), podem agir como inibidores de oviposição de insetos.

Como as fêmeas de mosquitos detectam pistas e sinais químicos, como odores presentes no ar, para localizar e avaliar recursos como hospedeiros e sítios de oviposição (Day, J. 2016; Hill & Ignell, 2021), a utilização de inibidores de oviposição em áreas com muitos criadouros aquáticos que não podem ser removidos, drenados ou eliminados, pode ajudar a reduzir a infestação de mosquitos (Mulatier *et al.* 2022). Em estudos recentes, Santos *et al.* (em preparação) verificaram reduções drásticas da oviposição de *Ae. aegypti* em criadouros artificiais tratados com transflutrina, indicando que o efeito inibidor de oviposição desse composto também pode ser explorado. Adicionalmente, inibidores de oviposição também podem ser empregados como componentes de sistemas *push-pull*, impedindo que fêmeas realizem a oviposição no local de aplicação, sendo atraídas e capturadas por armadilhas letais (Takeen W, 2010; Mulatier *et al.* 2022). Essa estratégia poderia reduzir os gastos com larvicidas, uma vez que, ao identificar potenciais criadouros e trata-los com inibidores de oviposição, tais locais deixariam de ser atrativos para as fêmeas grávidas (Mulatier *et al.* 2022).

Recentemente, o piretroide transflutrina tem recebido muita atenção dos pesquisadores, pois pode agir de diferentes maneiras de acordo com a escala, dose, estado fisiológico do organismo ou sobre espécie-alvo para os quais é utilizada (Logan *et al.* 2020). Por ser um composto volátil e de ação rápida, baixas concentrações da transflutrina podem causar repelência espacial e morte de mosquitos (Nentwig *et al.* 2017; Estrada *et al.* 2019). Além disso,

modificações no comportamento de oviposição de mosquitos do gênero *Aedes* após exposição à transflutrina, também já foram verificadas em experimentos conduzidos tanto em laboratório (Choi *et al.* 2016; Bibbs *et al.* 2018, Santos *et al.* (a) em preparação) e em semicampo (Santos *et al.* (b) em preparação). Após apenas um minuto de exposição a diferentes doses de transflutrina, foram observadas reduções significativas na oviposição de *Ae. aegypti*, além de outros efeitos não-letais, mas que afetaram o desenvolvimento dos descendentes dos mosquitos expostos durante experimentos conduzidos em laboratório (Santos *et al.* (a) em preparação). Em experimentos de dupla escolha conduzidos em semicampo, criadouros artificiais tratados com transflutrina obtiveram menos ovos de *Ae. aegypti* em relação aos criadouros não tratados (Santos *et al.* (b) em preparação). Portanto, tais estudos sugerem que a transflutrina também pode atuar como inibidora de oviposição de *Ae. aegypti*. No entanto, até o momento, não existem estudos de campo em grande escala que testam a capacidade da transflutrina de atuar como inibidora de oviposição de *Ae. aegypti*.

A versatilidade da transflutrina também foi verificada durante estudos conduzidos em semicampo na Tanzânia, atuando como componente “*push*” em sistemas *push-pull* (Mbandoo *et al.* 2019; Tambwe, *et al.*, 2020; Njoroge *et al.* 2021), prevenindo picadas de várias espécies de mosquitos nos usuários. A técnica *push-pull* consiste na adoção de estratégias que utilizam estímulos químicos para repelir os insetos-alvo de um local de interesse (“*push*”) e captura-los em um local alternativo (“*pull*”) e é utilizada no controle de insetos considerados pragas na agricultura (Pyke *et al.* 1987). Essa técnica também pode ser adaptada e empregada na tentativa de minimizar o contato dos mosquitos com humanos, através do uso associado de repelentes espaciais e armadilhas de captura de *Ae. aegypti* (Gordon *et al.* 2018).

Tendo em vista que a escolha do sítio de oviposição de *Ae. aegypti* é um fator determinante para o sucesso reprodutivo desta espécie (Bentley & Day, 1989), o desenvolvimento de estratégias de controle que possam interferir nesse momento é de extrema importância para o controle deste vetor (Day J, 2016). Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar um sistema *push-pull* composto por inibidores de oviposição (transflutrina) e armadilhas GAT, para o controle massal de *Ae. aegypti* e, conseqüentemente, reduzir a população do vetor.

Objetivos**Geral:**

Avaliar um sistema *push-pull* formado por um inibidor de oviposição e a armadilha GAT na supressão massal de mosquitos *Aedes aegypti*.

Específicos:

- Avaliar a efetividade do dispositivo inibidor de oviposição para *Ae. aegypti*.
- Avaliar o efeito da captura massal de *Ae. aegypti* pelas armadilhas GATs.
- Avaliar a efetividade do sistema *push-pull* completo em suprimir a população de *Ae. aegypti*.

Material e Métodos

Área de estudo

Esse estudo foi realizado em campo, no município de Piumhi (latitude 20°27'42.63" S e longitude 45°56'44.53" O), localizado na região Centro-Oeste do estado de Minas Gerais (Figura 19). É estimado que o município possua aproximadamente 35.137 habitantes e um território de 902,468 km² (IBGE, 2022). O clima predominante na região é o temperado úmido caracterizado como inverno seco e verão quente e úmido (Koeppen, 1948), além disso, o município está inserido nos domínios do Cerrado (IBGE, 2022b).

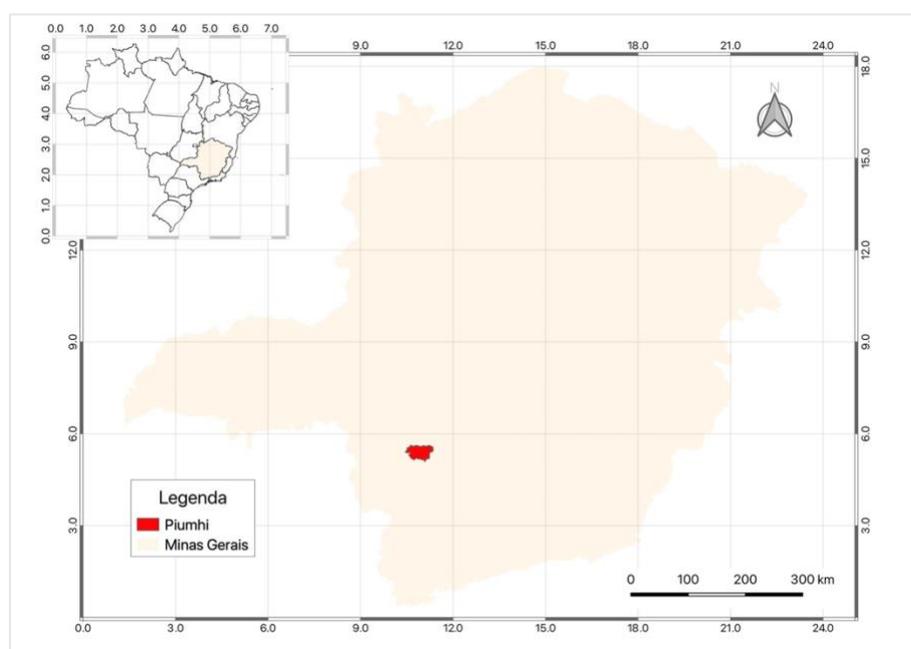


Figura 19: Mapa do município de Piumhi onde foi conduzido o estudo de campo com inibidor de oviposição. Minas Gerais, Brasil. Fonte: IBGE, 2020.

Transflutrina

A transflutrina (TC 99%, Bayer AG, Alemanha) foi diluída em álcool etílico absoluto (99,8° GL, PA), Sciaviccio Comércio e Indústria LTDA, Brasil) resultando na concentração 2%. Essa solução resultante foi o ingrediente ativo utilizado como inibidor de oviposição. A escolha dessa concentração de transflutrina para ser utilizada como ingrediente ativo no presente estudo foi feita após os resultados apresentados no Capítulo 2 da presente tese. Embora nos criadouros com as concentrações de transflutrina avaliadas (2, 5, 10 e 15%) tenham sido verificados significativamente menos ovos que nos controles, tanto em semicampo quanto em campo

(Capítulo 2), a concentração 2% foi escolhida pois apresentou resultados semelhantes aos alcançados com quantidades maiores do ingrediente ativo avaliado.

Produção dos inibidores de oviposição – componente “push”

Os dispositivos inibidores de oviposição, confeccionados com tiras de juta (45 x 10 cm) impregnadas com transflutrina (2%), que apresentaram os melhores desempenhos durante os experimentos do capítulo 2, foram adaptados para a utilização como componente “push” em um sistema *push-pull* durante os experimentos de campo na cidade de Piumhi. Telas de metal (50 x 15 cm) foram utilizadas como suporte para a tira de juta e prendedores de metal foram utilizados para fixar a tira e ajustar o dispositivo num formato cilíndrico (Figura 20). Uma cobertura de plástico (20 cm de diâmetro) foi fixada à tela por linhas de *nylon* para proteger do sol e chuva. Foram produzidos 500 dispositivos inibidores de oviposição ao custo unitário de R\$ 2,83 (sem a impregnação de transflutrina).



Figura 20: Dispositivo liberador utilizado no estudo de campo. O liberador foi confeccionado com juta impregnada com transflutrina (2%), tela de metal e uma cobertura de plástico. Grampos de metal e linha de *nylon* fixam os componentes do dispositivo entre si. Fonte: o próprio autor.

Armadilha *Gravid Aedes Trap* (componente “pull”)

A armadilha GAT consiste em um recipiente preto fosco como base, uma câmara translúcida que se encaixa na base e um funil posicionado no topo da câmara translúcida, por onde os mosquitos entram na armadilha (Eiras *et al.* 2014) (Figura 21). O funcionamento da GAT não necessita de nenhuma fonte externa de energia, se baseando em características visuais e olfativas, que simulam um criadouro, para atrair as grávidas de *Ae. aegypti*. A base da armadilha foi preenchida com aproximadamente 2L de água para simular um criadouro. Para impedir que os mosquitos entrem em contato com a água, a armadilha utiliza uma tela de *nylon* presa no fundo da câmara translúcida por um aro de plástico. Além disso, um atraente sintético de oviposição em um sistema de liberação controlada (Eiras *et al.*, 2014; 2019), foi adicionado no interior da armadilha para maximizar a atratividade. Cartões adesivos foram adicionados no interior da armadilha para capturar os mosquitos e preservá-los (Heringer *et al.* 2016; Eiras *et al.* 2014).

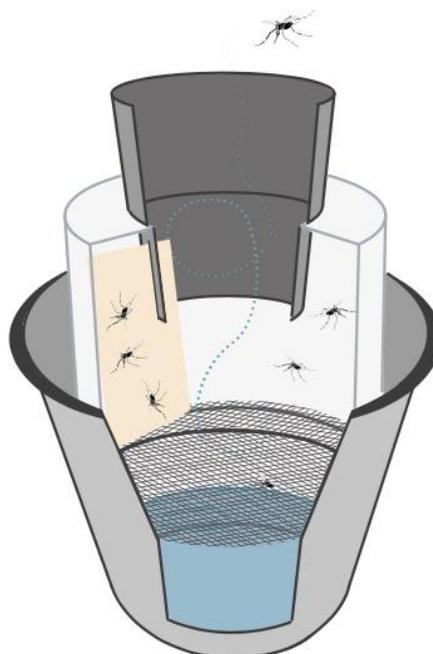


Figura 21: Armadilha *Gravid Aedes Trap* (GAT) em seção transversal. A GAT é formada por um funil de entrada na parte superior, uma câmara translúcida na qual um cartão adesivo foi adicionado, tela retentora impregnada com inseticida e uma base preenchida com água. Fonte: biogents.com/downloads.

A armadilha GAT foi utilizada no presente estudo, concomitantemente, como ferramenta de monitoramento e de supressão massal das populações de *Ae. aegypti*.

Divulgação do experimento e conscientização da população da área experimental

Nas quatro semanas que antecederam a instalação das armadilhas foram realizadas campanhas de divulgação do experimento de campo na imprensa local de Piumhi (rádio, tv e redes sociais) (Figura 22) e através de *folders* impressos (Figura 23) e entregues à população em todos os bairros selecionados para o projeto. Durante as campanhas de divulgação nas mídias, houve a participação pessoal do prefeito, secretária municipal de saúde e do coordenador de endemias do município, além dos pesquisadores do LINTEC-UFG. A entrega de *folders* à população foi realizada durante a divulgação em todos os imóveis nas áreas de estudo e ocorreram com a participação da equipe de agentes de controle de endemias, coordenador de endemias do município e dos pesquisadores do LINTEC-UFG.



Figura 22: Campanha de divulgação do projeto de supressão massal de mosquitos *Aedes aegypti* com armadilhas GAT na cidade de Piumhi-MG. 1- Notícia sobre o projeto no Jornal Alto São Francisco, 27 de janeiro de 2022. 2- Entrevista concedida à Rádio Onda Oeste e Jornal da Onda, 28, de janeiro de 2022. 3- Divulgação do projeto em mídia social junto à secretária de saúde do município. Fonte: @dengue.piumhi.mg, 01 de fevereiro de 2022.



Figura 23: Folder distribuído à população durante a campanha de divulgação do projeto de supressão de *Aedes aegypti* com armadilhas em Piumhi-MG.

Desenho experimental

Foram selecionados nove bairros para a avaliação do sistema *push-pull*, cuja seleção foi realizada buscando contemplar aqueles com maior ocorrência histórica de casos de arboviroses associadas ao mosquito *Ae. aegypti*, além de apresentarem maiores Índices de Infestação Predial (Mota, 2018). Em cada bairro foram selecionadas nove quadras e em cada quadra, uma armadilha GAT foi instalada para monitorar a flutuação populacional do *Ae. aegypti* (Mota, 2018), a qual foi denominada armadilha de monitoramento, totalizando, portanto, 81 nos nove bairros.

Nos bairros onde foram realizadas as intervenções de controle, as GATs também foram instaladas, porém, uma GAT por imóvel, sendo estas denominadas armadilhas de supressão.

Os bairros selecionados foram aleatoriamente separados em três tratamentos contendo três bairros cada (Figura 24), sendo:

Testemunho: áreas onde foram instaladas apenas as armadilhas de monitoramento de *Ae. aegypti*, sendo 1GAT/quadra em nove quadras de cada área;

Somente as armadilhas (“pull”): além das armadilhas de monitoramento (1GAT/quadra), foram instaladas as armadilhas de supressão (1GAT/imóvel);

Push-Pull: foram instaladas as armadilhas de monitoramento, armadilhas destinadas à supressão e também foram instalados os inibidores de oviposição nos três bairros, em locais identificados como possíveis criadouros de mosquitos (Figura 25).

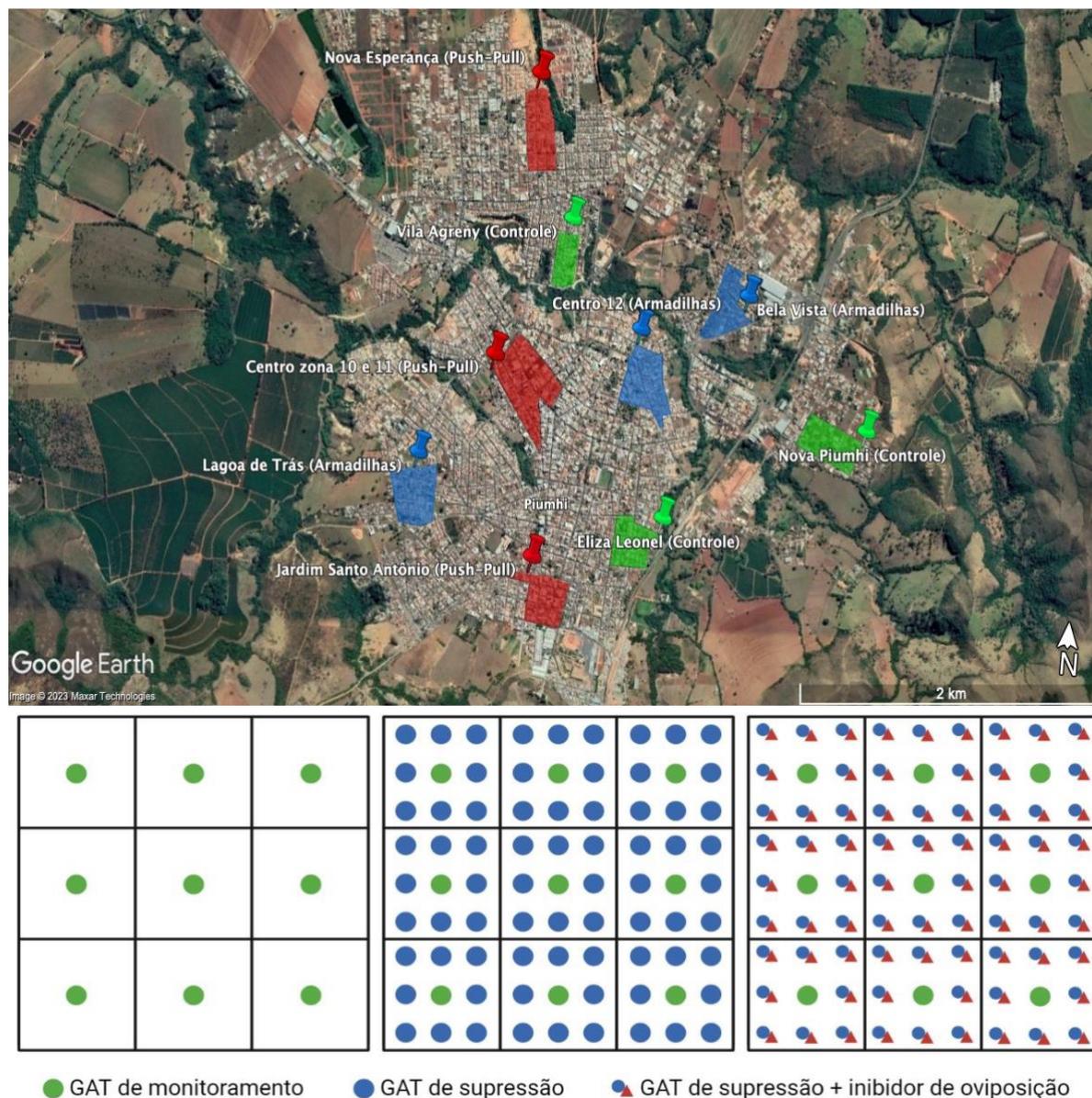


Figura 24: Mapa e esquema ilustrativo da distribuição dos tratamentos na cidade de Piumhi – MG. No mapa, as áreas destacadas em verde representam as áreas Testemunho, em azul as áreas tratadas apenas com armadilhas GAT (“pull”) e em vermelho as áreas onde foram implantados o sistema *Push-Pull*. Fonte: Google Earth Pro. No esquema, os quadros representam os quarteirões. Pontos verdes representam armadilhas GAT de monitoramento. Pontos azuis as armadilhas GAT de supressão. Triângulos vermelhos representam inibidores de oviposição.



Figura 25: Dispositivo inibidor de oviposição e armadilha *Gravid Aedes Trap* formando um sistema *push-pull* na cidade de Piumhi (MG). O inibidor foi instalado próximo à um potencial criadouro de *Aedes aegypti* (componente “*push*”) e armadilha GAT ao fundo (componente “*pull*”). Fonte: o próprio autor.

O presente estudo foi dividido em dois períodos:

Pré-intervenção: compreendeu o período de operação das armadilhas de monitoramento contendo 81 armadilhas (1 GAT/quadra) nas três áreas de estudo. Para fins comparativos, o período pré-intervenção compreendeu o intervalo de 52 semanas epidemiológicas (SE) anteriores ao período de intervenção.

Intervenção: consistiu no período de operação das armadilhas de supressão de mosquitos nas duas áreas de intervenção (somente armadilhas e *push-pull*) durante 52 semanas, correspondendo a um ano de intervenção. Em fevereiro de 2022, iniciou-se a instalação das

armadilhas. A vistoria das armadilhas nas áreas de supressão foi realizada mensalmente e a primeira vistoria ocorreu em março de 2022 (SE-11). Portanto, o período de intervenção foi de março de 2022 (SE-11) a março de 2023 (SE-10).

A Figura 26 ilustra a ordem cronológica em que as intervenções ocorreram no município de Piumhi.

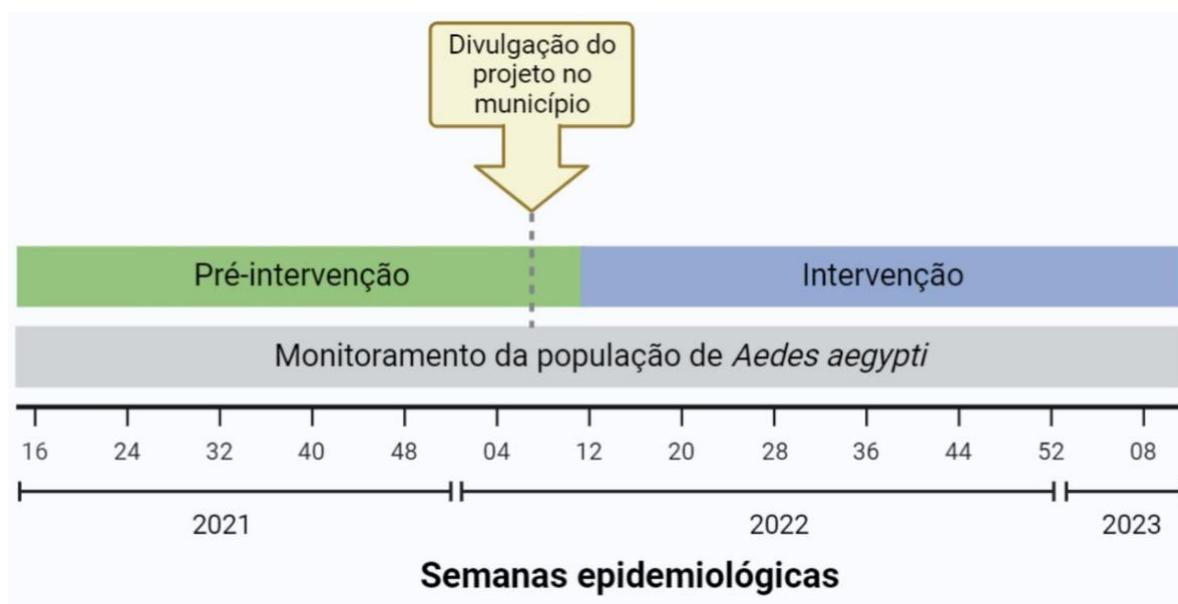


Figura 26: Desenho esquemático da linha do tempo das intervenções realizadas durante o projeto de controle massal de mosquitos entre 2021 e 2023, na cidade de Piumhi-MG.

As vistorias das armadilhas em todas as áreas ocorreram semanalmente nas armadilhas de monitoramento e mensalmente nas armadilhas de supressão. As vistorias foram realizadas pelos Agentes de Controle de Endemias (ACE) do município de Piumhi. Durante a vistoria, a água da armadilha era substituída se necessário, os mosquitos capturados eram contabilizados e identificados quanto à espécie (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* ou *Culex sp.*) e sexo. No presente estudo, apenas *Ae. aegypti* fêmeas foram consideradas para as análises.

A secretaria municipal de saúde de Piumhi e o governo do Estado de Minas Gerais, realizaram aplicações de inseticidas (costal e UBV-pesado) para combater infestações de *Ae. aegypti* na cidade, inclusive nas áreas de estudo. As informações sobre qual semana e local de aplicação, serão graficamente expressadas.

Considerações Éticas

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CAAE 40895720.0.0000.5149). Para a realização da instalação das armadilhas e dispositivos nos imóveis, os habitantes foram devidamente informados dos objetivos e benefícios da pesquisa. A adesão ao projeto pelos moradores se deu de forma voluntária. Após o consentimento da instalação, um responsável, maior de 18 anos, pelo imóvel assinou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Análise de dados

Todas as análises foram feitas no software R com os pacotes *lme4*, *car* e *RT4Bio*. Gráficos foram desenvolvidos com o auxílio do software Prisma versão 8.0.

Para verificar se houve efeito da supressão ou do *push-pull* na quantidade de mosquitos capturados entre os tratamentos, as comparações foram realizadas utilizando o Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* (IMFA) das armadilhas de monitoramento nos tratamentos entre os períodos pré-intervenção e intervenção. O IMFA foi calculado a partir da média de fêmeas de *Ae. aegypti* capturadas em relação ao total de armadilhas vistoriadas semanalmente (Resende & Eiras, 2009).

O efeito da supressão e do *push-pull* será considerado efetivo quando o IMFA nas armadilhas de monitoramento for significativamente menor no período de intervenção e do que na área testemunho. A média de mosquitos coletados nas armadilhas de supressão também foi calculada. É esperado que a média de captura nas armadilhas de supressão seja maior no tratamento *push-pull* em comparação com o tratamento somente com armadilhas.

Modelos estatísticos lineares generalizados (GLM) seguindo uma binomial negativa com função logarítmica, foram usados para estimar se houve diferenças entre as capturas registradas para cada tratamento. Os tratamentos Testemunho, Somente Armadilhas e *Push-pull*, foram os fatores fixos analisados. Os modelos foram comparados por análises de variância (ANOVA) seguida de teste Qui-quadrado. Além disso, para verificar diferenças entre os tratamentos, testes de comparação pareadas foram realizadas utilizando teste de significância honesta de Tukey (Tukey HSD).

As variáveis climáticas pluviosidade, umidade relativa e temperatura foram fornecidas semanalmente pela estação meteorológica do município. Testes de correlação de Spearman

foram realizados para verificar o grau de interferência das variáveis climáticas no IMFA das áreas.

A taxa de cobertura dos imóveis com armadilhas foi calculada para as áreas de supressão a partir da quantidade de armadilhas instaladas por hectare (GAT/Ha), além da porcentagem de imóveis com armadilhas nas áreas de estudo.

A taxa de redução de *Ae. aegypti* foi verificada para cada tratamento através da seguinte fórmula:

$$\text{Redução (\%)} = \left(\frac{\text{Pré-intervenção} - \text{Intervenção}}{\text{Pré-intervenção}} \right) \times 100$$

Onde, Pré-intervenção representa a quantidade de mosquitos coletados no período pré-intervenção, enquanto Intervenção foi a quantidade de mosquitos coletada no período de intervenção para cada tratamento avaliado.

A efetividade da redução foi verificada através do Risco Relativo (RR) calculado de um modelo nulo seguindo a equação (Pré-intervenção – intervenção) /Pré-intervenção.

Quando o *p-valor* apresentou resultado menor que 0,05 ($p < 0,05$), o resultado das análises foi considerado significativo.

Resultados

A cobertura de imóveis com armadilhas nas áreas de intervenção foi baixa, no qual a média de cobertura na área somente com armadilhas (“*pull*”) foi de 50,4% e 13,5 GAT/Ha, enquanto na área de *push-pull* foi 49,7% de cobertura ou 11,9 GAT/Ha (Tabela 10).

Tabela 10: Tratamentos avaliados, quantidade de armadilhas, cobertura de imóveis com armadilhas *Gravid Aedes Trap* (GAT) e com inibidores de oviposição (IO), nos bairros da cidade de Piumhi – MG.

Tratamento	Bairros	Monitoramento (1 GAT/Quadra)	Supressão (1 GAT/imóvel)	Imóveis Habitados	Cobertura (%)	GAT/Hectare	Inibidores de Oviposição (IO)	IO/Hectare
Testemunho	Nova Piumhi	9	-	175	-	-	-	-
	Eliza Leonel	9	-	274	-	-	-	-
	Vila Agreny	9	-	165	-	-	-	-
Total		27	-	614	-	-	-	-
Somente Armadilhas ("pull")	Centro 12	9	127	238	53,4	15,2	-	
	Bela Vista	9	82	183	44,8	12,5	-	
	Lagoa de Trás	9	111	209	53,1	14,7	-	
Total		27	320	630	50,4	13,5	-	
Push-pull	Centro 10-11	9	156	321	48,6	12,3	95	7,0
	Nova Esperança	9	110	228	48,2	14,2	77	9,1
	Jardim Santo	9	86	164	52,4	11,9	48	6,4
	Antônio							
Total		27	352	713	49,7	11,9	220	7,4
TOTAL GERAL		81	672	1.957	50,0	13,5	220	7,4

Durante o período pré-intervenção (2021) foram capturadas o total de 4.614 fêmeas de *Ae. aegypti* nas armadilhas de monitoramento, no qual 1.611 ($10,3 \pm 0,65$) capturadas na área Testemunho, 2.079 ($13,3 \pm 1,10$) no tratamento somente com armadilhas e 924 ($5,9 \pm 0,42$) na área com o *push-pull*. Já durante o período de intervenção (2022) foram capturadas 718 ($4,6 \pm 0,36$) na área Testemunho, 775 ($4,9 \pm 0,34$) no tratamento somente com armadilhas e 619 ($3,9 \pm 0,29$) no *push-pull*, totalizando 2.112 fêmeas de *Ae. aegypti*. O total de 14.741 fêmeas de *Ae. aegypti* foram capturadas nas armadilhas de supressão, no qual 8.56. nas áreas com somente armadilhas e 6.179 nas áreas de *push-pull*. Portanto, o total de capturas dos períodos pré-intervenção e intervenção nas armadilhas de monitoramento e supressão foi de 21.467 fêmeas de *Ae. aegypti* capturados durante todo o estudo.

Em todos os tratamentos avaliados foram verificadas reduções na captura de mosquitos quando comparados os períodos pré-intervenção e intervenção (Tabela 11). Na área Testemunho, o IMFA no período de intervenção foi aproximadamente 55% menor que o verificado no período pré-intervenção (10,33 e 4,60, respectivamente), enquanto nas áreas somente com armadilhas e *push-pull*, o IMFA do período intervenção (4,97 e 3,97, respectivamente) foram aproximadamente 67% e 33% menores que os do período pré-intervenção (13,33 e 5,92), respectivamente. Portanto, houve uma redução geral de aproximadamente 54% na captura do período de intervenção. Quando o IMFA somente do período de intervenção foi avaliado, não houve diferença significativa nas capturas de todos os tratamentos (GL=2; DP=5,05; p=0,08) e também não houve diferença nos IMFAs quando os tratamentos somente com armadilhas e *push-pull* foram avaliados entre si ($z=0,22$; p=0,07).

Foi verificado que o tratamento somente com armadilhas apresentou o maior risco relativo (RR = 2,68 [2,17 – 3,31]), enquanto o *push-pull* apresentou o menor (RR = 1,49 [1,23 – 1,81]).

Tabela 11: Captura de fêmeas de *Aedes aegypti* - IMFA (IC 95%), risco relativo (RR) e taxa de redução (%) de mosquitos nas áreas de intervenção. Pré-intervenção: Semana Epidemiológica – SE 11 (março) de 2021 até a SE 10 (março) de 2022. Intervenção: SE 11 de 2022 até a SE 10 de 2023. *Testemunho*: área que recebeu apenas armadilhas de monitoramento (1 GAT/quadra); *somente com armadilhas*: área que recebeu armadilhas de monitoramento e de supressão massal de mosquitos (1 GAT/imóvel); *Push-pull* armadilhas de monitoramento e de armadilhas de supressão (374) e 220 inibidores de oviposição; A quantidade de mosquitos capturados nas armadilhas de supressão também é apresentada. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Intervenções	IMFA Pré-intervenção (IC 95%)	IMFA Intervenção (IC 95%)	RR (IC 95%)	Taxa de Redução (%)	p-valor	Mosquitos capturados nas armadilhas de supressão (Média ± EP)
Testemunho	10,33 (9,03 – 11,62)	4,60 (3,89 – 5,31)	2,24 (1,84 – 2,73)	55,4	$p < 0,01$	-
Armadilhas (“pull”)	13,33 (11,14 – 15,52)	4,97 (4,28 – 5,65)	2,68 (2,17 – 3,31)	62,7	$p < 0,01$	8.562 (713,5 ± 116,62)
<i>Push-pull</i>	5,92 (5,09 – 6,76)	3,97 (3,40 – 4,54)	1,49 (1,23 – 1,81)	33,01	$p < 0,01$	6.179 (514,9 ± 93,26)
TOTAL	9,86 (8,93 – 10,79)	4,51 (4,13 – 4,90)	-	54,2	$P < 0,01$	14.741 (614,2 ± 75,90)

Ao analisar o IMFA das armadilhas de monitoramento por SE, foi observada uma atenuação desse índice em 2022 (intervenção) em relação à 2021 (pré-intervenção) em todas as áreas do estudo (Figura 24). Na área Testemunho, foram observados picos de captura entre dezembro de 2021 e fevereiro de 2022, (SE-48 a SE-8), com média semanal de 1,15 ($\pm 0,15$) naquele período, mas quando o intervalo correspondente entre 2022 e 2023 foi avaliado, ocorreu uma redução significativa da captura semanal ($0,63 \pm 0,07$; $p < 0,01$), resultando na atenuação dos picos de captura naquele tratamento. Quando o mesmo período foi avaliado separadamente nos tratamentos somente com armadilhas e *push-pull*, também foi possível perceber a atenuação dos picos no período de intervenção, porém, em ambos, essa atenuação não foi significativa ($p > 0,05$). Em 2021 e 2022, as Secretarias Municipal e Estadual de Saúde realizaram aplicações de inseticidas, pelos métodos bomba costal e UBV-pesado (Praletrina – 0,75% e Imidaclopride – 3,00%), em todas as áreas de estudo em ambos os períodos, pré-intervenção e intervenção (Figura 27).

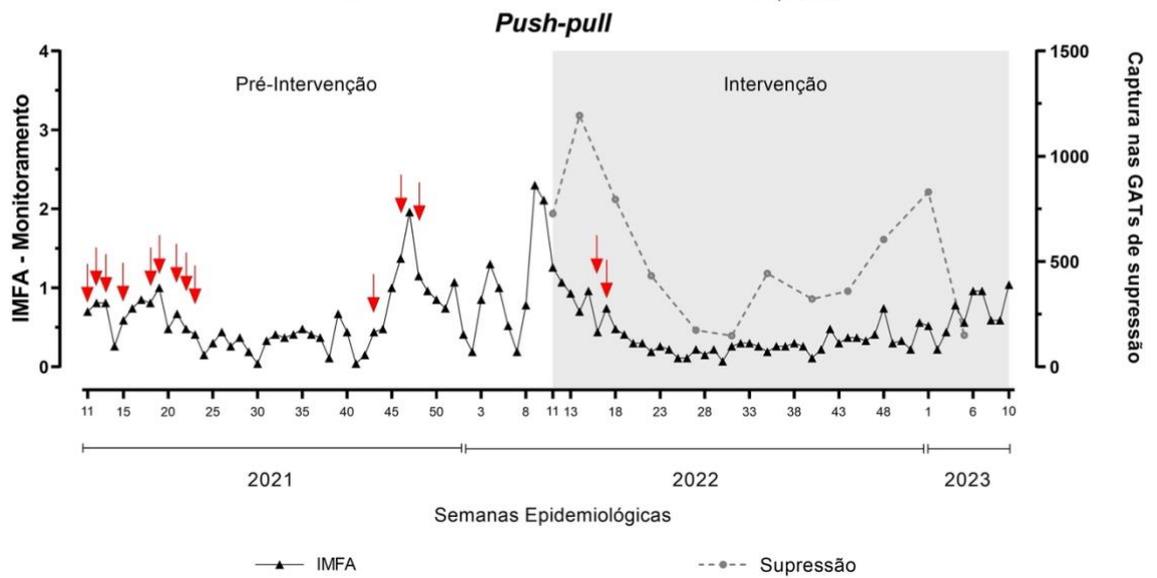
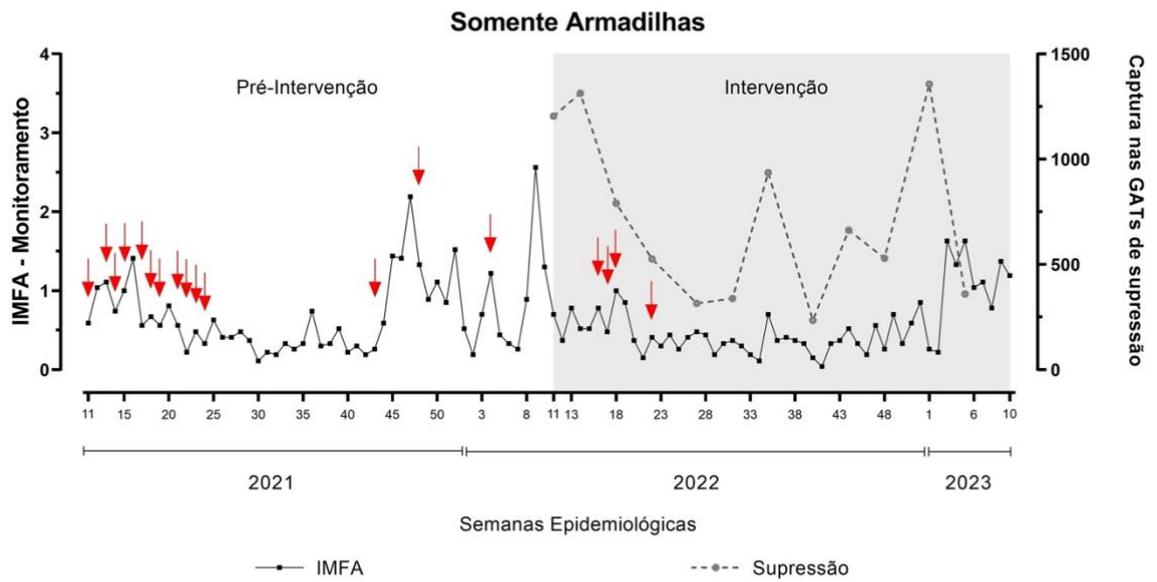
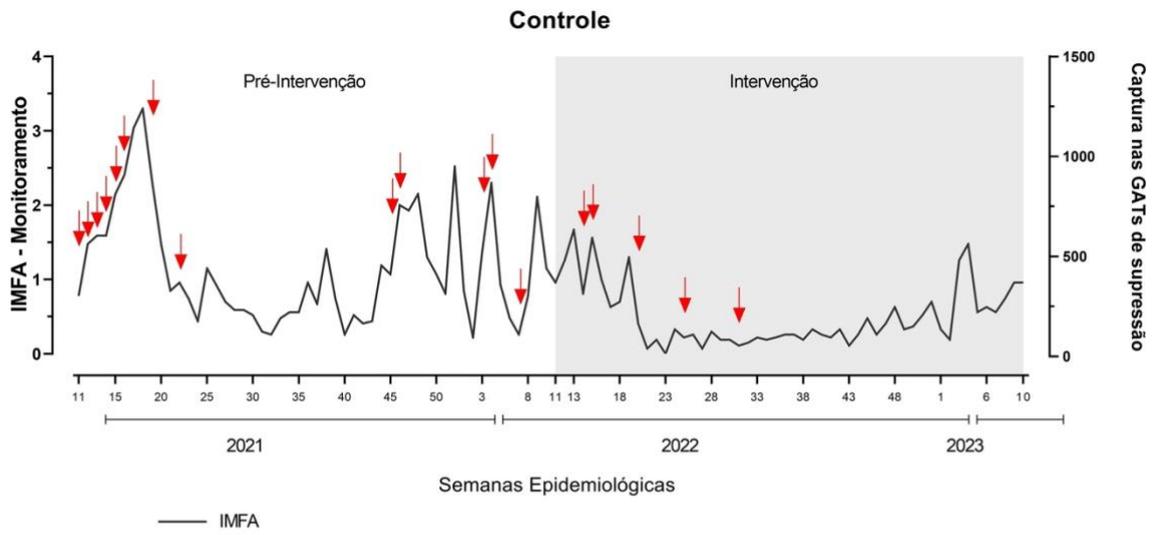


Figura 27: Índice médio de fêmeas de *Aedes aegypti* - IMFA semanal das armadilhas de monitoramento na cidade de Piumhi - MG. Testemunho: área que recebeu apenas armadilhas *Gravid Aedes Trap* – GAT de monitoramento (1 GAT/quadra); somente com armadilhas: área que recebeu armadilhas GAT de monitoramento (1 GAT/quadra) e GAT destinadas à supressão massal de mosquitos (1 GAT/imóvel); *Push-pull*, além das armadilhas de monitoramento (9) e das armadilhas de supressão (374) foram instalados 220 inibidores de oviposição em prováveis criadouros de mosquitos; Pré-intervenção: Semana Epidemiológica – SE 11 (março) de 2021 até a SE 10 (março) de 2022. Intervenção: SE 11 de 2022 até a SE 10 de 2023. As setas vermelhas indicam as SE que ocorreram aplicação de inseticidas nas áreas de estudo com os métodos bomba costal e/ou UBV-pesado. As Linhas tracejadas representam a captura mensal nas armadilhas de supressão. Linhas contínuas representam o IMFA semanal.

Devido a longa duração do presente estudo, foi possível observar as variações sazonais da população de mosquitos através do IMFA e das variáveis climáticas de precipitação, umidade relativa e temperatura em Piumhi. A precipitação média (\pm DP) na cidade durante todo o período de estudo foi de 55,3 mm (\pm 85,9). A umidade relativa foi em média 69,2% (\pm 17,4) enquanto a temperatura média foi de 21,6°C (\pm 4,9). Na área Testemunho, o IMFA semanal apresentou uma correlação significativamente positiva com a temperatura ($r=0,33$; $p<0,01$; Figura 28). As variáveis umidade relativa e precipitação, embora mais fracas, também se correlacionaram positivamente com o IMFA da área Testemunho ($r=0,10$ e $r=0,12$ respectivamente).

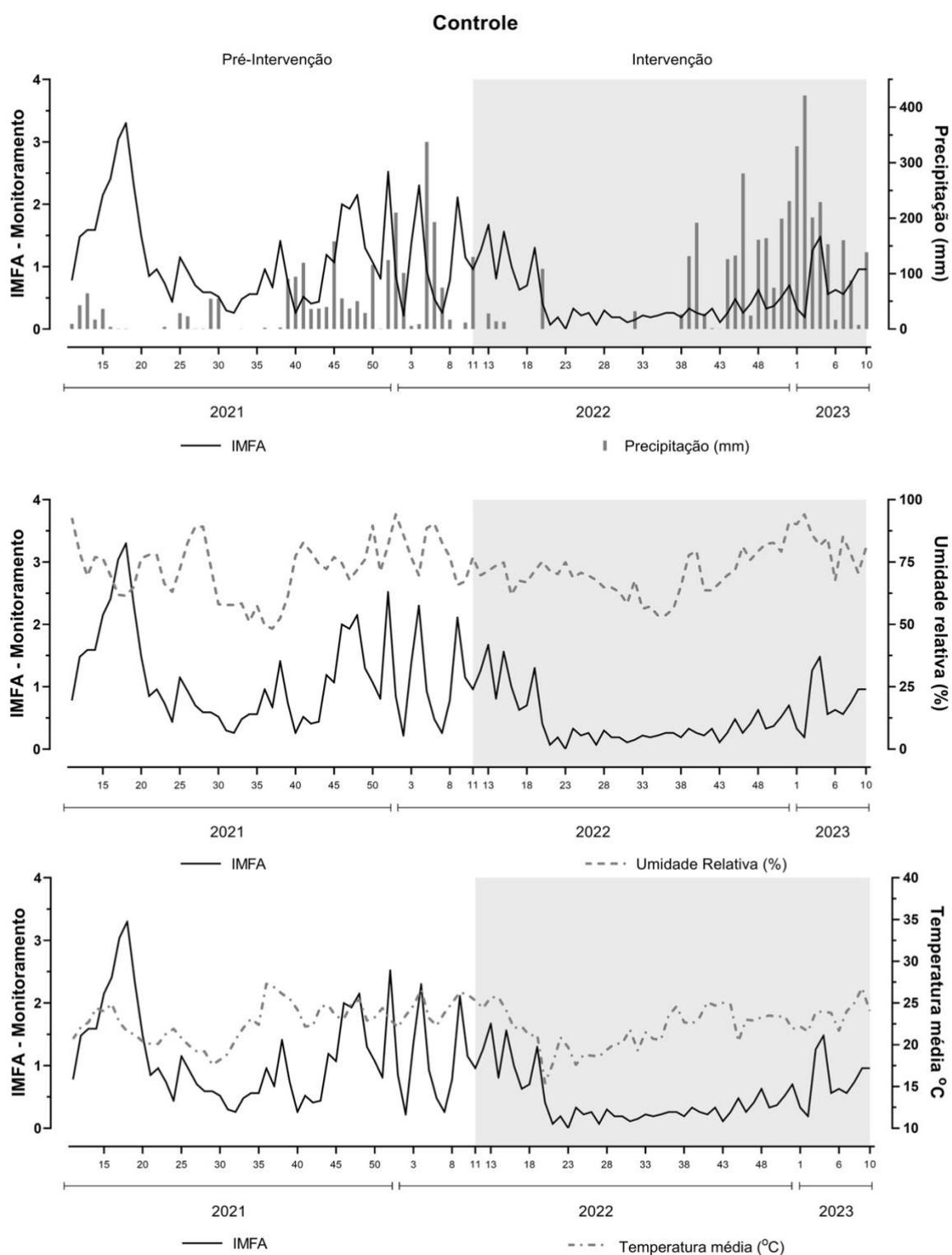


Figura 28: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área Testemunho durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal.

Os testes de correlação de Spearman também apontaram forte correlação positiva entre a temperatura e o IMFA da área tratada somente com armadilhas ($r=0,23$; $p=0,01$; Figura 29). A umidade relativa ($r=0,05$) e o índice de precipitação ($r=0,14$) embora também tenham apresentado correlações positivas com o IMFA, essas foram de menor intensidade.

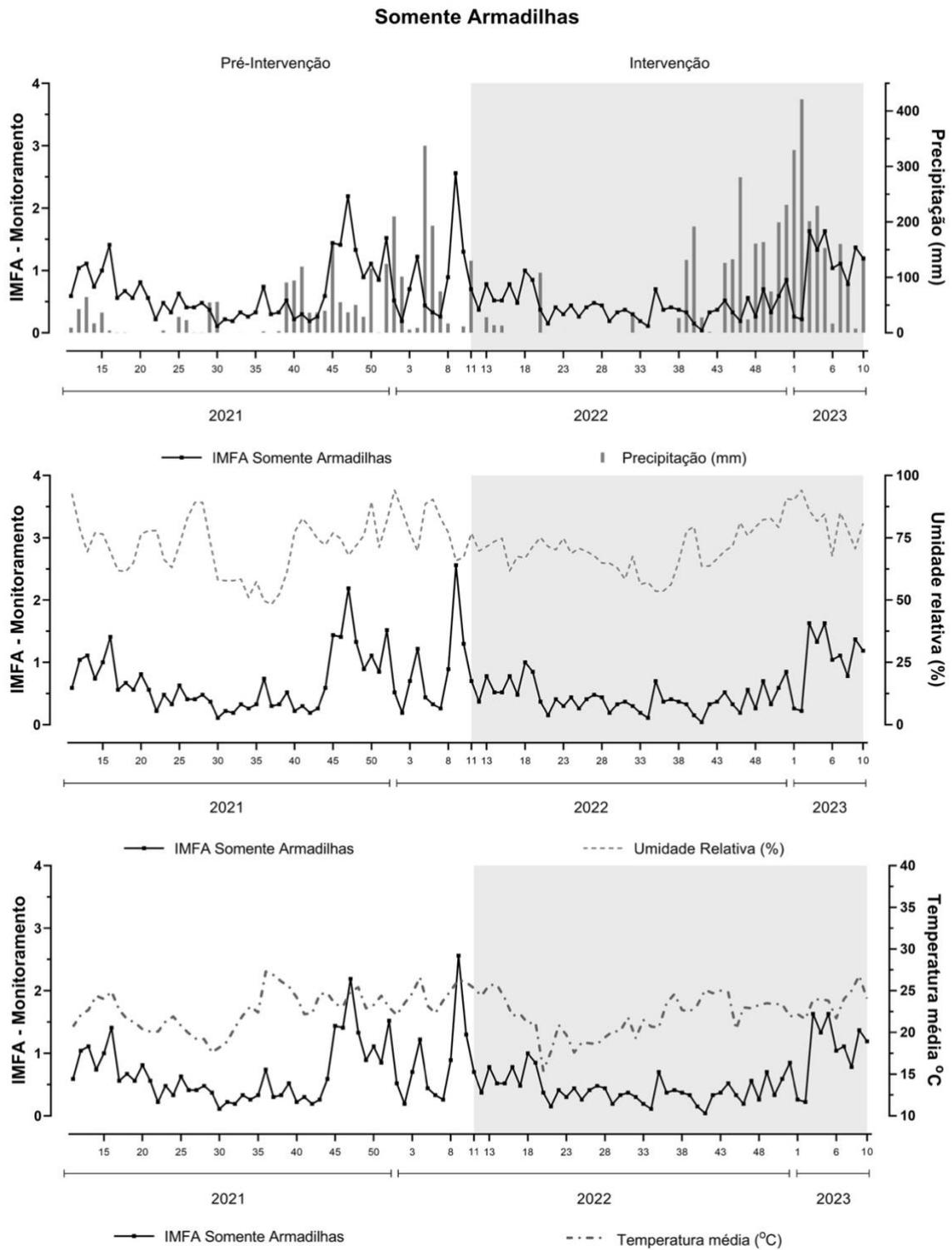


Figura 29: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área Somente com Armadilhas durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal.

Na área *push-pull*, novamente foram verificadas correlações significativamente positivas entre o IMFA da área e a temperatura ($r=0,34$; $p<0,01$; Figura 30). O IMFA também apresentou correlação positiva, porém de menor intensidade com a umidade relativa ($r=0,07$) e a precipitação ($r=0,12$) na área.

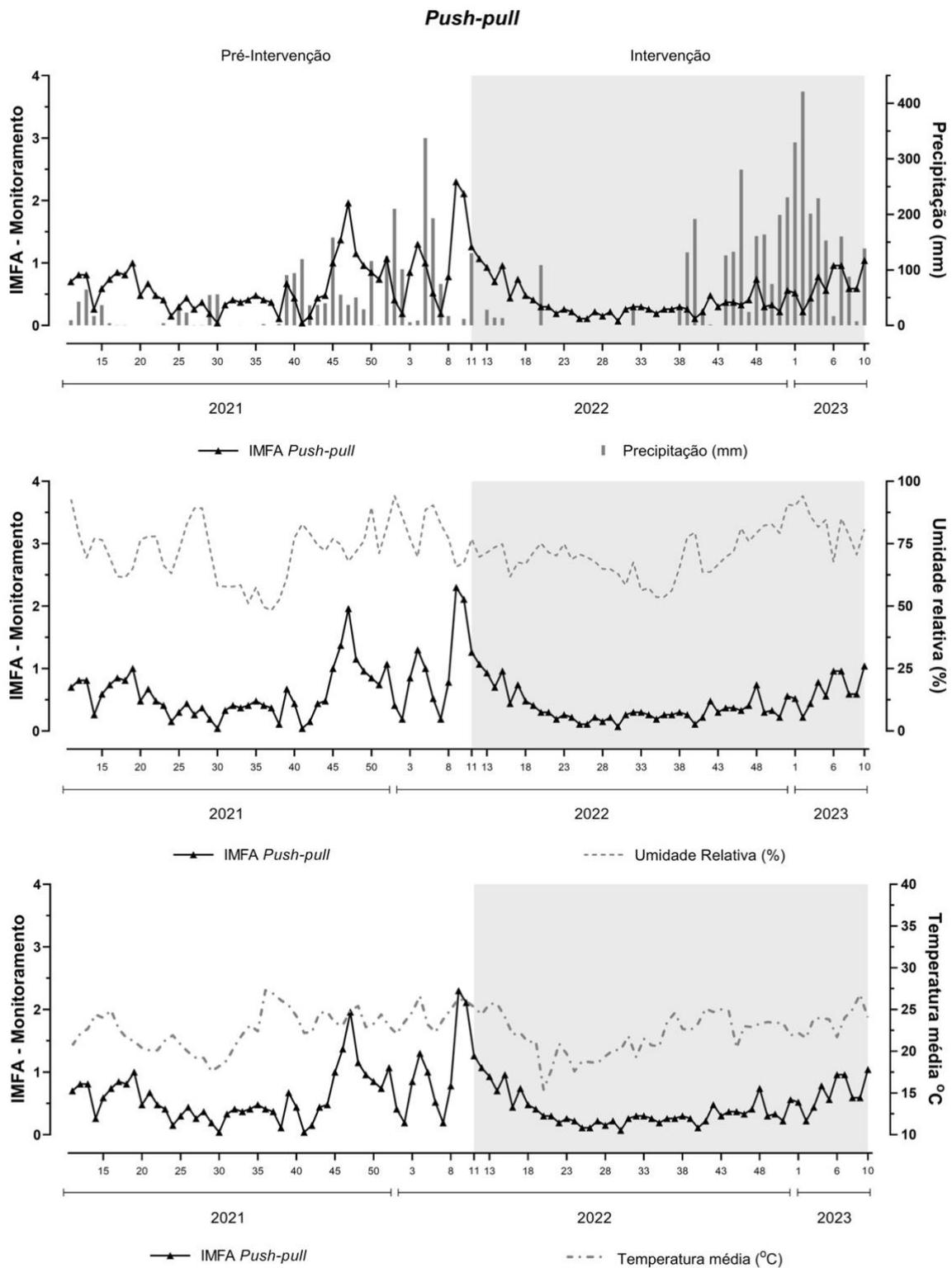


Figura 30: Índice Médio de Fêmeas de *Aedes* - IMFA e variáveis climáticas registrados na área *Push-pull* durante os períodos Pré-intervenção e Intervenção. A linha contínua representa a variação do IMFA semanal.

Quando apenas a supressão foi avaliada, não foram verificadas diferenças significativas na captura de mosquitos entre os dois tratamentos (GL= 23; $p=0,25$; Figura 31), porém o tratamento somente com armadilhas (713,5 [456,8 – 970,2]) capturou mais mosquitos do que o *push-pull* (514,9 [309,7 – 720,2]). A captura de mosquitos durante o período de estudo não foi influenciado pelas diferentes quantidades de armadilhas de supressão instaladas ($p=0,5$), taxas de cobertura ($p=0,7$) ou pela cobertura por hectare das armadilhas ($p=0,2$) nas áreas tratadas.

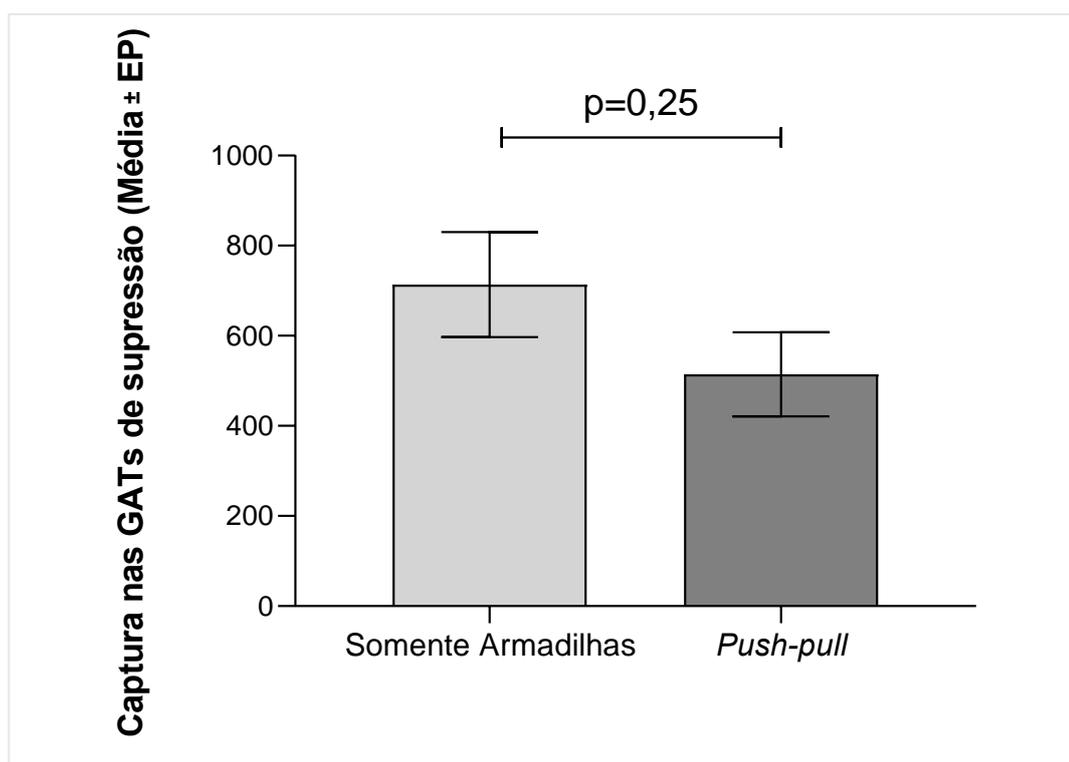


Figura 31: Fêmeas de *Aedes aegypti* capturadas nas armadilhas de supressão instaladas na cidade de Piumhi - MG. A diferença na média de captura foi considerada significativa quando $p<0,05$.

Discussão

Sistemas *push-pull* utilizam estímulos que buscam interferir no comportamento natural dos insetos para realizar o manejo de suas populações, repelindo-as de uma área de interesse (sítios de oviposição ou hospedeiros por exemplo), enquanto são atraídos e capturados em outro local, geralmente, em armadilhas (Cook *et al.* 2007). Apresentamos de forma pioneira na presente pesquisa, um sistema *push-pull* formado por inibidores de oviposição e armadilhas GAT para a supressão populacional de *Ae. aegypti* em um experimento de campo realizado em meio urbano.

No presente estudo, foi alcançada a cobertura de aproximadamente 13 armadilhas/ha nas áreas de intervenção, densidade que, segundo Jahir *et al.* (2022), é o suficiente para se alcançar a eliminação sustentável de mosquitos, visto que os autores recomendam a utilização de 10 a 15 armadilhas/hectare. Nesse estudo, realizado em campo em três ilhas no arquipélago das Maldivas, foi alcançado a redução em 93-98% das populações de *Ae. albopictus* e *Culex quinquefasciatus*, após 18 meses de intervenções com manejo de criadouros e com a utilização em massa de dois modelos de armadilhas de captura (sendo 1 armadilha ativa BG-MosquitaireCO₂ e 2 GATs que funcionam de forma passiva), atingindo uma cobertura de 18,8 armadilhas/ha (Jahir *et al.* 2022). Em relação à porcentagem de cobertura dos imóveis das áreas com armadilhas, em um estudo realizado em Manaus (AM), que utilizou armadilhas ativas BG-Sentinel após 17 meses de intervenção, a cobertura com armadilhas variou de 23,1 a 50,5% durante o experimento e reduziu 54% da população de *Ae. aegypti* nas áreas de captura massal (Degener *et al.* 2014), corroborando os resultados aqui apresentados cujas armadilhas foram instaladas em 50,4% dos imóveis nas áreas de intervenção. Contudo, outros estudos recomendam uma cobertura entre 60-80% dos imóveis com armadilhas para o efetivo controle populacional de vetores (Barrera *et al.* 2019; Barrera, 2022). Além disso, os estudos de Barrera *et al.* (2014) e Jonhson *et al.* (2018) recomendam uma cobertura acima de 80% para sustentar o controle de mosquitos por longos períodos com armadilhas passivas como a GAT. Indicando, portanto, que sejam necessários períodos de estudo mais prolongados e buscar aumentar ou no mínimo manter a cobertura atual das áreas com armadilhas para alcançar resultados mais significativos e sustentáveis na supressão de mosquitos em Piumhi.

Em nosso estudo, verificamos a redução de aproximadamente 54% da população de *Ae. aegypti*, em relação ao período pré-intervenção, com apenas uma armadilha por imóvel, diferentemente de outros estudos de supressão massal de mosquitos (Barrera *et al.* 2018; Jahir

et al. 2022). Adicionalmente, em estudo anterior realizado também em Piumhi, áreas tratadas apenas com 1 GAT/imóvel apresentaram maior média de captura que áreas tratadas com 2 GAT/imóvel (Mota, 2018), indicando, assim como em nosso estudo, a ocorrência da supressão massal de *Ae. aegypti* mesmo com 1 GAT/imóvel. Esse resultado reflete a alta efetividade da armadilha GAT em atrair e capturar fêmeas de *Ae. aegypti*, pois mesmo com uma cobertura de imóveis menor em comparação a outros estudos semelhantes (Barrera *et al.* 2018; 2019; Jahir *et al.* 2022), mais de 21.000 fêmeas de *Ae. aegypti* foram removidas da cidade de Piumhi no presente estudo.

Foi possível observar a flutuação natural da população de *Ae. aegypti* nas áreas de estudo através da variação no IMFA ao longo dos períodos de pré-intervenção e intervenção. Mesmo com uma tendência a apresentar maiores índices na estação chuvosa, não foram evidenciados valores altos do IMFA nas áreas. Esses resultados demonstram novamente o efeito da supressão massal de mosquitos com armadilhas, que manteve a população reduzida no período mais favorável ao seu crescimento. Esse padrão também foi observado em outros estudos de controle massal de mosquitos com armadilhas (Degener *et al.* 2014; Barrera *et al.* 2018). Inclusive, embora com apenas sete semanas de intervenção em estudo realizado também na cidade de Piumhi, foi verificada a redução do IMFA nos períodos de intervenção e pós-intervenção com armadilhas GAT nas áreas de supressão, mesmo com a ocorrência de fatores climáticos favoráveis ao crescimento populacional de mosquitos (Mota, 2018).

Em sistemas *push-pull*, os componentes “*push*” geralmente são constituídos por repelentes espaciais potentes que mantêm um espaço aéreo livre de mosquitos (Achee *et al.* 2019). Piretroides voláteis, como a transflutrina, são comumente utilizados nessa função devido à sua ação rápida e eficaz sobre os insetos, além de serem seguros em relação à saúde humana e de outros vertebrados (McPhatter *et al.* 2017; Bibbs *et al.* 2018). Nesse estudo, a transflutrina na concentração de 2% foi o ingrediente ativo utilizado como inibidor de oviposição para compor o sistema *push-pull*. Em um estudo realizado na Tanzânia, faixas confeccionadas com tecido de juta e impregnadas com concentrações de 1,5 e 2,5% de transflutrina, provocaram reduções significativas da densidade de mosquitos dos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Mansonia*, no entorno das residências onde foram instaladas (Swai *et al.* 2019). Além disso, em outros estudos que avaliaram o sistema *push-pull*, com a transflutrina sendo utilizada como componente “*push*”, foi demonstrado que a repelência dos mosquitos nas áreas de estudo foi majoritariamente devido ao elemento *push*, nos quais pouco ou nenhum efeito aditivo ocorreu quando o sistema completo (*push-pull*) foi avaliado (Mmbando *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020;

Njoroge *et al.* 2021). Portanto, tais estudos indicam que a transflutrina, mesmo em concentrações próximas a 2%, é capaz de diminuir a população de mosquitos da área onde é aplicada.

O componente “*push*” formado pelo inibidor de oviposição não foi avaliado como uma subunidade separadamente do sistema *push-pull* no presente estudo, somente a subunidade “*pull*”. Nossa hipótese era que nas áreas que receberam o sistema *push-pull* completo, as armadilhas capturariam mais fêmeas em relação às outras áreas, devido à ação inibidora de oviposição da transflutrina, pois ao serem impedidas de ovipor no local com o inibidor, as fêmeas, provavelmente, seriam atraídas pela armadilha GAT, sendo esperado maiores capturas nas armadilhas de supressão. Entretanto, os resultados demonstraram o contrário, com as armadilhas de supressão capturando mais mosquitos nas áreas de avaliação da subunidade “*pull*”. Portanto, embora tenha sido observada uma redução significativa da população de mosquitos na área com o sistema *push-pull* completo, os resultados obtidos demonstraram que não houve um efeito aditivo ou sinérgico. Provavelmente, a utilização da transflutrina no sistema *push-pull*, pode ter provocado de forma rápida a morte ou repelência das fêmeas (Bibbs *et al.* 2018b; Sukkanon *et al.* 2019; Tambwe *et al.* 2020; Ribeiro, 2021) que tiveram contato com o dispositivo inibidor antes mesmo que elas tentassem acessar outros criadouros ou mesmo a GAT, resultando na baixa captura das armadilhas de supressão na área que recebeu o sistema completo.

Em relação ao componente “*pull*”, armadilhas BG-Sentinel (Biogents, Alemanha) são utilizadas em vários estudos com sistemas *push-pull* para captura de *Ae. aegypti* (Salazar *et al.* 2012; Degener *et al.* 2014; Obermayr *et al.* 2015; Tambwee *et al.* 2020). No entanto, essas armadilhas geralmente apresentam maior custo e necessitam de uma bateria 12v ou do fornecimento de uma fonte de energia para o seu funcionamento, o que é claramente uma desvantagem e pode dificultar ou mesmo inviabilizar pesquisas de campo de maiores escalas e a longo prazo (Degener *et al.* 2014; Bazin & Williams, 2018). Portanto, armadilhas passivas, como a GAT, são mais desejáveis para esse tipo de estudo (Eiras *et al.* 2021; Hiscox & Takken, 2021). A GAT já demonstrou sua alta eficácia na captura de fêmeas de *Aedes* em estudos de campo (Ritchie *et al.* 2014; Johnson *et al.* 2017a; Harwood *et al.* 2018; Cilek *et al.* 2021; Jahir *et al.*, 2022), permitindo inclusive, a detecção de mosquitos infectados com arbovírus (Eiras *et al.* 2018). Outras armadilhas passivas também já demonstraram ser eficazes em capturar mosquitos durante estudos de controle populacional desses insetos (Zeichner *et al.* 2011; Lee *et al.* 2013; Barrera *et al.* 2014; 2019; Caputo *et al.* 2015). Porém, o presente estudo foi inédito

em utilizar a GAT associada a um inibidor de oviposição em um experimento de campo para controlar *Ae. aegypti*.

Os inibidores de oviposição utilizados tiveram baixo custo de produção, fácil manuseio e confecção, demonstrando ser uma ferramenta possível de se utilizar, principalmente em estudos de campo em larga escala onde se deseja controlar a formação de novos criadouros de mosquitos. Porém, uma limitação verificada foi a dificuldade em padronizar a quantidade de inibidores na área de estudo, visto que os mesmos foram instalados próximos à criadouros de difícil manejo. Portanto, a distribuição desigual de inibidores de oviposição entre os bairros onde o sistema *push-pull* foi implantado pode ter afetado negativamente os resultados. Além disso, apenas 220 inibidores de oviposição foram implantados na área de estudo, representando um número muito menor que o esperado (ao menos um inibidor nos 352 imóveis com GAT na área *push-pull*). A utilização de menos da metade dos dispositivos produzidos para esse estudo, se deu pela identificação de poucos locais com características de criadouros de *Ae. aegypti* nos imóveis da área de estudo. A identificação dos locais que podem formar criadouros, principalmente os criadouros crípticos como caixas d'água, calhas e ralos subterrâneos, é uma das principais dificuldades enfrentadas pelos ACE no combate ao *Ae. aegypti*, principalmente devido ao comportamento de oviposição em saltos do vetor, que ao espalhar seus ovos em diferentes criadouros torna a identificação de todos esses ambientes mais difícil (Abreu *et al.* 2015). Além disso, a urbanização crescente favorece a ocorrência de novos criadouros de *Aedes*, formados em recipientes incorretamente descartados ao ar livre, que geralmente são dificilmente visualizados e mais quentes em relação àqueles formados em ambiente rural, portanto, sendo preferidos pelas fêmeas de *Ae. aegypti* (Li *et al.* 2014).

Foram observadas reduções significativas da população de *Ae. aegypti* em todas as áreas de estudo inclusive na área Testemunho. A Secretaria Municipal de Saúde de Piumhi (SMSP) realizou ações de combate ao vetor em resposta ao crescente número de casos de dengue e de mosquitos detectados na cidade entre os anos de 2021 e 2022, período que correspondeu às etapas pré e intervenção do presente estudo. Os bairros de estudo também foram alvo de diversas intervenções realizadas pela SMSP para controle de mosquitos vetores. Segundo dados informados pela SMSP, foram realizadas aplicações de grandes quantidades de inseticidas de Ultra Baixo Volume (UBV), tanto com o método de bomba costal quanto com o método UBV-pesado, que é realizado com a utilização de veículo com equipamento de nebulização espacial acoplado, na maioria dos bairros onde o estudo foi realizado. A aplicação de UBV-pesado é recomendada e realizada pela Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais (SES-MG) em

municípios, áreas ou localidades durante o período epidêmico onde são diagnosticadas quantidades altas (com 300 a 500 casos prováveis por 100.000 habitantes) ou muito altas de casos de arboviroses (>500 casos prováveis por 100.000 habitantes) (SES-MG, 2022). O inseticida UBV utilizado em Piumhi (Cielo™, Clarke Mosquito Control Products, Inc. USA) é constituído de uma mistura de dois inseticidas das classes piretroide (Praletrina – 0,75%) e neonicotinóide (Imidaclopride – 3,00%). Além das aplicações de inseticidas, constantemente também são realizadas ações que integram o controle mecânico de vetores, como a eliminação de criadouros, mutirões de coleta de materiais incorretamente descartados e substituições de tampas de caixas d'água danificadas por tampas de zinco. Portanto, todas essas medidas químicas e mecânicas que integram o controle de vetores do município, provavelmente interferiram nos resultados do presente estudo, deixando a população de mosquitos nas áreas tratamento semelhante às áreas Testemunho, impossibilitando a visualização dos efeitos do *push-pull*. Resultados semelhantes na redução populacional de mosquitos através do uso de armadilhas de captura massal, aplicação de inseticidas UBV, redução de criadouros e outras medidas que integram o controle integrado de vetores, também são relatados em outros estudos, evidenciando a importância de diferentes abordagens e estratégias simultâneas no controle urbano de mosquitos vetores (Regis *et al.* 2013; Degener *et al.* 2014; Barrera *et al.* 2017; 2019; Johnson *et al.* 2017; 2019; Wilke *et al.* 2021; Jahir *et al.* 2022).

Ainda em relação ao programa de controle integrado de vetores, cabe ressaltar que a participação popular é crucial para se alcançar sucesso nas políticas de combate as doenças associadas à vetores em qualquer cidade (Johnson *et al.* 2017; Barrera *et al.* 2019). Embora o monitoramento de vetores com a armadilha GAT seja realizado na cidade de Piumhi desde 2016 (Mota, 2018), e amplas campanhas de divulgação tenham sido realizadas anteriormente à implantação do projeto de supressão massal com armadilhas na cidade, os proprietários de apenas 50% dos imóveis localizados nas áreas de intervenção, aderiram ao projeto e receberam as armadilhas.

Concluindo, embora não tenha sido possível atribuir a redução da população de mosquitos *Ae. aegypti* da cidade de Piumhi ao sistema *push-pull*, é notável que a adoção de armadilhas de captura massal de mosquitos como ferramentas integradas aos métodos tradicionais de controle de vetores (como ações de mitigação de criadouros e aplicação de inseticidas), promoveram a remoção significativa de mosquitos *Ae. aegypti* da cidade em apenas doze meses de intervenção.

Conclusões Finais

- A exposição por apenas um minuto ao piretroide transflutrina, causou morte, *knockdown*, inibição da oviposição e outros efeitos negativos sobre grávidas de *Ae. aegypti*;
- Liberadores de transflutrina confeccionados com tiras de juta foram eficazes em inibir a oviposição de mosquitos durante experimentos conduzidos em semicampo e campo;
- O protótipo de liberador passivo de transflutrina confeccionado com uma tira de juta de 450 cm² (45 x 10 cm), impregnada com transflutrina 2%, moldado de forma circular e posicionado o mais próximo possível do criadouro apresentou maiores taxas de inibição da oviposição e foi utilizado nos experimentos em campo;
- Foi alcançada a cobertura de 50% dos imóveis com armadilhas GAT;
- Foi verificada a redução de 54% da população de mosquitos na cidade de Piumhi;
- A combinação do inibidor de oviposição e armadilhas GAT formando um sistema *push-pull*, promoveu uma redução sutil da população de mosquitos na cidade de Piumhi, sendo que a maior taxa de redução foi verificada na área somente com armadilhas.

Referências Bibliográficas

- Abreu, F. V. S. D., Morais, M. M., Ribeiro, S. P., & Eiras, Á. E. (2015). Influence of breeding site availability on the oviposition behaviour of *Aedes aegypti*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(5), 669-676.
- Achee, N. L., Gould, F., Perkins, T. A., Reiner Jr, R. C., Morrison, A. C., Ritchie, S. A., & Scott, T. W. (2015). A critical assessment of vector control for dengue prevention. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(5), e0003655.
- Achee, N. L., Grieco, J. P., Vatandoost, H., Seixas, G., Pinto, J., Ching-Ng, L., & Vontas, J. (2019). Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(1), e0006822.
- Achee, N., Masuoka, P., Smith, P., Martin, N., Chareonviriyaphap, T., Polsomboon, S., & Grieco, J. (2012). Identifying the effective concentration for spatial repellency of the dengue vector *Aedes aegypti*. *Parasites & vectors*, 5(1), 1-9.
- Afify, A., & Galizia, C. G. (2015). Chemosensory cues for mosquito oviposition site selection. *Journal of medical entomology*, 52(2), 120-130.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 2023. Resolução – RE Nº 661 de 2 de março de 2023. Disponível em <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-re-n-661-de-2-de-marco-de-2023-467449608>. Acessado em 30 de março de 2023.
- Agnew, P., & Koella, J. C. (1999). Life history interactions with environmental conditions in a host–parasite relationship and the parasite's mode of transmission. *Evolutionary Ecology*, 13(1), 67-91.
- Agramonte, N. M., Bloomquist, J. R., & Bernier, U. R. (2017). Pyrethroid resistance alters the blood-feeding behavior in Puerto Rican *Aedes aegypti* mosquitoes exposed to treated fabric. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(9), e0005954.
- Akiner, M. M., & Eksi, E. (2015). Influence of five different larval control agents on oviposition of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of the European Mosquito Control Association*, 33, 5-9.
- Ali, A., Cantrell, C. L., Bernier, U. R., Duke, S. O., Schneider, J. C., Agramonte, N. M., & Khan, I. (2014). *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) biting deterrence: structure-activity relationship of saturated and unsaturated fatty acids. *Journal of medical entomology*, 49(6), 1370-1378.
- Amelia-Yap, Z. H., Chen, C. D., Sofian-Azirun, M., & Low, V. L. (2018). Pyrethroid resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in Southeast Asia: present situation and prospects for management. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-17.
- Andreazza, F., Valbon, W. R., Wang, Q., Liu, F., Xu, P., Bandason, E., & Dong, K. (2021). Sodium channel activation underlies transfluthrin repellency in *Aedes aegypti*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(7), e0009546.

Apostol BL, Black IV WC, Reiter P, Miller BR (1994). Use of randomly amplified polymorphic DNA amplified by polymerase chain reaction markers to estimate the number of *Aedes aegypti* families at oviposition sites in San Juan, Puerto Rico. *Am J Trop Med Hyg* 51: 89-97.

Azevedo, R. D. S. D. S., Martins, L. C., Rodrigues, S. G., Rosa, J. F. S. T. D., & Vasconcelos, P. F. D. C. (2007). *Arboviroses*, 43, p 533.

Barata, E. A., da Costa, A. I. P., Chiaravalloti Neto, F., Glasser, C. M., Barata, J. M. S., & Natal, D. (2001). População de *Aedes aegypti* (l.) em área endêmica de dengue, sudeste do Brasil. *Revista de saúde publica*, 35, 237-242.

Barbosa, P., Peters, T. M., & Greenough, N. C. (1972). Overcrowding of mosquito populations: responses of larval *Aedes aegypti* to stress. *Environmental Entomology*, 1(1), 89-93.

Barrera, R. (2022). New tools for *Aedes* control: mass trapping. *Current Opinion in Insect Science*, 100942.

Barrera, R., Amador, M., & Clark, G. G. (2006). Ecological factors influencing *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) productivity in artificial containers in Salinas, Puerto Rico. *Journal of medical entomology*, 43 (3), 484-492.

Barrera, R., Amador, M., Acevedo, V., Hemme, R. R., & Félix, G. (2014). Sustained, area-wide control of *Aedes aegypti* using CDC autocidal gravid ovitraps. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91(6), 1269.

Barrera, R., Harris, A., Hemme, R. R., Felix, G., Nazario, N., Muñoz-Jordan, J. L., & Waterman, S. H. (2019). Citywide control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during the 2016 Zika epidemic by integrating community awareness, education, source reduction, larvicides, and mass mosquito trapping. *Journal of medical entomology*, 56(4), 1033-1046.

Barrett, A. D., & Monath, T. P. (2003). Epidemiology and ecology of yellow fever virus. *Advances in virus research*, 61, 291-317.

Batista, E. P., Ngowo, H. S., Opiyo, M., Shubis, G. K., Meza, F. C., Okumu, F. O., & Eiras, A. E. (2017). Semi-field assessment of the BG-Malaria trap for monitoring the African malaria vector, *Anopheles arabiensis*. *PLoS One*, 12(10), e0186696.

Batista, E. P., Ngowo, H., Opiyo, M., Shubis, G. K., Meza, F. C., Siria, D. J., & Okumu, F. O. (2018). Field evaluation of the BG-Malaria trap for monitoring malaria vectors in rural Tanzanian villages. *PLoS One*, 13(10), e0205358.

Batista, T. R. (2022). Avaliação de sandálias impregnadas com repelente espacial e o seu efeito na biologia e proteção contra picadas do mosquito *Aedes Aegypti*. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Disponível em <http://www.parasitologia.icb.ufmg.br/diss.php>.

Bazin, M., & Williams, C. R. (2018). Mosquito traps for urban surveillance: collection efficacy and potential for use by citizen scientists. *Journal of Vector Ecology*, 43(1), 98-103.

Becker, N., Schön, S., Klein, A. M., Ferstl, I., Kizgin, A., Tannich, E. & Jöst, A. (2017). First mass development of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)—its surveillance and control in Germany. *Parasitology research*, 116(3), 847-858.

Benelli, G. (2016a). Spread of Zika virus: the key role of mosquito vector control. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(6), 468-471.

Benelli, G. (2016b). Plant-mediated synthesis of nanoparticles: a newer and safer tool against mosquito-borne diseases? *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), 353-354.

Benelli, G. (2016c). Plant-mediated biosynthesis of nanoparticles as an emerging tool against mosquitoes of medical and veterinary importance: a review. *Parasitology research*, 115(1), 23-34.

Benelli, G., Rajeswary, M., & Govindarajan, M. (2018). Towards green oviposition deterrents? Effectiveness of *Syzygium lanceolatum* (Myrtaceae) essential oil against six mosquito vectors and impact on four aquatic biological control agents. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10218-10227.

Bentley, M. D., & Day, J. F. (1989). Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annual review of entomology*, 34(1), 401-421.

Beserra, E. B., Ribeiro, P. S., & Oliveira, S. A. D. (2014). Flutuação populacional e comparação de métodos de coleta de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera, Culicidae). *Iheringia. Série Zoologia*, 104, 418-425.

Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496:504–507

Bibbs, C. S., Hahn, D. A., & Kaufman, P. E. (2018a). Sublethal effects of a vapour-active pyrethroid, transfluthrin, on *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) fecundity and oviposition behaviour. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-9.

Bibbs, C. S., Tsikolia, M., Bloomquist, J. R., Bernier, U. R., Xue, R. D., & Kaufman, P. E. (2018b). Vapor toxicity of five volatile pyrethroids against *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex quinquefasciatus*, and *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera: Culicidae). *Pest management science*, 74(12), 2699-2706.

Biogents, 2022. BG-GAT 2: Instruction Manual. Disponível em <https://eu.biogents.com/wp-content/uploads/bg-gat-2-manual-en-es-fr-it-de.pdf>. Acessado em 09/11/2022.

Biswal, S., Reynales, H., Saez-Llorens, X., Lopez, P., Borja-Tabora, C., Kosalaraksa, P., & Wallace, D. (2019). Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in healthy children and adolescents. *New England Journal of Medicine*, 381(21), 2009-2019.

Blanckenhorn, W.U., Dixon, A.F., Fairbairn, D.J., Foellmer, M.W., Gibert, P., Linde, K.V.D., Meier, R., Nylin, S., Pitnick, S., Schoff, C. and Signorelli, M., (2007). Proximate causes of Rensch's rule: does sexual size dimorphism in arthropods result from sex differences in development time? *The American Naturalist*, 169(2), pp.245-257.

Bohbot, J. D., Lu, T., & Zwiebel, L. J. (2010). Molecular regulation of olfaction in mosquitoes. *Olfaction in Vector-Host Interactions*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 17-38.

Bowman, L. R., Donegan, S., & McCall, P. J. (2016). Is dengue vector control deficient in effectiveness or evidence? Systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(3), e0004551.

Brady, O. J., Gething, P. W., Bhatt, S., Messina, J. P., Brownstein, J. S., Hoen, A. G. & Hay, S. I. (2012). Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Negl Trop Dis*, 6(8), e1760.

Braga IA, Gomes AC, Nelson M, Mello RCG, Bergamaschi DP, Souza JMP (2000). Comparação entre pesquisa larvária e armadilha de oviposição, para detecção de *Aedes aegypti*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000; 33:347-53.

Braga, I. A., & Valle, D. (2007). *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiol. Serv. Saúde*, v.16, n.4, p.279-293, out-dez, 2007.

Buhagiar, T. S., Devine, G. J., & Ritchie, S. A. (2017). Metofluthrin: investigations into the use of a volatile spatial pyrethroid in a global spread of dengue, chikungunya and Zika viruses. *Parasites & Vectors*, 10(1), 1-11.

Burt, A. (2014). Heritable strategies for controlling insect vectors of disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1645), 20130432.

Cáceres, M., Vassena, C. V., Garcerá, M. D., & Santo-Orihuela, P. L. (2019). Silica nanoparticles for insect pest control. *Current Pharmaceutical Design*, 25(37), 4030-4038.

Callahan, A. G., Ross, P. A., & Hoffmann, A. A. (2018). Small females prefer small males: size assortative mating in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Parasites & vectors*, 11, 1-7.

Caputo, B., Ienco, A., Manica, M., Petrarca, V., Rosà, R., & della Torre, A. (2015). New adhesive traps to monitor urban mosquitoes with a case study to assess the efficacy of insecticide control strategies in temperate areas. *Parasites & vectors*, 8, 1-12.

Carvalho, F. D., & Moreira, L. A. (2017). Why is *Aedes aegypti* Linnaeus so successful as a species? *Neotropical entomology*, 46(3), 243-255.

Chadee D.D. (2010). The diel oviposition periodicity of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies: effects of forced egg retention. *Bull Entomol Resea* 100: 599-603.

Chadee DD, Corbet P, Greenwood J (1990). Egg-laying Yellow Fever mosquitoes avoid sites containing eggs laid by themselves or by conspecifics. *Entomol Exp Appl* 57: 295-298.

Choi, D. B., Grieco, J. P., Apperson, C. S., Schal, C., Ponnusamy, L., Wesson, D. M., & Achee, N. L. (2016). Effect of spatial repellent exposure on dengue vector attraction to oviposition sites. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(7), e0004850.

Christophers, S. (1960). *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito: its life history, bionomics and structure.

Cilek, J. E., Knapp, J. A., & Richardson, A. G. (2017). Comparative Efficiency of Biogents Gravid Aedes Trap, Cdc Autocidal Gravid Ovitrap, and CDC Gravid Trap in Northeastern Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33(2), 103-107.

Clements, A. N. (1999). *The biology of mosquitoes. Sensory reception and behaviour*, vol. 2. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.

Coats, J. R. (1990). Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives*, 87, 255-262.

Cohnstaedt, L. W., & Allan, S. A. (2011). Effects of sublethal pyrethroid exposure on the host-seeking behavior of female mosquitoes. *Journal of Vector Ecology*, 36(2), 395-403.

Colton Y.M., Chadee D.D., Severson D.W. (2003). Natural skip oviposition of the mosquito *Aedes aegypti* indicated by codominant genetic markers. *Med Vet Entomol* 17: 195-204.

Consoli, RAGB & Oliveira, RL. (1994). Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 228 p. ISBN 85-85676-03-5. Disponível em SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

Cook, S. M., Khan, Z. R., & Pickett, J. A. (2007). The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 375-400.

Costa LH (2010). Avaliação de infoquímicos presentes em ovos e larvas de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) como atraentes e/ou estimulantes de oviposição para grávidas co-específicas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 128 pp.

Couret, J., Dotson, E., & Benedict, M. Q. (2014). Temperature, larval diet, and density effects on development rate and survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *PLoS one*, 9(2), e87468.

Darbro, J. M., Johnson, P. H., Thomas, M. B., Ritchie, S. A., Kay, B. H., & Ryan, P. A. (2012). Effects of *Beauveria bassiana* on survival, blood-feeding success, and fecundity of *Aedes aegypti* in laboratory and semi-field conditions. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 86(4), 656-664.

Day, J. F. (2016). Mosquito oviposition behavior and vector control. *Insects*, 7(4), 65.

de Curcio, J. S., Salem-Izacc, S. M., Neto, L. M. P., Nunes, E. B., Anunciação, C. E., & de Paula Silveira-Lacerda, E. (2022). Detection of Mayaro virus in *Aedes aegypti* mosquitoes circulating in Goiania-Goias-Brazil. *Microbes and Infection*, 24(4), 104948.

Degener, C. M., Ázara, T. M. F. D., Roque, R. A., Rösner, S., Rocha, E. S. O., Kroon, E. G., & Eiras, Á. E. (2015). Mass trapping with MosquiTRAPs does not reduce *Aedes aegypti* abundance. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110, 517-527.

Degener, C. M., Eiras, A. E., Azara, T. M. F., Roque, R. A., Rösner, S., Codeço, C. T., & Geier, M. (2014). Evaluation of the effectiveness of mass trapping with BG-sentinel traps for dengue vector control: a cluster randomized controlled trial in Manaus, Brazil. *Journal of medical entomology*, 51(2), 408-420.

Depoli, P. A. C., Zequi, J. A. C., Nascimento, K. L. C., & Lopes, J. (2016). Eficácia de Ovitampas com Diferentes Atrativos na Vigilância e Controle de *Aedes*. *EntomoBrasilis*, 9(1), 51-55.

Dethier, V. G., Browne, B. L., & Smith, C. N. (1960). The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *Journal of economic entomology*, 53(1), 134-136.

Dick, G. W., Kitchen, S. F., & Haddow, A. J. (1952). Zika virus (I). Isolations and serological specificity. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*, 46(5), 509-520.

Dilly, J., da Silva, O. S., Pilz-Júnior, H. L., De Lemos, A. B., da Silva, W. J., Milagres, T. D. F., & Cândido, L. H. A. (2023). Novel devices and biomaterials for testing effective oviposition deterrence in *Aedes aegypti*. *Industrial Crops and Products*, 193, 116206.

Ding, F., Fu, J., Jiang, D., Hao, M., & Lin, G. (2018). Mapping the spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Acta tropica*, 178, 155-162.

Eiras, A. E., & Jepson, P. C. (1994). Responses of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to host odours and convection currents using an olfactometer bioassay. *Bulletin of Entomological Research*, 84(2), 207-211.

Eiras, A. E., & Resende, M. C. (2009). Preliminary evaluation of the "Dengue-MI" technology for *Aedes aegypti* monitoring and control. *Cadernos de Saúde Pública*, 25, S45-S58.

Eiras, A. E., Buhagiar, T. S., & Ritchie, S. A. (2014). Development of the Gravid *Aedes* Trap for the capture of adult female container-exploiting mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 51(1), 200-209.

Eiras, A. E., Costa, L. H., Batista-Pereira, L. G., Paixão, K. S., & Batista, E. P. (2021). Semi-field assessment of the Gravid *Aedes* Trap (GAT) with the aim of controlling *Aedes* (*Stegomyia aegypti*) populations. *Plos one*, 16(4), e0250893.

Eiras, A. E., Geier, M., Rose, A & Jones, O. (2010). Practical application of olfactory cues for monitoring and control of *Aedes aegypti* in Brazil: a case study. *In: Olfactory in vector-host interactions: Ecology and control of vector-borne diseases (Vol. 2)*. Edited by: Takken, W & Knols, B.G.J. 449 p.

Eiras, A. E., Pires, S. F., Staunton, K., Paixão, K. S., Resende, M. C., Silva, H. A., Rocha, I. G., Oliveira, B. A., Peres, A. M., Drumond, B. P., Ritchie, S. (2018). A high-risk Zika and Dengue transmission hub: Virus detections in mosquitoes at a Brazilian university campus. *Parasites & Vectors*.

Estrada, J. L. T., Moscoso, K. E. P., Salas, I. F., Achee, N. L., & Grieco, J. P. (2019). Spatial repellency and other effects of transfluthrin and linalool on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 44(1), 89-93.

Fairbairn, D. J. (2005). Allometry for sexual size dimorphism: testing two hypotheses for Rensch's rule in the water strider *Aquarius remigis*. *The American Naturalist*, 166(S4), S69-S84.

Farnesi, L. C., Martins, A. J., Valle, D., & Rezende, G. L. (2009). Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 124-126.

Faull, K. J., & Williams, C. R. (2015). Intraspecific variation in desiccation survival time of *Aedes aegypti* (L.) mosquito eggs of Australian origin. *Journal of Vector Ecology*, 40(2), 292-300.

Fay R.W., Perry A.S. (1965). Laboratory studies of oviposition preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News* 25: 276-281.

Fay, R. W., & Prince, W. H. (1970). A modified visual trap for *Aedes aegypti*. *Mosq News*, 30(1), 20-23.

Feitosa, F. R. S., Sobral, I. S., Silva, M. S. F., & Jesus, E. N. (2016). Estratégias de prevenção e controle da dengue em Aracaju: Potencialidades e Fragilidades. *Caminhos de Geografia (Revista online)*, 17(60).

Ferguson, H. M., Ng'habi, K. R., Walder, T., Kadungula, D., Moore, S. J., Lyimo, I. & Knols, B. G. (2008). Establishment of a large semi-field system for experimental study of African malaria vector ecology and control in Tanzania. *Malaria Journal*, (1), 1-15.

Fisher, E. B.; van Wazer, R. J. R. (1961). Use of Organic in phosphorus compounds and its compounds, Interscience: New York, 1897, vol. 2.

Forattini, O. P. (1996). *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia* Vol. 2. Edusp.

Forattini, O. P. (2002). *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia: v. 2*. In *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia: v. 2* (pp. 860-860).

Forattini, O. P., & Brito, M. D. (2003). Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. *Revista de Saúde Pública*, 37, 676-677.

Gadelha, D. P., & Toda, A. T. (1985). Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. *Rev. bras. malariol. doenças trop*, 29-36.

Gajendiran, A., & Abraham, J. (2018). An overview of pyrethroid insecticides. *Frontiers in Biology*, 13(2), 79-90.

Gama, Renata A., Silva, Eric M., Silva, Ivoneide M., Resende, Marcelo C., & Eiras, Álvaro E. (2007). Evaluation of the sticky MosquiTRAP™ for detecting *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) during the dry season in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Entomology*, 36(2), 294-302.

Garcia, L. P. (2018). Epidemia do vírus Zika e microcefalia no Brasil: emergência, evolução e enfrentamento (No. 2368). Texto para Discussão.

Gharsan, F. N. (2019). A review of the bioactivity of plant products against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomological Science*, 54(3), 256-274.

Gomes, A. D. C. (2002). Vigilância entomológica. Informe epidemiológico do SUS, 11(2), 79-90.

Gordon, U., Ruther, J., Bernier, U. R., Rose, A., & Geier, M. (2018). Development and evaluation of push-pull control strategies against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). In *Advances in the Biorational Control of Medical and Veterinary Pests* (pp. 187-204). American Chemical Society.

Gould, E., Pettersson, J., Higgs, S., Charrel, R., & De Lamballerie, X. (2017). Emerging arboviruses: why today? *One health*, 4, 1-13.

Govella, N. J., Ogoma, S. B., Paliga, J., Chaki, P. P., & Killeen, G. (2015). Impregnating hessian strips with the volatile pyrethroid transfluthrin prevents outdoor exposure to vectors of malaria and lymphatic filariasis in urban Dar es Salaam, Tanzania. *Parasites & vectors*, 8(1), 1-9.

Hall, D. R., Tokarz, R. E., Field, E. N., & Smith, R. C. (2022). Surveillance and genetic data support the introduction and establishment of *Aedes albopictus* in Iowa, USA. *Scientific Reports*, 12(1), 2143.

Harburguer, L., Gonzalez, P. V., & Zerba, E. (2022). First Report of Adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Resistance to Pyrethroids in Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 59(1), 372-375.

Harwood, J. F., Rama, V., Hash, J. M., & Gordon, S. W. (2018). The attractiveness of the gravid *Aedes* trap to dengue vectors in Fiji. *Journal of medical entomology*, 55(2), 481-484.

Hebeish, A., Hamdy, I. A., El-Sawy, S. M., & Abdel-Mohdy, F. A. (2010). Preparation of durable insect repellent cotton fabric through treatment with a finishing formulation containing cypermethrin. *The Journal of The Textile Institute*, 101(7), 627-634.

Hellewell, J., Sherrard-Smith, E., Ogoma, S., & Churcher, T. S. (2021). Assessing the impact of low-technology emanators alongside long-lasting insecticidal nets to control malaria. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 376(1818), 20190817.

Heringer, L., Johnson, B. J., Fikrig, K., Oliveira, B. A., Silva, R. D., Townsend, M., & Ritchie, S. A. (2016). Evaluation of alternative killing agents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Gravid *Aedes* Trap (GAT). *Journal of Medical Entomology*, 53(4), 873-879.

Heuskin, S., Verheggen, F. J., Haubruge, E., Wathelet, J. P., & Lognay, G. (2011). The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *BASE*.

Hickey, W. A., & Craig Jr, G. B. (1966). Distortion of sex ratio in populations of *Aedes aegypti*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 8(2), 260-278.

Hill, S. R., & Ignell, R. (2021). Modulation of odour-guided behaviour in mosquitoes. *Cell and Tissue Research*, 383(1), 195-206.

Hiscox, A., & Takken, W. (2021). Mass mosquito trapping for malaria control: past successes and future directions. In *Ecology and Control of Vector-borne Diseases* (pp. 219-228). Wageningen Academic Publishers.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022). Cidades e Estados – Piumhi (MG). Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mg/piumhi/panorama>. Acessado em 06/11/2022.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022b). Brasil: informações ambientais – Piumhi (MG). Disponível em <https://www.ibge.gov.br/geociencias/cartas-e-mapas/informacoes-ambientais/15842-biomas.html?edicao=25799&t=downloads>. Acessado em 07/11/2022.

Jirakanjanakit, N., Leemingsawat, S., Thongrungrat, S., Apiwathnasorn, C., Singhaniyom, S., Bellec, C., & Dujardin, J. P. (2007). Influence of larval density or food variation on the geometry of the wing of *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*. *Tropical Medicine & International Health*, 12(11), 1354-1360.

Johnson, B. J., Brosch, D., Christiansen, A., Wells, E., Wells, M., Bhandoola, A. F. & Fonseca, D. M. (2018). Neighbors help neighbors control urban mosquitoes. *Scientific reports*, 8(1), 1-6.

Johnson, B. J., Hurst, T., Quoc, H. L., Unlu, I., Freebairn, C., Faraji, A., & Ritchie, S. A. (2017a). Field comparisons of the Gravid *Aedes* Trap (GAT) and BG-Sentinel trap for monitoring *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations and notes on indoor GAT collections in Vietnam. *Journal of medical entomology*, 54(2), 340-348.

Johnson, B. J., Ritchie, S. A., & Fonseca, D. M. (2017). The state of the art of lethal oviposition trap-based mass interventions for arboviral control. *Insects*, 8(1), 5.

Kawada, H., Maekawa, Y., & Takagi, M. (2005). Field trial on the spatial repellency of metofluthrin-impregnated plastic strips for mosquitoes in shelters without walls (beruga) in Lombok, Indonesia. *Journal of vector ecology*, 30(2), 181.

Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y., & Takagi, M. (2004). Laboratory and field evaluation of spatial repellency with metofluthrin-impregnated paper strip against mosquitoes in Lombok Island, Indonesia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(3), 292-298.

Kawada, H., Ohashi, K., Dida, G. O., Sonye, G., Njenga, S. M., Mwandawiro, C., & Minakawa, N. (2014). Insecticidal and repellent activities of pyrethroids to the three major pyrethroid-resistant malaria vectors in western Kenya. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-9.

Kearney, M., Porter, W. P., Williams, C., Ritchie, S., & Hoffmann, A. A. (2009). Integrating biophysical models and evolutionary theory to predict climatic impacts on species' ranges: the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Australia. *Functional Ecology*, 23(3), 528-538.

- Kendig, E. L., Le, H. H., & Belcher, S. M. (2010). Defining hormesis: evaluation of a complex concentration response phenomenon. *International journal of toxicology*, 29(3), 235-246.
- Kline, D. L., & Urban, J. (2018). Potential for Utilization of Spatial Repellents in Mosquito Control Interventions. In *Advances in the Biorational Control of Medical and Veterinary Pests* (pp. 237-248). American Chemical Society.
- Knols, B. G., Njiru, B. N., Mathenge, E. M., Mukabana, W. R., Beier, J. C., & Killeen, G. F. (2002). MalariaSphere: a greenhouse-enclosed simulation of a natural *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) ecosystem in western Kenya. *Malaria journal*, 1(1), 1-13.
- Knols, B. G., Njiru, B. N., Mukabana, R. W., Mathenge, E. M., & Killeen, G. F. (2004). Contained semi-field environments for ecological studies on transgenic African malaria vectors: benefits and constraints. *Frontis*, 91-106.
- Koepfen, W. (1948). *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra* (No. QC861 K6).
- Kraemer, M. U., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A. Q., Shearer, F. M., Barker, C. M. & Hendrickx, G. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *elife*, 4.
- Kröckel, U., Rose, A., Eiras, A. E., & Geier, M. (2006). New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(2), 229-238.
- Kroth, N., Cozzer, G. D., de Carvalho, G., Cassol, A. S., Breaux, J., Lutinski, J. A., & Albeny-Simões, D. (2019). Oviposition preferences of the mosquito *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Culicidae): an urban environment bioassay. *Bulletin of entomological research*, 109(6), 762-770.
- Lee, C., Vythilingam, I., Chong, C. S., Razak, M. A. A., Tan, C. H., Liew, C., ... & Ng, L. C. (2013). Gravitraps for management of dengue clusters in Singapore. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 88(5), 888.
- Li, Y., Kamara, F., Zhou, G., Puthiyakunnon, S., Li, C., Liu, Y., & Chen, X. G. (2014). Urbanization increases *Aedes albopictus* larval habitats and accelerates mosquito development and survivorship. *PLoS neglected tropical diseases*, 8 (11), e3301.
- Lima, E. P., Paiva, M. H. S., de Araújo, A. P., da Silva, É. V. G., da Silva, U. M., de Oliveira, L. N. & de Melo Santos, M. A. V. (2011). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites & vectors*, 4(1), 1-12.
- Logan, J., Chen-Hussey, V., O'Halloran, L., Greaves, C., Due, C., & Macdonald, M. (2020). An expert review of spatial repellents for mosquito control.
- Mackay, A. J., Amador, M., & Barrera, R. (2013). An improved autocidal gravid ovitrap for the control and surveillance of *Aedes aegypti*. *Parasites & vectors*, 6(1), 1-13.
- Macoris, M. D. L., Martins, A. J., Andrighetti, M. T. M., Lima, J. B. P., & Valle, D. (2018). Pyrethroid resistance persists after ten years without usage against *Aedes aegypti* in

governmental campaigns: Lessons from São Paulo State, Brazil. *PLoS neglected tropical diseases*, 12(3), e0006390.

Manimegalai, T., Raguvaran, K., Kalpana, M., & Maheswaran, R. (2020). Green synthesis of silver nanoparticle using *Leonotis nepetifolia* and their toxicity against vector mosquitoes of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* and agricultural pests of *Spodoptera litura* and *Helicoverpa armigera*. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 43103-43116.

Masalu, J. P., Finda, M., Killeen, G. F., Ngowo, H. S., Pinda, P. G., & Okumu, F. O. (2020). Creating mosquito-free outdoor spaces using transfluthrin-treated chairs and ribbons. *Malaria journal*, 19(1), 1-13.

Masalu, J. P., Finda, M., Okumu, F. O., Minja, E. G., Mmbando, A. S., Sikulu-Lord, M. T., & Ogoma, S. B. (2017). Efficacy and user acceptability of transfluthrin-treated sisal and hessian decorations for protecting against mosquito bites in outdoor bars. *Parasites & vectors*, 10 (1), 1-8.

Masalu, J. P., Okumu, F. O., Mmbando, A. S., Sikulu-Lord, M. T., & Ogoma, S. B. (2018). Potential benefits of combining transfluthrin-treated sisal products and long-lasting insecticidal nets for controlling indoor-biting malaria vectors. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-9.

McBride, C. S., Baier, F., Omondi, A. B., Spitzer, S. A., Lutomia, J., Sang, R., & Vosshall, L. B. (2014). Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. *Nature*, 515(7526), 222-227.

McPhatter, L. P., Mischler, P. D., Webb, M. Z., Chauhan, K., Lindroth, E. J., Richardson, A. G., & Debboun, M. (2017). Laboratory and Semi-field Evaluations of Two (Transfluthrin) Spatial Repellent Devices Against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *US Army Medical Department Journal*.

Medlock, J., Balenghien, T., Alten, B., Versteirt, V., & Schaffner, F. (2018). Field sampling methods for mosquitoes, sandflies, biting midges and ticks: VectorNet project 2014-2018. *EFSA Supporting Publications*, 15(6), 1435E.

Menger, D. J. (2015). Push-pull tactics to disrupt the host-seeking behaviour of malaria mosquitoes (Doctoral dissertation, Wageningen University and Research).

Menger, D. J., Omusula, P., Holdinga, M., Homan, T., Carreira, A. S., Vandendaele, P., & Takken, W. (2015). Field evaluation of a push-pull system to reduce malaria transmission. *PLoS One*, 10(4), e0123415.

Meyer, F. B. (1989). Calcium, neuronal hyperexcitability and ischemic injury. *Brain Research Reviews*, 14(3), 227-243.

Mihok, S., Carlson, D. A., & Ndegwa, P. N. (2007). Tsetse and other biting fly responses to Nzi traps baited with octenol, phenols and acetone. *Medical and veterinary entomology*, 21(1), 70-84.

Ministério da Saúde, 2008. Vigilância em Saúde: dengue, esquistossomose, hanseníase, malária, tracoma e tuberculose. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. (Cadernos de Atenção Básica, n. 21) (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

Ministério da Saúde, 2009. Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue (2009). Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. 160 p.– (Série A. Normas e Manuais Técnicos) Brasília: Ministério da Saúde, 2009. Disponível em https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/dengue/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf/view. Acessado em 02/11/2022.

Ministério da Saúde, 2023. Boletim Epidemiológico volume 54, nº-01: Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes* (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 52 de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2023/boletim-epidemiologico-volume-54-no-01/view>. Acessado em: 12/01/2023.

Mmbando, A. S., Batista, E. P., Kilalangongono, M., Finda, M. F., Mwangi, E. P., Kaindoa, E. W. & Okumu, F. O. (2019). Evaluation of a push–pull system consisting of transfluthrin-treated eave ribbons and odour-baited traps for control of indoor-and outdoor-biting malaria vectors. *Malaria journal*, 18(1), 87.

Mohammed, A., & Chadee, D. D. (2011). Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Acta tropica*, 119(1), 38-43.

Monath, T. P. (2020). *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology* (Vol. 1). CRC Press.

Monath, T. P., & Vasconcelos, P. F. (2015). Yellow fever. *Journal of clinical virology*, 64, 160-173.

Morato, V. C., Teixeira, M. D. G., Gomes, A. C., Bergamaschi, D. P., & Barreto, M. L. (2005). Infestation of *Aedes aegypti* estimated by oviposition traps in Brazil. *Revista de saúde pública*, 39(4), 553-558.

Morrison, A. C., Reiner Jr, R. C., Elson, W. H., Astete, H., Guevara, C., Del Aguila, C., & Achee, N. L. (2022). Efficacy of a spatial repellent for control of *Aedes*-borne virus transmission: A cluster-randomized trial in Iquitos, Peru. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(26), e2118283119.

Mosquera, K. D., Khan, Z., Wondwosen, B., Alsanius, B., Hill, S. R., Ignell, R., & Lorenzo, M. G. (2023). Odor-mediated response of gravid *Aedes aegypti* to mosquito-associated symbiotic bacteria. *Acta Tropica*, 237, 106730.

Mota, L. H. V. (2018). Avaliação da supressão de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) com a armadilha *Gravid Aedes Trap* em condições de campo no município de Piumhi, Minas Gerais. Dissertação de mestrado. Disponível em <http://www.parasitologia.icb.ufmg.br/defesas/590M.PDF>. Acesso, 20/08/2021.

Mukabana, W. R., Mweresa, C. K., Omusula, P., Orindi, B. O., Smallegange, R. C., van Loon, J. J., & Takken, W. (2012). Evaluation of low-density polyethylene and *nylon* for delivery of synthetic mosquito attractants. *Parasites & vectors*, 5(1), 202.

Mulatier, M., Boullis, A., & Vega-Rúa, A. (2022). Semiochemical oviposition cues to control *Aedes aegypti* gravid females: state of the art and proposed framework for their validation. *Parasites & Vectors*, 15(1), 228.

Mulla, M. S., Thavara, U., Tawatsin, A., Kong-Ngamsuk, W., & Chomposri, J. (2001). Mosquito burden and impact on the poor: measures and costs for personal protection in some communities in Thailand. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 17(3), 153-159.

Mweresa, C. K., Mukabana, W. R., Omusula, P., Otieno, B., Gheysens, T., Takken, W., & Van Loon, J. J. (2014). Evaluation of textile substrates for dispensing synthetic attractants for malaria mosquitoes. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-10.

Nalyanya, G., Moore, C. B., & Schal, C. (2000). Integration of repellents, attractants, and insecticides in a "push-pull" strategy for managing German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) populations. *Journal of medical entomology*, 37(3), 427-434.

Narahashi, T. (1996). Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacology & toxicology*, 9(1), 1-14.

Narahashi, T., Zhao, X., Ikeda, T., Nagata, K., & Yeh, J. Z. (2007). Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. *Human & experimental toxicology*, 26(4), 361-366.

Nasci, R. S. (1990). Relationship of wing length to adult dry weight in several mosquito species (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 27(4), 716-719.

Natal, D. (2002). Bioecologia do *Aedes aegypti*. *Biológico*, 64(2), 205-207.

Navarro-Silva, M. A., Marques, F. A., & Duque L, J. E. (2009). Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53, 1-6.

Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti: Biology and ecology*. Pan American Health Organization. Washington, DC.

Nelson, M. J. (1994). The role of sampling in vector control. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 50(6_Suppl), 145-150.

Njoroge, M. M., Fillinger, U., Saddler, A., Moore, S., Takken, W., van Loon, J. J., & Hiscox, A. (2021). Evaluating putative repellent 'push' and attractive 'pull' components for manipulating the odour orientation of host-seeking malaria vectors in the peri-domestic space. *Parasites & Vectors*, 14, 1-21.

Norris, E. J., & Coats, J. R. (2017). Current and future repellent technologies: the potential of spatial repellents and their place in mosquito-borne disease control. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(2), 124.

Nunes, M. R. T., Faria, N. R., de Vasconcelos, J. M., Golding, N., Kraemer, M. U., de Oliveira, L. F., ... & da Costa Vasconcelos, P. F. (2015). Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC medicine*, 13(1), 1-11.

O'gower, A. K. (1963). Environmental stimuli and the oviposition behaviour of *Aedes aegypti* var. *queenlandis* Theobald (Diptera, Culicidae). *Animal Behaviour*, 11(1), 189-197.

Obermayr, U. (2016). Development and Evaluation of Push-Pull Strategies in Mosquito Control (Doctoral dissertation).

Obermayr, U., Ruther, J., Bernier, U. R., Rose, A., & Geier, M. (2015). Evaluation of a push-pull approach for *Aedes aegypti* (L.) using a novel dispensing system for spatial repellents in the laboratory and in a semi-field environment. *PLoS One*, 10(6), e0129878.

Ogoma, S. B., Lorenz, L. M., Ngonyani, H., Sangusangu, R., Kitumbukile, M., Kilalangongono, M. & Moore, J. (2014). An experimental hut study to quantify the effect of DDT and airborne pyrethroids on entomological parameters of malaria transmission. *Malaria journal*, 13(1), 131.

Ogoma, S. B., Mmando, A. S., Swai, J. K., Horstmann, S., Malone, D., & Killeen, G. F. (2017). A low technology emanator treated with the volatile pyrethroid transfluthrin confers long term protection against outdoor biting vectors of lymphatic filariasis, arboviruses and malaria. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(4), e0005455.

Ogoma, S. B., Ngonyani, H., Simfukwe, E. T., Mseka, A., Moore, J., & Killeen, G. F. (2012). Spatial repellency of transfluthrin-treated hessian strips against laboratory-reared *Anopheles arabiensis* mosquitoes in a semi-field tunnel cage. *Parasites & vectors*, 5(1), 1-5.

Okumu, F., Biswaro, L., Mbeleyela, E., Killeen, G. F., Mukabana, R., & Moore, S. J. (2014). Using nylon strips to dispense mosquito attractants for sampling the malaria vector *Anopheles gambiae* ss. *Journal of medical entomology*, 47(2), 274-282.

Ortega-Morales, A. I., Moreno-García, M., González-Acosta, C., & Correa-Morales, F. (2018). Mosquito surveillance in Mexico: the use of ovitraps for *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, and non-target species. *Florida Entomologist*, 101(4), 623-626.

Page, A. B. P., Stringer, A., & Blackith, R. E. (1949). Bioassay systems for the Pyrethrins I. water-base sprays against *Aedes aegypti* L and other flying insects. *Annals of Applied Biology*, 36(2), 225-243.

PAHO, 2019. Pan American Health Organization. Handbook for Integrated Vector Management in the Americas. Washington, D.C.: PAHO; (2019). Disponível em <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51759>. Acessado em 26/05/2021.

PAHO, 2022. Pan-American Health Organization (2022). Zika. Disponível em <https://www.paho.org/pt/topicos/zika>. Acessado em 12/01/2023.

PAHO, 2022b. Pan-American Health Organization. (2022b). Febre Amarela. Disponível em <https://www.paho.org/pt/topicos/febre-amarela>. Acessado em 12/01/2023.

Paiz-Moscoso, K. E., Fernández-Salas, I., Grieco, J. P., Achee, N. L., & Torres-Estrada, J. L. (2020). Response of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) to transfluthrin and linalool impregnated in different of fabric types. *Salud Pública de México*, 62(4), 417-423.

Peres AM, Eiras AE, Batista EPA. (2019). Membrana polimérica, processo de fabricação, dispositivo e uso para liberação controlada de atraentes ou repelentes para insetos. 2019. Patente: Patente de Invenção. Número do registro: BR1020190110783, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 29/05/2019.

Peterson, C., & Coats, J. (2001). Insect repellents-past, present and future. *Pesticide Outlook*, 12(4), 154-158.

Pinheiro, Valéria Cristina Soares, & Tadei, Wanderli Pedro. (2002). Frequency, diversity, and productivity study on the *Aedes aegypti* most preferred containers in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 44(5), 245-250.

Pinto, S. B., Riback, T. I., Sylvestre, G., Costa, G., Peixoto, J., Dias, F. B., & Moreira, L. A. (2021). Effectiveness of Wolbachia-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(7), e0009556.

Ponnusamy L, Xu N, Nojima S, Wesson DM, Schal C, Apperson CS (2008). Identification of bacteria and bacteria-associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 9262-9267.

Poopathi, S., & Rao, D. R. (1995). Pyrethroid-impregnated hessian curtains for protection against mosquitoes indoors in South India. *Medical and veterinary entomology*, 9(2), 169-175.

Posey, K. H., & CE, Schreck. (1981). An airflow apparatus for selecting female mosquitoes for use in repellent and attraction studies.

Powell, Jeffrey R, & Tabachnick, Walter J. (2013). History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108 (Suppl. 1), 11-17.

Pugedo, H., Barata, R. A., França-Silva, J. C., Silva, J. C., & Dias, E. S. (2005). HP: um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38(1), 70-72.

Pyke, B., Rice, M., Sabine, G., & Zalucki, M. (1987). The push-pull strategy-behavioral control of *Heliothis*. *Aust. Cotton Grow.*

R Core Team (2020). R: a language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing.

Rahman, R. U., Cosme, L. V., Costa, M. M., Carrara, L., Lima, J. B. P., & Martins, A. J. (2021). Insecticide resistance and genetic structure of *Aedes aegypti* populations from Rio de Janeiro State, Brazil. *PLoS neglected tropical diseases*, 15(2), e0008492.

Rajaganesh, R., Murugan, K., Panneerselvam, C., Jayashanthini, S., Roni, M., Suresh, U. & Benelli, G. (2016). Fern-synthesized silver nanocrystals: towards a new class of mosquito oviposition deterrents? *Research in veterinary science*, 109, 40-51.

Ranson, H., N'guessan, R., Lines, J., Moiroux, N., Nkuni, Z., & Corbel, V. (2011). Pyrethroid resistance in African anopheline mosquitoes: what are the implications for malaria control? *Trends in parasitology*, 27(2), 91-98.

Rao, K. M., Prakash, S., Kumar, S., Suryanarayana, M. V. S., Bhagwat, M. M., Gharia, M. M., & Bhavsar, R. B. (1991). N, N-diethylphenylacetainide in treated fabrics as a repellent against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 28(1), 142-146.

Rapley, L. P., Johnson, P. H., Williams, C. R., Silcock, R. M., Larkman, M., Long, S. A., & Ritchie, S. A. (2009). A lethal ovitrap-based mass trapping scheme for dengue control in Australia: II. Impact on populations of the mosquito *Aedes aegypti*. *Medical and veterinary entomology*, 23(4), 303-316.

Regis, L. N., Acioli, R. V., Silveira Jr, J. C., Melo-Santos, M. A. V., Souza, W. V., Ribeiro, C. M. N., & Furtado, A. F. (2013). Sustained reduction of the dengue vector population resulting from an integrated control strategy applied in two Brazilian cities. *PLoS One*, 8(7), e67682.

Reiter P., Amador M.A., Anderson R.A., Clark G.G. (1995). Dispersal of *Aedes aegypti* in the urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *Am J Trop Med Hyg* 52: 177-179.

Reiter, P. (2007). Oviposition, dispersal, and survival in *Aedes aegypti*: implications for the efficacy of control strategies. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(2), 261-273.

Reiter, P., & Colon, M. A. A. A. N. (1991). Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc*, 7(1), 52-55.

Resende, M. C. D., Silva, I. M., Ellis, B. R., & Eiras, Á. E. (2013). A comparison of larval, ovitrap and MosquiTRAP surveillance for *Aedes (Stegomyia) aegypti*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(8), 1024-1030.

Ritchie, S. A., Buhagiar, T. S., Townsend, M., Hoffmann, A., Van Den Hurk, A. F., McMahon, J. L., & Eiras, A. E. (2014). Field validation of the gravid *Aedes* trap (GAT) for collection of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 51(1), 210-219.

Ritchie, S. A., Johnson, P. H., Freeman, A. J., Odell, R. G., & Graham, N. (2011). A Secure Semi-Field System for the Study of *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop*.

Ritchie, S. A., Long, S., Hart, A., Webb, C. E., & Russell, R. C. (2003). An adulticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(3), 235-242.

Ritchie, S. A., Rapley, L. P., Williams, C., Johnson, P. H., Larkman, M., Silcock, R. M., & Russell, R. C. (2009). A lethal ovitrap-based mass trapping scheme for dengue control in Australia: I. Public acceptability and performance of lethal ovitraps. *Medical and veterinary entomology*, 23(4), 295-302.

Robert, L. L., & Olson, J. K. (1989). Effects of sublethal dosages of insecticides on *Culex quinquefasciatus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5(2), 239-246.

Robinson, M. C. (1955). An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*, 49(1), 28-32.

Roongaraya, P., & Boonyasuppayakorn, S. (2023). Chikungunya vaccines: An update in 2023. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 41(1), 1-11.

Roque, R. A., & Eiras, Á. E. (2008). Calibration and evaluation of field cage for oviposition study with *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* female (L.) (Diptera: Culicidae). *Neotropical entomology*, 37(4), 478-485.

Sakamoto, H., & Goka, K. (2021). Acute toxicity of typical ant control agents to the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Applied Entomology and Zoology*, 56(2), 217-224.

Salazar, F. V., Achee, N. L., Grieco, J. P., Prabaripai, A., Ojo, T. A., Eisen, L. & Chareonviriyaphap, T. (2012). Effect of *Aedes aegypti* exposure to spatial repellent chemicals on BG-Sentinel™ trap catches. *Parasites & vectors*, 6(1), 145.

Sangoro, O. P., Gavana, T., Finda, M., Mponzi, W., Hape, E., Limwagu, A. & Okumu, F. O. (2020). Evaluation of personal protection afforded by repellent-treated sandals against mosquito bites in south-eastern Tanzania. *Malaria journal*, 19, 1-12.

Sant'Ana AL, Roque RA, Eiras AE (2006). Characteristics of grass infusion as oviposition attractants to *Aedes* (*Stegomyia*) (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 43: 214-220.

Santos, S. R. A., Melo-Santos, M. A. V., Regis, L., & Albuquerque, C. M. R. (2003). Field Evaluation of ovitraps consociated with grass infusion and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to determine oviposition rates of *Aedes aegypti*.

Sarwar, M. (2015). The killer chemicals as controller of agriculture insect pests: The conventional insecticides. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 1(3), 141-147.

Seixas, G., Grigoraki, L., Weetman, D., Vicente, J. L., Silva, A. C., Pinto, J., ... & Sousa, C. A. (2017). Insecticide resistance is mediated by multiple mechanisms in recently introduced *Aedes aegypti* from Madeira Island (Portugal). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(7), e0005799.

SES-MG, 2022. Secretaria de Estado de Saúde, 2022. Aedes 2022 | Atividades Desenvolvidas. Disponível em <https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/page/1825-aedes-2021-atividades-desenvolvidas>. Acesso em 13/02/2023.

Shaalan, E. A. S., & Canyon, D. V. (2018). Mosquito oviposition deterrents. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(11), 10207-10217.

Shannon, R. C. (1939). Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. *American Journal of Tropical Medicine*, 19(2).

Shinde, B. H., Inamdar, S. N., Nalawade, S. A., & Chaudhari, S. B. (2023). A systematic review on antifungal and insecticidal applications of biosynthesized metal nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*, 73, 412-417.

Silva, N. M. D., Teixeira, R. A. G., Cardoso, C. G., Siqueira Junior, J. B., Coelho, G. E., & Oliveira, E. S. F. D. (2018). Vigilância de chikungunya no Brasil: desafios no contexto da Saúde Pública. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 27, e2017127.

Siria, D. J., Batista, E. P., Opiyo, M. A., Melo, E. F., Sumaye, R. D., Ngowo, H. S. & Okumu, F. O. (2018). Evaluation of a simple polytetrafluoroethylene (PTFE)-based membrane for blood-feeding of malaria and dengue fever vectors in the laboratory. *Parasites & vectors*, 11(1), 236.

Sivagnaname, N., & Gunasekaran, K. (2012). Need for an efficient adult trap for the surveillance of dengue vectors. *The Indian journal of medical research*, 136(5), 739.

Stica, C., Lobo, N. F., & Moore, S. J. (2021). Peri-domestic vector control interventions using attractive targeted sugar baits and push-pull strategies. In *Ecology and Control of Vector-borne Diseases* (pp. 645-652). Wageningen Academic Publishers.

Sudia, W. D., & Chamberlain, R. W. (1962). Battery-operated light trap, an improved model. *Mosquito news*, 22(2), 126-129.

Sukkanon, C., Bangs, M. J., Nararak, J., Hii, J., & Chareonviriyaphap, T. (2019). Discriminating lethal concentrations for transfluthrin, a volatile pyrethroid compound for mosquito control in Thailand. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 35(4), 258-266.

Sunahara T, Ishizaka K, Mogi M (2002). Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *J Vec Ecol* 27: 8-20.

Swai, J. K., Mmbando, A. S., Ngowo, H. S., Odufuwa, O. G., Finda, M. F., Mponzi, W., & Okumu, F. O. (2019). Protecting migratory farmers in rural Tanzania using eave ribbons treated with the spatial mosquito repellent, transfluthrin. *Malaria journal*, 18(1), 1-13.

Takken, W. (2010). Push-pull strategies for vector control. *Malaria Journal*, 9(Suppl 2), I16.

Takken, W., & Knols, B. G. (1999). Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. *Annual review of entomology*, 44(1), 131-157.

Takken, W., & Knols, B. G. (2010). 1. Strategic use of chemical ecology for vector-borne disease control. *Olfaction in vector-host interactions*, 2, 13.

Tambwe, M. M., Kibondo, U. A., Odufuwa, O. G., Moore, J., Mpelepele, A., Mashauri, R., & Moore, S. J. (2023). Human landing catches provide a useful measure of protective efficacy for the evaluation of volatile pyrethroid spatial repellents. *Parasites & Vectors*, 16(1), 1-14.

Tambwe, M. M., Moore, S., Chilumba, H., Swai, J. K., Moore, J., Stica, C., & Saddler, A. (2020). Semi Field Evaluation of Freestanding Transfluthrin Passive Emanators and the BG Sentinel Trap as a “Push-Pull control Strategy” Against *Aedes aegypti* Mosquitoes.

Tambwe, M. M., Saddler, A., Kibondo, U. A., Mashauri, R., Kreppel, K. S., Govella, N. J., & Moore, S. J. (2021). Semi-field evaluation of the exposure-free mosquito electrocuting trap and BG-Sentinel trap as an alternative to the human landing catch for measuring the efficacy of transfluthrin emanators against *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 14(1), 1-16.

Teixeira, M. G., Costa, M. D. C. N., Barreto, F., & Barreto, M. L. (2009). Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. *Cadernos de saúde pública*, 25, S7-S18.

Terra, M. R., Da Silva, R. S., Pereira, M. G. N., & Lima, A. F. (2018). *Aedes aegypti* e as arbovíroses emergentes no brasil. *Revista Uningá Review*, 30(3).

Tomaszewska, E., Hebert, V. R., Brunner, J. F., Jones, V. P., Doerr, M., & Hilton, R. (2005). Evaluation of pheromone release from commercial mating disruption dispensers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2399-2405.

Torr, S. J., Hall, D. R., Phelps, R. J., & Vale, G. A. (1997). Methods for dispensing odour attractants for tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Bulletin of Entomological Research*, 87(3), 299-311.

Trpis, M. (1972). Breeding of *Aedes aegypti* and *A. simpsoni* under the escarpment of the Tanzanian plateau. *Bulletin of the World Health Organization*, 47(1), 77.

Tsunoda, T., Fukuchi, A., Nanbara, S., & Takagi, M. (2010). Effect of body size and sugar meals on oviposition of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 35

Tun-Lin, W., Burkot, T. R., & Kay, B. H. (2000). Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Medical and veterinary entomology*, 14(1), 31-37.

Unlu, I., Farajollahi, A., Rochlin, I., Crepeau, T. N., Strickman, D., & Gaugler, R. (2014). Differences in male–female ratios of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) following ultra-low volume adulticide applications. *Acta tropica*, 137, 201-205.

Vairo, F., Haider, N., Kock, R., Ntoumi, F., Ippolito, G., & Zumla, A. (2019). Chikungunya: epidemiology, pathogenesis, clinical features, management, and prevention. *Infectious Disease Clinics*, 33(4), 1003-1025.

Valle, D., Aguiar, R., Pimenta, D. N., & Ferreira, V. (2021). *Aedes de A a Z*. SciELO-Editora FIOCRUZ.

Van Den Berg, H., Zaim, M., Yadav, R. S., Soares, A., Ameneshewa, B., Mnzava, A., & Ejov, M. (2012). Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases. *Environmental health perspectives*, 120(4), 577-582.

Vasconcelos, P. F. D. C. (2015). Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 6(2), 9-10.

Vilela, E. F., Lúcia, T. M. C. Della, (2001). Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação. In *Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação* (pp. 206).

Virginio, F., Oliveira Vidal, P., & Suesdek, L. (2015). Wing sexual dimorphism of pathogen-vector culicids. *Parasites & Vectors*, 8(1), 1-9.

Wagman JM, Achee NL, Grieco JP (2015a) Insensitivity to the Spatial Repellent Action of Transfluthrin in *Aedes aegypti*: A Heritable Trait Associated with Decreased Insecticide Susceptibility. *PLoS Negl Trop Dis* 9(4).

Wagman, J. M., Grieco, J. P., Bautista, K., Polanco, J., Briceño, I., King, R., & Achee, N. L. (2015b). The field evaluation of a push-pull system to control malaria vectors in Northern Belize, Central America. *Malaria journal*, 14(1), 184

Wahid, B., Ali, A., Rafique, S., & Idrees, M. (2017). Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. *International Journal of Infectious Diseases*, 58, 69-76.

Ware, G. W., & Whitacre, D. M. (2004). An introduction to insecticides. *The pesticide book*, 6.

White, G. B., Moore, S. J., Debboun, M., & Frances, S. P. (2015). Terminology of insect repellents. *Insect repellents handbook*, 91-116.

WHO, 2009. World Health Organization. (2009). Vector management and delivery of vector control services. *Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*. 3rd ed. Geneva: The Organization. Disponível em http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44188/9789241547871_eng.pdf;jsessionid=3EA36B6F16D2FDDDD2ED530DB5C95F6A6?sequence=. Acessado em 15/05/2021.

WHO, 2012. World Health Organization. (2012). *Global Strategy for dengue prevention and control, 2012–2020*. Disponível em https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acessado em 13/01/2023.

WHO, 2014 World Health Organization. (2014). *A global brief on vector-borne diseases*. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/111008>

WHO, 2016. World Health Organization. (2016). *Zika virus outbreak global response*. World Health Organization, Geneva, 1pp.

WHO, 2017. World Health Organization. (2017). Vector-Borne Diseases. Disponível em <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>. Acessado 05-mai-2021.

WHO, 2018. World Health Organization. (2018). Efficacy-testing of traps for control of *Aedes spp.* mosquito vectors (No. WHO/CDS/NTD/VEM/2018.06). World Health Organization.

WHO, 2020. World Health Organization. (2020). Dengue and Severe Dengue. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acessado em 08/03/2021.

WHO, 2021. World Health Organization. (2021). Specifications. Evaluations for Public Health Pesticides: Transfluthrin. World Health Organization, 36. Available at: https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/vcp-documents/WHOVC-SP_Transfluthrin_2021.pdf.

WHO, 2022. World Health Organization. (2022). Dengue and Severe Dengue. Disponível em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acessado em 02/11/2022.

Wilke, A. B., Vasquez, C., Carvajal, A., Ramirez, M., Cardenas, G., Petrie, W. D., & Beier, J. C. (2021). Effectiveness of adulticide and larvicide in controlling high densities of *Aedes aegypti* in urban environments. *PLoS One*, 16(1), e0246046.

Wong J, Morrison AC, Stoddard ST, Astete H, Chu YY, Baseer I, Scott TW (2012). Linking oviposition site choice to offspring fitness in *Aedes aegypti*: consequences for targeted larval control of dengue vectors *PLOS Neglect Trop D* 6: e1632

Wong J, Stoddard ST, Astete H, Morrison AC, Scott TW (2011). Oviposition site selection by the dengue vector *Aedes aegypti* and its implications for dengue control. *PLOS Neglect Trop D* 5: e1015.

World Health Organization. (2015, December). Blueprint for R&D preparedness and response to public health emergencies due to highly infectious pathogens. In Workshop on prioritization of pathogens. Disponível em: <https://www.who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts>. Acessado em 13/01/2023.

Xu, P., Zeng, F., Bedoukian, R. H., & Leal, W. S. (2019). DEET and other repellents are inhibitors of mosquito odorant receptors for oviposition attractants. *Insect biochemistry and molecular biology*, 113, 103224.

Yan, C., Hii, J., Ngoen-Klan, R., Ahewa, A., Saeung, M., & Chareonviriyaphap, T. (2023). The effect of transfluthrin-treated jute and cotton emanator vests on human landing and fecundity of *Anopheles minimus* in Thailand. *Acta Tropica*, 106904.

Yeap, H. L., Endersby, N. M., Johnson, P. H., Ritchie, S. A., & Hoffmann, A. A. (2013). Body size and wing shape measurements as quality indicators of *Aedes aegypti* mosquitoes destined for field release. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 89(1), 78.

Yoon, J. K., Kim, K. C., Cho, Y. D., Cho, H. S., Lee, Y. W., Kim, M., ... & Kim, Y. B. (2014). Development and evaluation of a semifield test for repellent efficacy testing. *Journal of medical entomology*, 51(1), 182-188.

Zahiri N, Rau ME, Lewis JD 1997. Oviposition responses of *Aedes aegypti* and *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae) females to waters from conspecific and heterospecific normal larvae and from larvae infected with *Plagiorchis elegans* (Trematoda: Plangiorchiidae). *J Med Entomol* 34:565-568.

Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25(2), 391-404.

Zeichner, B. C., & Debboun, M. (2011). The lethal ovitrap: a response to the resurgence of dengue and chikungunya. *US army medical department journal*.

Zeichner, B. C., & Perich, M. J. (1999). Laboratory testing of a lethal ovitrap for *Aedes aegypti*. *Medical and veterinary entomology*, 13(3), 234-238.

Zettel, C., & Kaufman, P. (2009). Yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Culicidae). *EDIS*, 2009(2).

Anexos

1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “**Avaliação da supressão de adultos de *Aedes aegypti* por armadilhas e monitoramento em tempo real no controle integrado do vetor**”. Pedimos a sua autorização para instalar em sua residência uma armadilha para capturar os mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, transmissores da dengue, Zika e chikungunya, e um dispositivo contendo um repelente para impedi-los de depositar seus ovos em recipientes com água, como caixas d’água, galões, cisternas, dentre outros). Esta pesquisa está sendo desenvolvida pela Prefeitura Municipal de Piumhi (PMP), sob a coordenação da Secretaria Municipal de Saúde (SMSP) e da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Para esta pesquisa adotaremos os seguintes procedimentos: iremos instalar uma armadilha em um pequeno espaço na região externa do seu domicílio e um agente de saúde irá realizar o monitoramento da armadilha, para coletar os mosquitos capturados, semanalmente durante 12 meses. No caso do seu domicílio possuir na área externa algum recipiente fixo para armazenamento de água também instalaremos um dispositivo pequeno com o repelente transflutrina próximo à esse recipiente. Na armadilha será adicionado o larvicida pyriproxyfen, que já é rotineiramente utilizado pelos agentes de saúde da Prefeitura para combater a proliferação do *Aedes aegypti*. A instalação da armadilha e do dispositivo repelente não atrairão mais mosquitos para o imóvel, tampouco gerarão custos e/ou interferir na rotina de sua casa. Tanto o larvicida quanto o repelente usado foram amplamente testados e são recomendados como seguros para uso humano. Ainda assim, em caso de danos decorrentes da pesquisa será oferecido ao Sr. (a) assistência integral e imediata, forma gratuita, pelo tempo que for necessário. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em um possível desconforto pelas visitas semanais dos agentes de saúde. Para participar deste estudo o Sr. (a) não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o Sr.(a) tem assegurado o direito à indenização. O Sr. (a) terá o esclarecimento sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar a qualquer tempo e sem quaisquer prejuízos, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o Sr. (a) é atendido (a) pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr. (a) não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar da pesquisa.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo no Controle de Vetores na Universidade Federal de Minas Gerais e a outra será fornecida ao Sr. (a). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5 (cinco) anos, na sala 158 no Bloco I4 do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos, métodos, riscos e benefícios da pesquisa “**Avaliação da supressão de adultos de *Aedes aegypti* por armadilhas e monitoramento em tempo real no controle integrado do vetor**”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

Declaro que concordo em participar desta pesquisa. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido assinado por mim e pelo pesquisador, que me deu a oportunidade de ler e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Nome completo do participante

Data

Assinatura do participante

Álvaro Eduardo Eiras

Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo no Controle de Vetores - LINTEC

Depto de Parasitologia - Sala 158 - Bloco i4 - ICB/UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha

CEP: 31.270-901/Belo Horizonte – MG

Telefones: (31) 3409-2976

E-mail: alvaro@icb.ufmg.br

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Luiz Henrique Vieira Mota

Diretor do Departamento de Vigilância Epidemiológica e Zoonoses de Piumhi – MG

Praça Dr. Avelino de Queiroz, 75 – Centro

CEP: 37925-000/Piumhi – MG

Telefones: (37) 3371-9255

E-mail: luizbiohenrique@gmail.com

Assinatura do responsável local pelo estudo

Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

CEP-UFMG - Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG

Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005.

Campus Pampulha. Belo Horizonte, MG – Brasil. CEP: 31270-901.

E-mail: coep@prpq.ufmg.br.

Tel: (31) 34094592.