

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



ISAÍAS CABRINI

“AVALIAÇÃO DE REPELENTES ELETRÔNICOS E ESTUDOS QUANTO A EFICIÊNCIA DE TRANSPOSIÇÃO DE TELAS, UTILIZANDO-SE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) E *Aedes albopictus* (Skuse, 1854) (DIPTERA: CULICIDAE)”

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, SP, para a obtenção do título de Mestre em Parasitologia

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) <i>Isaiás Cabrini</i>
e aprovada pela Comissão Julgadora.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade

Campinas – SP

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	TIUNICA MP CM2a
V	EX
TOMBO BC/	66904
PROC.	16-P-123-06
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	09/08/06

Bibid 374885

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

C112a

Cabrini, Isaías

Avaliação de repelentes eletrônicos e estudos quanto a eficiência de transposição de telas, utilizando *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1854) (Diptera: Culicidae) / Isaías Cabrini. -- Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Inseto. 2. Diptera. 3. Mosquito. 4.
Repelentes. I. Andrade, Carlos Fernando Salgueirosa de. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(rcdt/ib)

Título em inglês: Evaluation on electronic repellents and studies about the efficiency of net transposition, using *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1854) (Diptera: Culicidae).

Palavras-chave em inglês: Insect; Diptera; Mosquito; Repellents.

Área de concentração: Entomologia.

Titulação: Mestre em Parasitologia.

Banca examinadora: Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade, Ângelo Pires do Prado, Mario Antonio Navarro da Silva.

Data da defesa: 16/11/2005.

CAMPINAS, 16 DE NOVEMBRO DE 2005

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. **Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade** (Orientador) _



Assinatura

Prof. Dr. **Ângelo Pires do Prado**



Assinatura

Prof. Dr. **Mario Antônio Navarro da Silva** _



Assinatura

Prof. Dr. **Mohamed Ezz El Din Mostafa Habib**

Assinatura

Prof. Dr. **Arício Xavier Linhares**

Assinatura

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que foi e sempre será meu Ajudador.

Ao Prof. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade, pela orientação, paciência e amizade.

Aos Professores Ângelo Pires do Prado e Mario Antônio Navarro da Silva que enriqueceram esse trabalho com suas sugestões.

Aos meus Pais que estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis.

À minha noiva que me apoiou nos momentos finais e com certeza influenciou positivamente para que eu conseguisse obter sucesso.

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

págs.

FIGURA 1 - Esquema, vista lateral, da Câmara K&L-Unicamp, mostrando as seções A, B e C, as divisórias entre as seções A-B e B-C (1), a posição do *cooler*, direcionado para o tubo (2) e a fonte de luz (3) _____ 27

FIGURA 2 – Câmara K&L-Unicamp, mostrando as seções A, B e C, com seus respectivos panos de lycra para fecha-las (1), os orifícios para inserção da mão do pesquisador (maior) e haste com pena (menor) (2), uma janela para observação interna da seção C (3) e a fonte de luz sobre a seção C (4) _____ 28

FIGURA 3 - Fotos dos repelentes eletrônicos testados. (A) MGUARD, (B) BINSE, (C) KAWOA, (D) MCONT, (E) TCMR, (F) REPEL e (G) SAMOS (tela do monitor do computador, mostrando os ícones de acesso do *software*) _____ 45

FIGURA 4 - Frequência fundamental (11,8 kHz) do aparelho repelente KAWOA _____ 53

FIGURA 5 - Frequência fundamental (18,9 kHz) do aparelho repelente MCONT (posição 1) _____ 53

FIGURA 6 - Frequência fundamental (9,6 kHz) do aparelho repelente MCONT (posição Dragon fly) _____ 53

FIGURA 7 - Frequência fundamental (6,2 kHz) do aparelho repelente MGUAR _____ 53

FIGURA 8 - Frequência fundamental (8,0k) do aparelho repelente TCMR (posição High) _____ 53

FIGURA 9 - Frequência fundamental (7,2 kHz) do aparelho repelente TCMR (posição Low) _____	53
FIGURA 10 - Frequência fundamental (22,0 kHz) do aparelho repelente REPEL _____	54
FIGURA 11 - Frequência fundamental (16,2 kHz) do SAMOS (nível 1) _____	54
FIGURA 12 - Frequência fundamental (17,0 kHz) do SAMOS (nível 2) _____	54
FIGURA 13 - Frequência fundamental (18,2 kHz) do SAMOS (nível 3) _____	54
FIGURA 14 - Frequência fundamental (19,2 kHz) do SAMOS (nível 4) _____	54
FIGURA 15 - Frequência fundamental (20,4 kHz) do SAMOS (nível 5) _____	54
FIGURA 16 - Vista da Câmara K&L-Unicamp a partir do tubo, mostrando uma das telas avaliada e a mão do pesquisador. Ao fundo o cooler na seção C _____	68
FIGURA 17 - Fotos das telas avaliadas, sob uma moldura de papel milimetrado, mostrando a forma em que os vazados foram medidos (tracejados) _____	69
TABELA 1 - Percentual de mosquitos <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> , atraídos totalmente (seção C), parcialmente (seção B) ou não atraído (seção A) na Câmara K&L- Unicamp em 10 repetições (n=10) _____	30
TABELA 2 – Número de tentativas de picadas a cada segundo, durante 600 seg, média e desvio padrão de picadas para fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> , para 10 repetições (n=10) _____	31

TABELA 3 - Especificações técnicas de sete Repelentes Eletrônicos de mosquitos, sendo a frequência fundamental e nível de som obtidos no Laboratório de Bioacústica – IB – Unicamp e o restante obtido do rótulo de cada produto _____	49
TABELA 4 – Atração (Percentual Médio \pm D.P.) e o teste de Qui-quadrado ($\alpha=0,05$) de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> para sete repelentes eletrônicos em 20 repetições ligados ou desligados. (n=10 e avaliações por 10 min) _____	51
TABELA 5 – Frequência de tentativas de picadas de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> (Média \pm D.P.) e o teste de Análise de Variância ($\alpha=0,05$) a cada segundo, durante 600 seg., para sete repelentes eletrônicos ligados ou desligados _____	52
TABELA 6 – Número médio \pm D.P. e Teste t de Student ($\alpha=0,05$) para a frequência de tentativas de picadas de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> expostas a repelentes eletrônicos 3min desligados, seguido de 3min dos aparelhos ligados (n=10, 5 repetições) _____	55
TABELA 7 – Descrição das características das telas utilizadas para estudar a eficiência de transposição de duas espécies de <i>Aedes</i> e uma câmara-teste _____	71
TABELA 8 – Percentual médio \pm D.P. de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Ae. albopictus</i> que obtiveram sucesso em passar pelas telas durante um período de 20 min, em condições de câmara-teste (n=10, 20 repetições) _____	73
TABELA 9 – Quantidade média acumulativa (a cada 60 seg.) \pm D.P para grupos de fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> ou <i>Ae. albopictus</i> que passaram por 4 diferentes telas (n=10, 20 repetições) _____	74
ANEXO I _____	103
ANEXO II _____	108

ANEXO III _____	113
-----------------	-----

ANEXO IV _____	119
----------------	-----

SUMÁRIO

RESUMO _____	x
--------------	---

ABSTRACT _____	xii
----------------	-----

1. INTRODUÇÃO GERAL _____	1
---------------------------	---

1.1. Resposta de fêmeas de mosquitos ao hospedeiro: busca por alimentação sanguínea _____	5
--	---

1.2. Referências bibliográfica _____	11
--------------------------------------	----

2. OBJETIVOS _____	19
--------------------	----

3. CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DOS MOSQUITOS UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS _____	20
--	----

CAPÍTULO I – Desenvolvimento de Uma Câmara para Estudos com Adultos de <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) e <i>Aedes albopictus</i> (Skuse, 1854) (Diptera: Culicidae)	21
---	----

RESUMO _____	22
--------------	----

1. INTRODUÇÃO _____	23
---------------------	----

2. MATERIAL E MÉTODOS	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4. CONCLUSÕES	32
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA	32

CAPÍTULO II – Comprovação Experimental da Ineficácia de Novos Repelentes Eletrônicos para Mosquitos, Utilizando-se <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) Como Modelo	35
---	----

RESUMO	36
--------	----

1. INTRODUÇÃO	37
---------------	----

1.1. Aspectos comportamentais de mosquitos em relação ao som	37
--	----

1.2. Avaliação de repelentes eletrônicos	39
--	----

2. MATERIAL E MÉTODOS	44
-----------------------	----

2.1. Excitação para picar	46
---------------------------	----

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
---------------------------	----

3.1. Excitação para picar	55
---------------------------	----

4. CONCLUSÕES	57
---------------	----

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	58
------------------------------	----

CAPÍTULO III – Eficiência de <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762) e <i>Aedes albopictus</i> (Skuse, 1854) em Transpor Algumas Telas Comerciais	62
RESUMO	63
1. INTRODUÇÃO	64
2. MATERIAL E MÉTODOS	68
2.1. Tamanho dos mosquitos e Tamanho dos vazados	70
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.1. Comportamento relativo à passagem pelos vazados	74
3.2. Tamanho dos mosquitos e Tamanho dos vazados	75
4. CONCLUSÕES	77
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
4. COMENTÁRIOS GERAIS	83
5. CONCLUSÕES GERAIS	85
5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICA GERAL	86

RESUMO

Já é bem conhecida há várias décadas a transmissão de diversas doenças para o homem e outros animais, por fêmeas de mosquitos (Diptera: Culicidae). Devido a isso, inúmeros estudos laboratoriais, utilizando sistemas fechados, têm sido realizados para se conhecer melhor o comportamento dos mosquitos. Esses sistemas consistem em olfatômetros, túneis de vento, câmaras-teste, entre outros, e podem ser utilizados para avaliar, por exemplo, produtos para a proteção pessoal, como os repelentes e telas de proteção, obtendo-se dados sobre a eficácia em impedir que as fêmeas de mosquitos consigam picar um hospedeiro.

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver inicialmente um sistema de câmara-teste, a partir de um sistema já descrito em literatura científica, para estudos com mosquitos *Aedes* spp. O sistema foi feito em isopor, sendo composto de uma caixa grande conectada a um tubo, que por sua vez foi dividido em duas seções. Ao todo, o sistema ficou então constituído por três seções. Na parte distal do tubo foram liberadas fêmeas de *Aedes aegypti* ou *Ae. albopictus* que eram atraídas para os estímulos de uma mão humana e uma fonte de luz, disposta na caixa, na outra extremidade. Primeiro foi avaliado nessa câmara-teste a repetitividade do padrão de comportamento de atração, verificando-se que proporção dos mosquitos seria atraída para a outra extremidade. O sistema desenvolvido mostrou-se viável, uma vez que 94% e 95% das fêmeas de *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*, respectivamente, foram atraídas para a seção onde estavam a mão e a fonte de luz.

Aparelhos emissores de frequências sonoras, alegados como repelentes eletrônicos de vários insetos, aranhas e ratos são comercializados há vários anos. Segundo os fabricantes, alguns aparelhos são repelentes eletrônicos eficazes contra mosquitos. No presente trabalho, seis desses aparelhos e um software, supostamente repelente para mosquitos, foram avaliados, utilizando-se a câmara-teste desenvolvida. Avaliou-se a resposta de grupos de 10 fêmeas de *Ae. aegypti* quanto a voar até a caixa, atraídas para a luz e a mão humana, e contra as ondas sonoras dos repelentes. O número de tentativas de picadas foi registrado durante 10 min. Comparando-se os resultados entre uma situação onde os aparelhos estavam ligados, com outra, onde os aparelhos estavam desligados, pôde-

se avaliar que nenhum dos repelentes eletrônicos foi eficaz em impedir a chegada e a picada das fêmeas. Durante os experimentos levantou-se a hipótese de que algumas frequências sonoras poderiam ainda estimular as fêmeas a picar. O número de tentativas de picadas foi narrado e gravado durante três minutos com os repelentes eletrônicos desligados e logo após, por mais três minutos ligados, sendo que as fêmeas foram impedidas de realizar o repasto sanguíneo. A suposição foi confirmada para todas as frequências sonoras aqui avaliadas, havendo aumento do número de picadas quando o som foi emitido.

A habilidade de *Ae. albopictus* em passar por telas utilizadas para confecção de gaiolas de mosquitos, e que essa condição estaria relacionada ao seu tamanho, têm sido indicada informalmente por alguns pesquisadores, desde que essa espécie foi introduzida na América do Norte. No presente trabalho foram realizados estudos sobre a eficiência de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em transpor algumas telas comerciais. Utilizou-se a câmara-teste e determinou-se a eficiência de transposição pela percentagem de mosquitos que conseguiriam passar pelas telas em 20 min e o tempo mediano para a transposição. As telas foram dispostas entre duas seções da câmara-teste de maneira a formar uma barreira para a chegada dos mosquitos até a mão humana. As telas utilizadas possuem vazados (orifícios) de tamanhos diferentes o que dificultou em diferentes graus a passagem dos mosquitos. Encontrou-se que *Ae. albopictus* foi mais eficiente em transpor as telas com os vazados menores, enquanto *Ae. aegypti* foi mais eficiente na transposição pelos vazados maiores. O tamanho dos indivíduos, estimado pela medição de uma asa, demonstrou que *Ae. albopictus* é de fato menor do que a outra espécie, o que leva a ter maior eficiência em passar por telas com pequenos espaços. Mas surpreendentemente, isso não ocorre para os espaços maiores das telas.

ABSTRACT

The transmission of some diseases to humans and others animals by mosquitoes (Diptera: Culicidae) is knew. Due to this fact many studies have been done in the laboratory in order to better understand the mosquito behavior. Examples of some studies are those with olfactometers, wind tunnels and test-chambers, among others. Such approaches can also be in order to evaluate products for personal protection such as repellents and bednets, gathering data on their efficacy in avoiding female bites.

The aim of the present work was to develop a test-chamber based on a system already described to study *Aedes* spp. mosquitoes. The system was constructed with polystyrene, consisting of a cage connected to a tube, which was divided in three sections. At the distal end of the tube *Aedes aegypti* or *Ae. albopictus* females were released, to be attracted to the stimulus of a human hand and a light source placed at the box in the opposite side. This system was developed in order to assess the host behavior testing a attraction of the stimulus for females, evidenced by their attraction to the other end of the tube. The developed test-chamber proved to be feasible to be use, since 94% *Ae. albopictus* and 95% of *Ae. aegypti* females were attracted to the section where the attractive were placed.

Sonic frequencies devices, the so-called electronic repellents for insects, spiders and rats have been sold for many years. According to manufacturers these devices are efficient in repelling mosquitoes. In the present work six devices and software were evaluated using the test-chamber. Groups of 10 *Ae. aegypti* females were released to fly to the light source and to the human hand, and towards the sonic waves to the repellents. Numbers of bites attempts were recorded for 10 minutes. The result for those evaluations was that the electronic repellents were not efficient in avoiding the arrival, landing and biting the mosquitoes. During these experiments it was suspected that some sonic frequencies could indeed stimulate the females to bite. Numbers of bite attempts were recorded during three minutes with the repellents turned off and then for three minutes with them turned on. It was not allowed for the females to take the blood meal. The alleged stimulation was

confirmed for all the evaluated frequencies, scoring a rise in the bite number when the sound was emitted.

Ae. albopictus ability through some nets used in mosquitoes cages, and such ability is related the mosquito small size, has been proposed since this species was introduced in North America. In the present work, studies were done to test the efficiency of commercial nets having transposed by *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus*. The test-chamber developed in this work was used to assess the efficiency in transposing the nets, by determining the percentage of mosquitoes that success fully passed through the nets in 20 minutes, and the median transposition was also determined. The nets were placed across two sections of the test-chamber in order to form an obstacle to the arrival of the mosquitoes flying to the human hand. The nets had different hole sizes. *Ae. albopictus* was more efficient in passing through the nets with smaller holes, while *Ae. aegypti* was more efficient in the transposing those with larger holes. The mosquito sizes estimated by wing measuring showed that in fact *Ae. albopictus* is smaller that *Ae. aegypti* making the first species to be more efficient in passing through the nets with small holes. However, surprisingly, this was not the true for nets with larger holes.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os problemas causados pelos mosquitos (Diptera: Culicidae), são motivos de estudos no qual se objetiva encontrar formas para impedir a transmissão de doenças por eles veiculadas. Atualmente são conhecidas mais de 3000 espécies de mosquitos distribuídas por todo o mundo, exceto nos continentes Ártico e Antártico (Forattini, 2002). No entanto, apesar da razoável quantidade de espécies ainda se desconhece a biologia da grande maioria delas (Consoli & Oliveira, 1994). Exemplos dos malefícios proporcionados pelos mosquitos são as epidemias ao longo dos séculos causadas pela malária, dengue e febre amarela. Nos anos 1998 e 2000, a Organização Mundial de Saúde estimou que cerca de 500 milhões de pessoas foram infectadas pelo agente causador da malária. Dentre essas, em torno de 2,5 milhões morreram, sendo um milhão dessas mortes eram crianças na África Sub-Sahariana, onde 90% de todos os casos ocorreram (Beier, 1998; W.H.O., 2000). No entanto, esses dados consistem somente nas notificações da doença, sendo que esses números podem mais que dobrar quando se consideram os pacientes assintomáticos (Snow et al., 2005). De acordo com dados da Fundação Nacional de Saúde (2003), a dengue é endêmica em cerca de 100 países, atingindo entre 50 e 100 milhões de pessoas por ano. No Brasil a situação não tem sido diferente, sendo que em 2002 foram notificados cerca de 700 mil casos.

Quando não causam doença e morte, o incômodo das picadas das fêmeas dos mosquitos também causa prejuízos econômicos. Um exemplo é o caso da grande infestação do Rio Pinheiros em São Paulo, pelo mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say). Em 1992, devido à suspensão do bombeamento das águas do rio para a Represa Billings, o rio tornou-se um grande criadouro, aumentando a população do mosquito e, com isso, o incômodo com as picadas à população humana próxima tornou-se insuportável. Segundo a veterinária do Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, Dra Eunice S. M. Parodi – “*Antes recebíamos uma média de duas reclamações por dia e agora chega a ultrapassar 30 pedidos diários*” (<http://www11.estadao.com.br/ext/diariodopassado/20021113>). Para tentar resolver o problema, uma parceria entre a Prefeitura (Centro de Controle de Zoonoses - CCZ) e um grupo de empresas com sedes próximas ao rio montaram uma operação de controle ao mosquito onde o dinheiro privado foi usado para compra de larvicida biológico e

equipamentos, e o CCZ ficou responsável pela parte operacional. Estimou-se que todo o trabalho iria custar às empresas cerca de R\$ 2,5 milhões em um ano (<http://www.estadao.com.br/agestado/noticias/2002/nov/30/5.htm>). Atualmente o controle é feito às custas do poder público.

Estudos sobre mosquitos como vetores passaram a ser mais intensos a partir do final do século XIX, sendo que Manson (1878) foi o primeiro pesquisador a comprovar a transmissão da filariose brancoftiana por mosquitos. A hipótese de transmissão da febre amarela, proposta por Josiah Nott em 1848 e Beauverthuy em 1853, foi confirmada pelo médico cubano Juan Carlos Finlay em 1884 e re-confirmada pelos americanos Reed, Carrol, Agramonte e Lazear em 1901 e ainda pelos brasileiros Lutz e Ribas em 1903, em São Paulo, todos indicando ou confirmando com *Aedes aegypti* (Linnaeus). Em 1897, Donald Ross descobriu, por auto-inoculação, os estágios do parasita causador da malária, hoje sabidamente transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* (Meigen) spp. Alguns anos depois, em 1902, Graham descobriu a transmissão da dengue por mosquitos (Lehane, 1996).

Hoje são conhecidas muitas doenças que têm os mosquitos como vetores, e novas enfermidades ainda estão surgindo, com incriminação para os culicídeos. Assim, no final do século XX houve um aumento sem precedentes de doenças emergentes veiculadas por vetores pelo mundo, com sérias implicações para as populações humanas e animais (Woodworth et al., 2005). Esse fato tem sido ligado principalmente às alterações na biologia dos agentes infecciosos já existentes, uso indiscriminado e inapropriado de antibióticos e praguicidas, concentração das populações em cidades, desnutrição, comportamento e estilos de vida, viagens internacionais e migrações, bem como a deterioração dos programas de Saúde Pública (Knudsen & Sloogg, 1992; Gonçalves, 1995; Garret, 1994). Um exemplo de doença emergente é o surgimento nos Estados Unidos do vírus da Encefalite do Oeste do Nilo (*West Nile Encephalitis*) transmitido por várias espécies de culicídeos como *Cx. pipiens pipiens* (Linnaeus), *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. albopictus* (Skuse), *An. maculipennis* (Meigen) complexo, entre outros. Essa doença atinge classicamente mamíferos e aves, mas quando introduzida nos EUA produziu epidemias importantes em humanos (Goddard et al., 2002; Fonseca et al., 2004; Romi et al., 2004).

Como se pode perceber, o problema causado pelos mosquitos está muito além do incômodo causado pelas picadas das fêmeas, e devido a isso se faz necessário o controle das espécies vetoras. A aplicação de inseticidas sintéticos tem sido a principal alternativa há vários anos, sendo obtidos resultados positivos quando utilizados corretamente. No entanto, alguns problemas proporcionados por esse tipo de controle têm surgido, principalmente relacionados à resistência do organismo alvo e a preservação ambiental, levando à necessidade de desenvolvimento de novas alternativas. Nesses casos, o controle biológico por meio de predadores e organismos entomopatogênicos, pode se mostrar uma boa opção. Entre os predadores destacam-se as larvas de mosquitos do gênero *Toxorhynchites* (Theobald) spp, as planárias *Dugesia tigrina* (Girard); copépodos como *Mesocyclops longisetus* (Thiebaud) e o peixe *Gambusia affinis* (Baird e Girard) que, além de ser um grande predador de larvas, também consegue resistir a presença de alguns inseticidas como Lambda-cialotrina (Moshsen et al., 1995; Brown et al., 1996; Santos et al., 1996; Melo & Andrade, 2001). Porém, apesar de vários desses agentes naturais serem conhecidos e considerados como potenciais para o uso no controle de mosquitos, os principais organismos atualmente utilizados e com produção industrial, é uma sub-espécie (ou variedade) da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) e a bactéria *Bacillus sphaericus* (Neide), que têm sido comercializadas mundialmente em várias formulações. A grande atividade inseticida dessas bactérias deve-se às proteinases tóxicas situadas em corpos paraesporais (cristais), os quais são produzidos durante a formação dos esporos. Após a ingestão, os cristais são dissolvidos em meio alcalino do intestino médio, e as protoxinas são liberadas. Nessa fase, as protoxinas ainda não exibem atividade biológica e a ativação proteolítica é necessária. As proteases do intestino desdobram as protoxinas e produzem proteínas ativadas de menor tamanho. Essas toxinas têm que passar pela membrana peritrófica para serem reconhecidas por receptores específicos presentes nas microvilosidades apicais do intestino médio. Após a ligação com o receptor, as toxinas levam à formação de poros que interferem no sistema de transporte de íons pela membrana celular. Este processo causa lise do epitélio do intestino médio e morte por toxemia, ou interrompe a secreção normal, baixando o pH do lúmen e favorecendo a germinação dos esporos, o que acarretará septicemia e morte da larva do mosquito. Assim, a inibição da alimentação pode ocorrer logo após a ingestão do esporo e da toxina dos *Bacillus*, seguida

pela germinação e crescimento bacteriano, provocando, de poucas horas a dois dias, a morte das larvas (Glare & O'Callaghan, 2000).

Dentre os métodos de controle de transmissão de doenças, enfocando o hospedeiro, a proteção pessoal é uma das principais alternativas, sendo que a utilização de repelentes reduz ou elimina o contato dos vetores com os seus hospedeiros.

Um exemplo de proteção pessoal é os repelentes, o qual Dethier et al. (1960) definiram como: “*um químico que causa, no inseto, movimentos orientados para fora de uma fonte atrativa*”. Browne (1977) definiu de uma forma semelhante, como sendo: “*um químico ou mistura de químicos que, agindo na fase de vapor, causa, no inseto, uma ação que resulta em movimento para fora da fonte atrativa*”. Esse mesmo autor ainda propõe uma definição alternativa: “*um químico que, agindo na fase de vapor, previne que um inseto pouse no local onde o mesmo seria atraído*”.

A resposta comportamental do inseto a um repelente consiste em evitar que as moléculas repelentes entrem no corpo, penetrando pela cutícula. Os repelentes, em geral estão em estado de vapor e suas moléculas podem penetrar por duas rotas: as quimiossensilas e os espiráculos respiratórios (McIver, 1981).

Um dos princípios ativos mais conhecidos e utilizados nas formulações comerciais de repelente tem sido N,N-dietil-m-toluamida (Deet) (Young & Evans, 1998), além dos repelentes naturais como aqueles a base de citronela, andiroba, *neem* e eucalipto. No entanto, não se sabe ao certo o modo de ação das diferentes substâncias repelentes, sejam naturais ou sintéticas. “Deet” por exemplo, parece interferir na transmissão de sinais de neurônios excitados por ácido láctico (Davis & Sokolove, 1976; Davis, 1985; Davis & Bowen, 1994). Dogan et al. (1999) encontraram que Deet, na ausência de um hospedeiro, atuou como um atraente e, na presença do mesmo, como um inibidor de atração. Esse ingrediente ativo é uma molécula apolar, que possui grande afinidade pela porção lipídica da membrana celular. A interação do “Deet” com moléculas lipídicas modifica a organização da membrana assim como a resposta atrativa do mosquito. Sugere-se que, tendo entrado no corpo do mosquito pelos espiráculos, o “Deet” interage com a porção lipídica da membrana celular, inicialmente afetando a respiração. Em consequência disso, processos fisiológicos podem ser afetados, causando mudanças comportamentais (McIver, 1981).

A atração e repelência de mosquitos têm sido objeto de estudos para melhor entender os fatores que levam uma fêmea a detectar, se aproximar e picar um hospedeiro. Conhecimentos nessa área se fazem cada vez mais necessários para que descobertas de novos produtos sejam possíveis e o controle na transmissão de doenças seja melhor desenvolvido.

1.1. Resposta de fêmeas de mosquitos ao hospedeiro: busca por alimentação sanguínea

A necessidade de utilizar sangue de um hospedeiro vivo como fonte de nutrientes tem levado várias espécies de insetos a se associar em maior ou menor grau a hospedeiros vertebrados. Algumas espécies, como os ectoparasitos, necessitam estar permanentemente desenvolvendo-se sobre o hospedeiro ou utilizando-o como parte do seu ciclo de vida. Entretanto, outras espécies visitam o hospedeiro somente quando necessitam da alimentação sanguínea.

A habilidade de insetos em explorar um recurso alimentar como o sangue necessitou de várias adaptações nas quais, acredita-se, estarem envolvidas duas rotas. Na primeira sugere-se que formas hematófagas podem ter se desenvolvido subsequentemente à associação entre o vertebrado e o inseto sendo mais comum a associação centrada na atração dos insetos para ninhos ou tocas do hospedeiro vertebrado. Inicialmente, os insetos associados a esses habitats começaram a se alimentar de matéria orgânica, como pedaços de pele, pêlos ou penas, sendo que a ingestão desse tipo de alimento levou à seleção de indivíduos com sistema fisiológico capaz de processá-los. Posteriormente, modificações nas peças bucais e adaptações comportamentais podem ter levado os insetos a se alimentarem diretamente nos hospedeiros, sendo que a raspagem da base das penas, por exemplo, levou ao contato com o sangue, o qual, devido ao suprimento nutricional abundante, proporciona maior taxa reprodutiva. Esse contato com o novo tipo de alimento resultou primeiramente na hematofagia facultativa e eventualmente, em alguns insetos, na hematofagia obrigatória. Exemplos desse tipo de adaptação são os piolhos mastigadores como, por exemplo, *Menacanthus stramineus* (Nitzsch) (Phthiraptera: Menoponidae), que se alimenta na base de penas ou na pele de frangos. Outro exemplo dessa rota de associação está na deposição de ovos por *Haematobia irritans* (Linnaeus) (Diptera: Muscidae) nas

fezes intactas de bovinos. Esse tipo de criadouro é limitado e leva à competição entre os indivíduos e, por isso, a associação estrita com o vertebrado favoreceria a deposição dos ovos antes do seu competidor. A segunda rota está relacionada a insetos entomófagos, que podem ter sido atraídos para ninhos e cavernas onde inseto-presas poderiam ser encontrados com abundância, além dos vertebrados. O contato com os vertebrados pode ter acontecido repetidamente e insetos predadores podem ter sofrido adaptações morfológicas e fisiológicas, levando a hematofagia. Isso deve ter ocorrido ocasionalmente, levando à mudança para hematofagia permanente pelo contato repetido entre o inseto e o vertebrado. O Hemiptera *Anthocoris nemorum* (Linnaeus) (Heteroptera: Anthocoridae) é um exemplo dessa rota. Esse inseto é entomófago, mas é capaz de se alimentar de pedaços da pele humana. Os mosquitos podem estar envolvidos nessa rota, ou seja, inicialmente os adultos podem ter se alimentado de fluídos de larvas de outros insetos e posteriormente o sangue de hospedeiros vertebrados (Waage, 1979; Klowden, 1995; Lehane, 1996).

As espécies hematófagas podem apresentar diferentes graus de preferência por hospedeiros. Além disso, cada espécie procura certas partes do corpo com maior frequência. Esses locais liberam diferentes compostos químicos que fazem com que haja maior atração para uma determinada espécie do que para outra. O mosquito *Ae. albopictus* por exemplo possui maior preferência pelos pés, seguida das mãos e da face (Brown, 1958; Khan et al., 1965; Skinner et al., 1965; Maibach et al., 1966; Dekker et al., 1998; Shira et al., 2002).

Para desenvolver preferência por diferentes partes do corpo do hospedeiro, órgãos sensoriais específicos e capazes de detectar diferentes estímulos do hospedeiro foram selecionados. Exemplo disso são as escamas e sensilas que recobrem o corpo dos culicídeos. As sensilas são órgãos sensoriais que possuem a capacidade de receber a energia de um estímulo e transforma-la em uma informação por meio de um impulso nervoso. Algumas são especializadas em detectar estímulos térmicos, químicos e mecânicos, bem como mudanças na umidade relativa do ar e mudanças na luminosidade. Tais sensilas estão distribuídas em várias partes do corpo do mosquito, por exemplo, nos olhos, pele, halteres, pernas, peças bucais e antenas (McIver, 1982; Meijerink & Van Loon, 1999).

Nas antenas, as sensilas são responsáveis pela detecção de estímulos sonoros ligados ao acasalamento, e também a odores, graças à sua inervação com neurônios olfativos. Fox

et al. (2001) identificaram quatro genes com codificação para receptores olfativos de *An. gambiae* (Giles). Essa codificação da expressão antenal é específica para as fêmeas, e é regulada para diminuir sua função 12h após a alimentação sanguínea, período em que ocorre, portanto, a redução das respostas olfativas das fêmeas para os odores humanos.

Nas fêmeas de algumas espécies de mosquitos foram encontradas sensilas no cibário, sugerindo uma relação funcional com a alimentação sanguínea. No abdome e genitália, as sensilas são mecano-sensíveis; nos tarsos, quimicamente sensíveis e, no tórax, mais especificamente nos halteres, são responsáveis pela detecção na mudança da posição do corpo do inseto durante o vôo (Knols & Meijerink, 1997; Clements, 1999).

Várias classes de estímulos emitidos por hospedeiros vertebrados, são usadas pelos insetos para localização da fonte sanguínea. Aqueles que possuem propriedades voláteis são carregados pelo ar e são detectados a certas distâncias pelos mosquitos. Um exemplo é o dióxido de carbono (CO₂) que exerce grande influência no inseto, pois é produzido em grande quantidade comparado com outros estímulos, e é interpretado como a presença de hospedeiro (Allan et al., 1987; Sutcliffe, 1987; Cork, 1996; Knols & Meijerink, 1997; Costantini et al., 2001; Cooper et al., 2004). No entanto, há algumas controvérsias com relação à função do CO₂, pois há situações em que o mesmo pode exercer atração, outras repelência e às vezes é simplesmente inativo (Hocking, 1971). Essa diferença está relacionada às concentrações do estímulo, sendo que mudanças muito pequenas influenciam o comportamento do mosquito (Wright & Kellogg, 1962).

Segundo Gillies (1980) a função do CO₂ na procura de um hospedeiro compreende duas ações distintas. Primeiramente ele age como atraente, orientando o mosquito em direção ao hospedeiro, desde que o estímulo seja carregado por uma corrente de ar. Na ausência de corrente de ar a orientação não ocorre, ou seja, não há movimento do mosquito. Segundo, o CO₂ possui uma ação combinada com corrente de ar quente e úmida, assim como com odores atrativos, sendo identificado a distâncias bastante pequenas da fonte emissora do gás.

No entanto, em estudos de atração com *An. gambiae*, espécie altamente antropofílica, para a respiração humana encontrou-se que CO₂ na concentração de 4,5% não foi atrativo quando comparado com ar limpo em condições de olfatômetro (DeJong & Knols, 1995b).

Quando os mosquitos detectam uma pluma de CO₂ no ambiente significa que estão chegando a um hospedeiro e por isso fontes desse gás em armadilhas são eficazes para captura. No entanto, os mosquitos utilizam também outros estímulos atrativos para detectar um hospedeiro específico. Vários compostos voláteis são produzidos por vertebrados, sendo que muitos deles são produzidos na pele, ficando dispersos no ambiente. O ácido láctico e amônia, por exemplo, estão presentes no suor humano e têm sido confirmados como fatores atraentes para fêmeas de mosquitos na procura de alimentação sanguínea (Acree et al., 1968; Smith et al., 1970; Davis et al., 1987; Braks et al., 2001). Eiras & Jepson (1991) encontraram evidências de que fêmeas de *Ae. aegypti* foram excitadas a voar quando CO₂, combinado com ácido láctico, foi apresentado em um túnel de vento. Esses autores também demonstraram que altas concentrações de CO₂, associadas a baixas concentrações de ácido láctico levaram a resposta de pouso das fêmeas da mesma espécie sobre a fonte atrativa. O mesmo não ocorre com *An. gambiae*, o qual apesar de ter respondido a estímulos voláteis do suor humano, não respondeu acentuadamente, como *Ae. aegypti*, para o ácido láctico em condições de olfatômetro (Braks et al., 2001).

Os odores produzidos por vertebrados são atrativos, porém específicos do corpo de cada animal, e servem para orientação do mosquito. Esses odores são denominados cairomônios, sendo substâncias interespecíficas de atração. Assim, em se tratando do corpo humano, já se conhecem cerca de 300-400 compostos da pele, principalmente nas regiões onde há grande quantidade de glândulas secretoras e sebáceas (Bernier et al., 2000). Regiões do corpo humano são colonizadas por bactérias, principalmente gram positivas, que atuam nas secreções glandulares produzindo odores característicos de cada pessoa e cada região do corpo. Além disso, o suor humano, quando mantido à temperatura ambiente, sofre o efeito de microorganismos que são responsáveis por produzir voláteis responsáveis também pela atração. Esses atrativos formam plumas de odores que se dispersam no ambiente (Eiras & Jepson, 1994; Knols & Meijerink, 1997; Clements, 1999; Geier et al., 1999; Gibson & Torr, 1999; Braks et al., 2001; Qiu et al., 2004).

DeJong & Knols (1995a) encontraram que os odores liberados nos pés e tornozelo são mais atrativos para *An. gambiae* do que aqueles produzidos em outras regiões do corpo. O odor do queijo Limburger, produzido por bactérias é semelhante ao odor dos pés, e é

também altamente atrativo, sugerindo que os cairomônios atrativos para *An. gambiae* são de origem bacteriana (De Jong & Knols, 1995b; Knols et al., 1997).

A atração para estímulos provenientes da pele humana é acentuada entre os mosquitos, sendo que algumas espécies possuem maior especificidade por esse tipo de hospedeiro (ex. *Ae. aegypti*) quando comparado com outras espécies de mosquito (Schreck et al., 1990). Outro exemplo dessa especificidade é *An. gambiae* que em experimentos de laboratório, demonstrou aversão a odores de bovinos e maior atração para humanos (Pates et al., 2001a; Pates et al., 2001b).

Além dos compostos voláteis, que são produzidos e emanados pelos vertebrados, outros estímulos são importantes para atração de mosquitos. Fêmeas conseguem detectar o calor e a umidade que, somados aos estímulos anteriores, fazem com que elas encontrem o hospedeiro específico.

A detecção pelo mosquito de um hospedeiro potencial consiste em várias etapas onde os vários estímulos atrativos são percebidos à medida que o inseto se aproxima da fonte alimentar. Gillies & Wilkes (1969) e Knols & Meijerink (1997) esquematizaram a seqüência em que mosquitos detectam determinada fonte atrativa. Inicialmente, as fêmeas voam aleatoriamente no ambiente a procura de um hospedeiro. O primeiro estímulo, detectado a distâncias maiores que 20 m, é o odor que faz com que ela inicie um vôo direcionado. Em distâncias entre 2 e 20 m o CO₂ passa a ser detectado junto ao odor, e quando distante 1 a 2 m, além dos estímulos anteriores, soma-se o calor e a umidade do corpo. Esses fatores atrativos são melhor detectados dependendo da direção e da velocidade do vento e do campo visual no ambiente em que a fêmea está sobrevoando.

De acordo com David et al. (1982) pacotes de odores são carregados em linha pelo vento e, para localiza-los os mosquitos precisam somente voar direcionalmente. Murlis & Jones (1981) mostraram que uma pluma de odor consiste em uma série de pacotes de odores dispersos no ar. Geralmente, a frequência de pacotes de odores detectáveis e a concentração do odor diminuem com a distância de uma fonte. Sendo assim, mosquitos voando detectam e respondem a mudanças na frequência de pacotes e a concentração relativa do odor, aproximando-se da fonte emissora.

O vento pode ser um grande problema para fêmeas encontrarem os hospedeiros. Primeiro, ao exceder o limite suportável pelo inseto o vento limita a habilidade do

indivíduo em direcionar sua resposta. Segundo, e possivelmente o problema mais comum, é que o vento afeta as características da pluma de odor, modificando a resposta do inseto aos caimônios emanados pelo hospedeiro. Variação na velocidade do vento pode afetar também a estrutura das plumas de odores, prejudicando a resposta ao sinal olfativo. Difusão turbulenta causa pacotes de odores misturados ao ar limpo, diluindo esses pacotes e reduzindo o alcance do sinal do hospedeiro (Gibson & Torr, 1999). Esse fato se confirma com o trabalho de Dekker et al. (2001) que demonstraram em laboratório que emissões homogêneas de odores da pele humana foram mais atrativas para *An. gambiae* do que emissões intermitentes. Os mesmos autores demonstraram que pluma de CO₂ homogênea levou à inibição da atração de *Ae. aegypti*.

O campo visual é um fator adicional ao conjunto de fatores que levam a fêmea a encontrar o hospedeiro. A resposta de espécies diurnas para cores é mais acentuada do que para as noturnas. Espécies noturnas demonstram resposta mais específica para objetos conspícuos e barreiras (Allan et al., 1987; Allan, 1994; Bidlingmayer, 1994; Land et al., 1999).

Os mosquitos machos também são atraídos pelos mesmos estímulos que levam as fêmeas a encontrarem os hospedeiros. Porém, machos não se alimentam de sangue e, possivelmente voam ao redor do hospedeiro esperando fêmeas para o acasalamento (McIver, 1980).

A utilização de alguns fatores atrativos como calor, umidade, ácido láctico, octenol, CO₂ e cor, associados entre si, tem sido proposta para o desenvolvimento de armadilhas de captura de ambos os sexos de mosquitos. Essas armadilhas têm se revelado eficazes dependendo da associação e concentração dos atraentes e também dependendo da espécie de mosquito estudada (Kusakabe & Ikeshoji, 1990; Burkett et al., 2001; Cilek & Kline, 2002; Cooper et al., 2004).

A sobrevivência dos mosquitos depende dos estímulos emitidos pelos hospedeiros. Também necessitam de estímulos para o encontro do parceiro sexual, fazendo com que haja também uma interação entre os parasitas, ou seja, entre os mosquitos. Esses estímulos estão diretamente relacionados à reprodução desse inseto.

Por meio do conhecimento do comportamento dos mosquitos em relação aos atrativos do seu hospedeiro, é de se esperar a implementação de novas melhorias para

identificar e formular substâncias químicas que agirão como atrativos, repelentes e outros agentes diretamente relacionados às bases olfativas dos mosquitos, e que podem levar a maiores conhecimentos para o controle dos vetores (Zwiebel & Takken, 2004).

Mediante os conhecimentos descritos acima podemos concluir que a capacidade de detecção de hospedeiros específicos pelos mosquitos é bastante complexa e ao mesmo tempo perigosa, pois a necessidade das fêmeas por uma alimentação sanguínea leva à possibilidade de transmissão de doenças. Devido a isso, a preocupação em se evitar que os mosquitos causem epidemias tem aberto portas para o desenvolvimento de novos métodos de controle. Esses métodos não tratam somente de descobrir novas moléculas inseticidas, mas também de alternativas para impedir que as fêmeas consigam picar seu hospedeiro. Formas de proteção pessoal têm surgido no mercado como por exemplo os repelentes eletrônicos e as telas utilizadas como mosquiteiro, as quais necessitam ser avaliadas para confirmação de sua eficácia. Para isso, diversas metodologias podem ser utilizadas, tanto em campo como em laboratório, sendo que a utilização de sistemas fechados, como câmaras-teste, são opções relevantes, pois os estímulos atrativos de um hospedeiro podem ser liberados de forma controlada dentro desses sistemas, havendo resposta positiva dos mosquitos e obtenção de dados que mostram o comportamento desses insetos em relação aos produtos avaliados. No presente trabalho foi desenvolvido um sistema de câmara-teste onde foram avaliadas, para duas espécies de *Aedes*, ondas sonoras propaladas como repelentes, e estudou-se a eficiência de transposição pelos mosquitos de telas comerciais de proteção, incluindo uma tela utilizada como mosquiteiro.

1.2 Referências Bibliográficas

ACREE, F.; TURNER, R.B.; GOUCK, H.K.; BEROZA, M.; SMITH, N. L-lactic acid - A mosquito attractant isolated from humans. **Science**, v. 161, n 3848, p. 1346-1348, 1968.

ALLAN, S.A. Physics of mosquito vision - an overview. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n 2, p. 266-271, 1994.

ALLAN, S.A.; DAY, J.F.; EDMAN, J.D. Visual ecology of biting flies. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 297-316, 1987.

BEIER, J.C. Malaria parasite development in mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 519-43, 1998.

BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; BARNARD, D.R.; SCHREEK, C.E.; YOST, R.A. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 747-756, 2000.

BIDLINGMAYER, W.L. How mosquitoes see traps: role of visual responses. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 272-279, 1994.

BRAKS, M.A.H.; MEIJERINK, J.; TAKKEN, W. The response of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to two components of human sweat, ammonia and L-lactic acid, in an olfactometer. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 142-148, 2001.

BROWN, A.W.A. Factors which attract *Aedes* mosquitoes to humans. **Proceedings 10th International Congress Entomology**, Montreal, ano 1956, v. 3, p. 757-763, 1958.

BROWN, MD; HENDRIKZ, J.K.; GREENWOOD, J.G.; KAY, B.H. Evaluation of *Mesocyclops aspericornis* (Cyclopoida: Cyclopidae) and *Toxorhynchites speciosus* as integrated predators of mosquitoes in tire habitats in Queensland. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 12, n. 3, p. 414-420, Part 1, 1996.

BROWNE, L.B. Host-related responses and their suppression: some behavioral considerations. In: SHORREY, H.H.; McKELVEY Jr., J.J. **Chemical control of insect behavior**. New York: John Wiley & Sons, 1977.

BURKETT, D.A.; LEE, W.J.; LEE, K.W.; KIM, H.C.; LEE, H.I.; LEE, J.S.; SHIN, E.H.; WIRTZ, R.A.; CHO, H.W.; CLABORN, D.M.; COLEMAN, R.E.; KLEIN, R.A. Light, carbon dioxide, and octenol-baited mosquito trap and host-seeking activity evaluations for mosquitoes in a malarious area of the Republic of Korea. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 3, p. 196-205, 2001.

CILEK, J.E.; KLINE, D.L. Adult biting midge response to trap type, carbon dioxide, and an octenol-phenol mixture in northwestern Florida. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 3, p. 228-231, 2002.

CLEMENTS, A.N. **The Biology of Mosquitoes - Sensory Reception and Behavior**, vol. 2, CABI Publishing, 1999.

- CONSOLI, R.A.G.B; OLIVEIRA, R.L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 1994.
- COOPER, R.D.; FRANCES, S.P.; POPAT, S.; WATERSON, D.G.E. The effectiveness of light, 1-octen-3-ol, and carbon dioxide as attractants for anopheline mosquitoes in Madang Province, Papua New Guinea. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 20, n. 3, p. 239-242, 2004.
- CORK, A. Olfactory basis of host location by mosquitoes and other haematophagous Diptera. Olfaction in mosquito-host interactions, **CIBA Foundation Symposia**, v. 200, p. 71-88, 1996.
- COSTANTINI, C.; BIRKETT, M.A.; GIBSON, G.; ZIESMANN, J.; SAGNON, N.F.; MOHAMMED, H.A.; COLUZZI, M.; PICKETT, J.A. Electroantennogram and behavioral responses of the malaria vector *Anopheles gambiae* to human-specific sweat components. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, n. 3, p. 259-266, 2001.
- DAVID, C.T.; KENNEDY, J.S.; LUDLOW, A.R.; PERRY, J.N.; WALL, C. A reappraisal of insect flight towards a distant point source of wind-borne odour. **Journal of Chemical Ecology**, v. 8, p. 1207-1215, 1982.
- DAVIS, E.E.; SOKOLOVE, P.G. Lactic acid sensitive receptors on antennae of mosquito, *Aedes aegypti*. **Journal of Comparative Physiology**, v. 105, n.1, p. 43-54, 1976.
- DAVIS, E.E. Insect repellents: concepts of their mode of action relative to potential sensory mechanisms in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 22, p. 237-243, 1985. DAVIS, E.E.; HAGGART, D.A.; BOWEN, M.F. Receptors mediating host-seeking behaviour in mosquitoes and their regulation by endogenous hormones. **Insect Science and its Application**, v. 8, p. 637-641, 1987.
- DAVIS, E.E.; BOWEN, M.F. Sensory physiological basis for attraction in mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 316-325, 1994.
- DE JONG, R.; KNOLS, B.G.J. Selection of biting sites on man by two malaria mosquito species. **Experientia**, v. 51, p. 80-84, 1995a.
- DE JONG, R.; KNOLS, B.G.J. Olfactory responses of host-seeking *Anopheles gambiae s.s.* Giles (Diptera: Culicidae). **Acta Tropical**, v. 59, p. 333-335, 1995b.
- DEKKER, T.; TAKKEN, W.; KNOLS, B.G.J.; BOUMAN, E.; VAN DE LAAK, S.; De BEVER, A.; HUISMAN, P.W.T. Selection of biting sites on a human host by *Anopheles*

- gambiae* s s, *An. arabiensis* and *An. quadriannulatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 87, n. 3, p. 295-300, 1998.
- DEKKER, T; TAKKEN, W.; CARDÉ, R.T. Structure of host-odour plumes influences catch of *Anopheles gambiae* s.s. and *Aedes aegypti* in a dual-choice olfactometer. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 124-134, 2001.
- DETHIER, V.G.; BROWN, L.B.; SMITH, C.N. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 53, p. 134-136, 1960.
- DOGAN, E.B.; AYRES, J.W.; ROSSIGNOL, P.A. Behavioural mode of action of deet: inhibition of lactic acid attraction. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, p. 97-100, 1999.
- EIRAS, A.E.; JEPSON, P.C. Host location by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): a wind tunnel study of chemical cues. **Bulletin of Entomological Research**, v. 81, p. 151-160, 1991.
- EIRAS, A.E.; JEPSON, P.C. Responses of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to host odours and convection currents using an olfactometer bioassay. **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 20-211, 1994.
- FONSECA, D.M.; KEYGHOBADI, N.; MALCOLM,, C.A.; MEHMET, C.; SCHAFFNER,F; MOGI, M.; FLEISHER, R.C.; WILKERSON, R.C. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. **Science**, v. 303, n. 5, p. 1535-1538, 2004.
- FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**. vol. 2, São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 2002.
- FOX, A.N.; PITTS, R.J.; ROBERTSON, H.M.; CARLSON, J.R.; ZWIEBEL, L.J. Candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* and evidence of down-regulation in response to blood feeding. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 98, n. 25, p. 14693-14697, 2001.
- FUNDAÇÃO Nacional de Saúde. Dengue no Brasil Situação Atual. Curitiba, PR, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/Seminario/Dengue/funasa.htm>>. [Acesso em: 16 out. 2003].
- GARRET, L. **A próxima peste - Novas doenças num mundo de desequilíbrio**. Rio de Janeiro: Ed. Nova Fronteira, 1994.

GEIER, M.; BOSCH, O.J.; BOECKH, J. Influence of odour plume structure on upwind flight of mosquitoes towards hosts. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, n. 12, p. 1639-1648, 1999.

GIBSON, G.; TORR, S.J. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, p. 2-23, 1999.

GILLIES, M.T.; WILKES, T.J. A comparison of the range of attraction of animal baits and of carbon dioxide for some West African mosquitoes. **Bulletin of Entomological Research**, v. 59, p. 441-456, 1969.

GILLIES, M.T. The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera: Culicidae): a review. **Bulletin of Entomological Research**, v. 70, p. 525-532, 1980.

GLARE, T.R.; O'CALLAGHAM, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley and Sons; 2000. p. 350.

GODDARD, L.B.; ROTH, A.E.; REISEN, W.K.; SCOTT, T.W. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. **Emerging Infectious Diseases**, 8(12): 1385-1391, 2002.

GONÇALVES, A.J.R. Mudanças dos padrões epidemiológicos e clínicos das doenças infecciosas nos últimos 35 anos. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 68, n. 1/2, p. 19-37, 1995.

HOCKING, B. Blood-sucking behavior of terrestrial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 16, p.1-26, 1971.

KHAN, A.A.; MAIBACH, H.I.; STRAUSS, W.G.; FENLEY, W.R. Screening humans for degrees of attractiveness to mosquitoes. **Journal of Economic Entomology**, v. 58, p. 694-697, 1965.

KLOWDEN, M.J. Blood, Sex, and the Mosquito. **BioScience**, v. 45, n. 5, p. 326-331, 1995.

KNOLS, B.G.J.; MEIJERINK, J. Odors influence mosquito behavior. **Science & Medicine**, v. 4, n. 5, p. 56-63, 1997.

KNOLS, B.G.J.; vanLOON, J.J.A.; CORK, A.; ROBINSON, R.D.; ADAM, W.; MEIJERINK, J.; DeJONG, R.; TAKKEN, W. Behavioural and electrophysiological responses of the female malaria mosquito *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to Limburger cheese volatiles. **Bulletin of Entomological Research**, v. 87, n. 2, p. 151-159, 1997.

- KNUDSEN, A.B.; SLOOFF, R. Vector-borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 70, n. 1, p. 1-6, 1992.
- KUSAKABE, Y.; IKESHOJI, T. Comparative attractancy of physical and chemical stimuli to aedine mosquitoes. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 41, n. 3, p. 219-225, 1990.
- LAND, M.F.; GIBSON, G.; HORWOOD, J. ZEIL, J. Fundamental differences in the optical structure of the eyes of nocturnal and diurnal mosquitoes. **Journal of Comparative Physiology A Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v. 185, n. 1, p. 91-103, 1999.
- LEHANE, M.J. **Biology of blood-sucking insects**. London: Chapman & Hall, 1996. cap. 1 e 2.
- MAIBACH, H.I.; SKINNER, W.A.; STRAUSS, W.G.; KHAN, A.A. Factors that attract and repel mosquitoes in human skin (*Aedes aegypti*). **The Journal of the American Medical Association**, v. 196, p. 263-166, 1966.
- MANSON, P. On the development of *Filaria sanguinis hominis* and on the mosquito considered as a nurse. **Journal of the Linnean Society of London**, v. 14, p. 304-11, 1878.
- MEIJERINK, J.; VANLOON, J.J.A. Sensitivitics of antennal olfactory neurons of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to carboxylic acids. **Journal of Insect Physiology**, v. 45, p. 365-373, 1999.
- MELO, A.S.; ANDRADE, C.F.S. Differential predation of the planarian *Dugesia tigrina* on two mosquito species under laboratory conditions. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 1, p. 81-83, 2001.
- McIVER, S.B. Sensory aspects of mate-finding behavior in male mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 17, p. 54-57, 1980.
- McIVER, S.B. A model for the mechanism of action of the repellent Deet of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 18, n. 5, p. 357-361, 1981.
- McIVER, S.B. Sensilla of mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 19, n. 5, p. 489-535, 1982.
- MOHSEN, Z.H.; JAWAD, A.-L.M.; AL-SAADI, M.; AL-NAIB, A. Anti-oviposition and inseticidal activity of *Imperata cylindrical* (Gramineae). **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, p. 441-442, 1995.

MURLIS, J.; JONES, C.D. Fine-scale structure of odour plumes in relation to insect orientation to distant pheromone and other attractant sources. **Physiological Entomology**, v. 6, p. 71-86, 1981.

PATES, H.V.; TAKKEN, W.; CURTIS, C.F.; HUISMAN, P.W.; AKINPELU, O.; GILL, G.S. Unexpected anthropophagic behaviour in *Anopheles quadriannulatus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, p. 293-298, 2001a.

PATES, H.V.; TAKKEN, W.; STUKE, K.; CURTIS, C.F. Differential behaviour of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human and cow odours in the laboratory. **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, p. 289-296, 2001b.

QIU, Y.T.; SMALLEGANCE, R.C.; HOPPE, S.; VAN LOON, J.J.A.; BAKKER, E.J.; TAKKEN, W. Behavioural and electrophysiological responses of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* Giles sensu stricto (Diptera : Culicidae) to human skin emanations. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 4, p. 429-438, 2004.

ROMI, R.; PONTUALE, G.; CIUFOLINI, M.G.; FIORENTINI, G.; MARCHI, A.; NICOLLETTI, L.; COCCHI, M.; TAMBURRO, A. Potential vectors of West Nile virus following an equine disease outbreak in Italy. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 14-19, 2004.

SANTOS, L.U.; ANDRADE, C.F.S.; CARVALHO, G.A. Biological control of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae in trap tires by *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopidae) in two field trials. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 2, p. 161-162, 1996.

SHIRA, Y.; FUNADA, H.; KAMIMURA, H.; SEKI, T.; MOROBASHI, M. Landing sites on the human body preferred by *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 2, p. 97-99, 2002.

SCHRECK, C.E.; KLINE, D.L.; CARLSON, D.A. Mosquito attraction to substances from the skin of different humans. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 6, n. 3, p. 406-410, 1990.

SKINNER, W.A.; TONG, H.; PEARSON, T.; STRAUSS, W.; MAIBACH, H. Human sweat components attractive to mosquitoes. **Nature**, London, v. 207, p. 661-662, 1965.

SMITH, C.N.; SMITH, N.; GOUCK, H.K.; WEIDHAAS, D.E.; GILBERT, I.H.; MAYER, M.S.; SMITTLE, B.J.; HOBAUER, A. L-lactic acid as a factor in attraction of *Aedes*

aegypti (Diptera: Culicidae) to human hosts. **Annals of the Entomology Society of America**, v. 63, n. 3, p. 760-768, 1970.

SNOW, R.W.; GUERRA, C. A., NOOR, A. M., MUYINT, H. Y.; HAY, S. I. The global distribution on clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature**, v. 434, p. 214-217, 2005.

SUTCLIFE, J.F. Distance orientation of biting flies to their hosts. **Insect Science and its Application**, v. 8, p. 611-616, 1987.

WAAGE, J.K. The evolution of insect/ vertebrate associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 12, p. 187-224, 1979.

WOODWORTH, B.L.; AATIKINSON, C.T.; LAPOINTE, D.A.; HART, P.J., SPIEGEL, C.S.; TWEED, E.J.; HENNEMAN, C.; LEBRUN, J.; DENETTE, T.; DEMOTS, R., KOZAR, K.L.; TRIGLIA, D.; LEASE, D.; GREGOR, A.; SMITH, T.; DUFFY, D. Host population persistence in the face of introduced vector-borne diseases: Hawaii amakihi and avian malaria. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 102, n. 5, p. 1531-1536, 2005.

WORLD Health Organization: WHO Expert Committee on Malaria. **World Health Organization Technical Report Series**, v. 892, p. 1-74, 2000.

WRIGHT, R.H.; KELLOGG, F.E. Response of *Aedes aegypti* to moist convection currents. **Nature**, London, v. 194, p. 402-403, 1962.

YOUNG, G.D.; EVANS, S. Safety and efficacy of DEET and permethrin in the prevention of arthropod attack. **Military Medicine**, v. 163, n. 5, p. 324-330, 1998.

ZWIEBEL, L.J.; TAKKEN, W. Olfactory regulation of mosquito-host interactions. **Insect Biochemical and Molecular Biology**, v. 34, p. 645-652, 2004.

2. OBJETIVOS

2.1. Desenvolver um conjunto de câmaras para testes e estudos com mosquitos *Aedes*, otimizando um sistema já descrito na literatura.

2.2. Caracterizar e avaliar a eficiência de aparelhos comerciais e um software, repelentes eletrônicos, utilizando-se *Ae. aegypti* nas condições da câmara-teste desenvolvida.

2.3. Avaliar a eficiência de transposição de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* quanto à telas nas condições da câmara-teste desenvolvida.

3. CRIAÇÃO E MANUTENÇÃO DOS MOSQUITOS UTILIZADOS NOS EXPERIMENTOS

Os métodos descritos abaixo são comuns para os três capítulos do presente trabalho, e são apresentados aqui no sentido de evitar sua repetição.

Duas espécies foram utilizadas nos experimentos: *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*. Uma colônia da primeira espécie foi estabelecida no Depto. de Zoologia, IB – Unicamp a partir de 1993. A colônia de *Ae. aegypti* (Linhagem Rockefeller – CDC Atlanta, EUA) foi obtida do Laboratório de Culicídeos da SUCEN (Marília, SP) em 1999.

As larvas foram mantidas em recipientes plásticos com cerca de 1,5 L de água de torneira, sendo alimentadas com ração triturada para cães misturada com levedo de cerveja. Os adultos foram mantidos em gaiolas de metal de 93x43x75 cm com tela fina de aço e alimentados diariamente com solução de mel a 10%. Duas vezes por semana foi oferecido sangue humano, pela exposição da mão do pesquisador. Ambas as fases de desenvolvimento foram mantidas à temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80\pm 5\%$.

Antecedendo cada avaliação, um conjunto de cerca de 200 fêmeas de 5 a 7 dias de idade foram alimentadas na mão do pesquisador por um período de aproximadamente 30 min. Após a alimentação sanguínea essas fêmeas foram mantidas em gaiolas de criação com solução de mel a 10% e recipientes para oviposição durante um período de cinco dias.

No momento de cada ensaio, as fêmeas foram coletadas com um aspirador elétrico (6V) por meio da exposição da mão dentro da gaiola de criação, sendo que apenas as que intentaram picar foram coletadas. Essas foram mantidas no recipiente coletor durante 2 min com o intuito de amenizar o estresse da coleta. Após esse período foram liberadas em uma seção do sistema aqui desenvolvido, onde foram mantidas por 1 min, enquanto que em outra seção o pesquisador inseriu sua mão.

CAPÍTULO I

Desenvolvimento de um Sistema de Câmaras para Estudos com Adultos de *Aedes aegypti* (Linnaeus) e *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae)

RESUMO

O desenvolvimento de sistemas fechados para estudos comportamentais de insetos tem sido freqüente, sendo que diversos modelos como caixas, quadradas ou retangulares, e aqueles em forma de Y são alguns exemplos já avaliados. Estudos sobre o comportamento de mosquitos nesses sistemas têm levado ao conhecimento sobre a atração de fêmeas e machos para fontes alimentares, assim como a resposta para substâncias inseticidas e repelentes. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema de câmaras, adaptado daquele proposto por Klowden & Lea (1978), para estudos comportamentais com mosquitos. O sistema aqui denominado Câmara K&L-Unicamp, foi fabricado em isopor, consistindo em um tubo de 1,25 m de comprimento, dividido nas seções A (25 cm) e B (100 cm), conectado a uma caixa de isopor comercial de 50 L nas medidas 36x36x57 cm, consistindo na seção C. Alguns estímulos como a mão de um pesquisador e a luz artificial (lâmpada fluorescente 24W) foram colocados na seção C para atração de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Ainda na seção C foi colocado um *cooler* de computador para distribuição de plumas de odor pelo tubo com o objetivo de orientar os mosquitos até a fonte atrativa. Grupos de 10 fêmeas foram liberados na seção A e, após 10 min de avaliação foram capturados na seção C. A avaliação da efetividade do sistema demonstrou uma atração média para ambas espécies de 95%, em 10 repetições. As fêmeas foram atraídas e se mantiveram ativas, tentando picar a mão do pesquisador, em todo o tempo de exposição. A Câmara K&L-Unicamp demonstrou ser tão efetiva quanto o sistema de Klowden & Lea (1978), com a vantagem de ter sido desenvolvida com um material de menor custo e maior praticidade no manuseio.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de sistemas fechados, como olfatômetros, câmaras-teste e túneis de vento para estudos comportamentais com culicídeos, tem se mostrado conveniente para obtenção de dados relativos ao comportamento. Nesses sistemas os indivíduos avaliados são induzidos a responder a um determinado estímulo, como o de um hospedeiro, de um inseticida ou outra substância que pode levar a atração ou repelência do inseto (Smith et al., 1970; Price et al., 1979; Carlson et al., 1992).

Atualmente, os modelos já desenvolvidos são os mais variados, podendo simplesmente ser uma caixa quadrada ou retangular, com tubos para inserção de estímulos, passando por modelos em forma de dois funis acoplados, e até os mais sofisticados, em forma de “Y”, com liberação de odor, temperatura e umidade controlados, além da filtragem do ar no sistema.

Em 1965, Gouck & Schreck desenvolveram um olfatômetro que consistiu em uma caixa retangular de madeira onde foram colocados dois tubos de plástico acrílico na mesma extremidade para inserção dos estímulos atrativos para mosquitos. Os mosquitos eram soltos na caixa e após a atração eram capturados nos tubos.

Feinsod & Spielman (1979) desenvolveram um sistema constituído de dois funis acoplados entre si, de modo que as extremidades mais largas ficavam opostas. Esse sistema funciona verticalmente com os odores atrativos difundindo de forma passiva e ascendente, sendo os mosquitos liberados na parte superior do sistema.

Omer (1979) utilizou um sistema denominado túnel de vôo, descrito por Omer & Gillies em 1971, que consistiu em várias seções retangulares que podiam ser desmontadas e quando acopladas formavam uma câmara retangular. As câmaras eram fechadas por meio de divisórias após os mosquitos serem atraídos por um estímulo que era colocado em uma das seções.

Em 1998, Mboera et al. utilizaram um sistema, denominado olfatômetro de dupla escolha, que possui basicamente o mesmo princípio daquele desenvolvido por Gouck & Schreck (1965), porém com algumas sofisticções. O sistema de Mboera et al. (1998) foi feito com plástico transparente e, internamente, a temperatura, umidade relativa e velocidade do vento foram medidas. Além disso, uma corrente de ar foi produzida

internamente para que se pudesse limpar o ar e, dessa forma, não haver nenhum estímulo secundário que modificasse a resposta dos mosquitos.

Posey et al. (1998) desenvolveram um modelo de olfatômetro para estudos com mosquitos, onde três caixas de acrílico retangulares, sobrepostas, foram montadas e em uma das extremidades de cada caixa, eram colocados dois tubos como gaiolas. Em uma das extremidades de cada tubo foi colocado um emissor de vento funcionando de forma a atrair os mosquitos para o estímulo. Em todo o sistema, a umidade relativa e a temperatura foram mantidas constantes filtrando-se o ar externo por meio de um filtro de carvão vegetal.

Dogan & Rossignol (1999) modificaram o olfatômetro desenvolvido por Feinsod & Spielman (1979), e utilizaram-no para diferenciar e quantificar a atração, inibição e repelência de mosquitos a diferentes substâncias químicas. Esse novo sistema foi denominado “repelômetro” (*repelometer*), e as modificações consistiram em manter dois funis, com as extremidades mais finas opostas, e nessas extremidades acoplaram-se duas câmaras. Todo o sistema foi formado então por três câmaras, sendo os mosquitos liberados na câmara mediana. Dessa forma podiam voar para uma das extremidades onde haveria o estímulo.

Um outro olfatômetro de dupla escolha, em formato de “Y”, foi desenvolvido por Geier & Boeckh (1999), para avaliação da atratividade a odores de hospedeiros. Esse sistema foi feito de plástico transparente com câmaras de PVC removíveis nas extremidades. Em duas câmaras foram colocadas telas que podiam ser movimentadas de modo a liberar e impedir a passagem dos mosquitos. Internamente o ar pressurizado foi limpo, utilizando-se um filtro de carvão vegetal. Água deionizada foi utilizada para umidificar o ar. Fêmeas de *Ae. aegypti* foram liberadas na extremidade única do sistema, e estímulos químicos como CO₂ e odores extraídos da pele humana, foram oferecidos aos mosquitos.

Sharphington (2000) desenvolveu um túnel de vento para ensaios de repelência com mosquitos. O sistema consistiu em um túnel retangular conectado a uma armação retangular de aço, onde foram posicionados quatro cilindros, por onde eram passados o ar filtrado e o odor estimulante, assim como os mosquitos que eram atraídos até uma câmara onde estava posicionada a fonte de odor.

Chareonviriyaphap et al. (2002) desenvolveram um modelo de câmara-teste para estudar o comportamento de mosquitos culicídeos respondendo à ação residual de inseticidas. Esse sistema foi confeccionado em alumínio, consistindo em várias câmaras conectadas umas as outras, e em cada extremidade um funil, por onde os mosquitos poderiam afastar-se ou não do contato com o inseticida.

Além dos sistemas desenvolvidos com o intuito de se avaliar substâncias químicas, há também aqueles destinados a estudar o comportamento dos mosquitos em relação ao som. Obviamente, dependendo do modelo em que o sistema é desenvolvido, há possibilidade do uso para ambas as finalidades.

Singleton (1977) desenvolveu uma caixa retangular com três compartimentos, sendo que em um desses era colocado um hospedeiro animal e as fêmeas de *Ae. aegypti* tinham que voar contra uma fonte sonora para se alimentar.

Lewis et al. (1982) desenvolveram um túnel de 6 m de comprimento e em uma das extremidades colocou-se um aparelho eletrônico para analisar a possível influência das ondas sonoras na distribuição dos mosquitos pelo túnel.

Em 1978, Klowden & Lea utilizaram um olfatômetro para avaliação da atração de fêmeas de *Ae. aegypti* para alimentação sanguínea em hospedeiro humano. Esse sistema, por sua vez, foi utilizado por Foster & Lutes (1985) para avaliação de repelentes eletrônicos. O sistema consistiu em quatro câmaras, sendo que um compartimento foi utilizado para inserção da mão de um pesquisador e para liberar dióxido de carbono por meio da respiração, sendo acoplado a um outro compartimento cilíndrico, denominado armadilha. À armadilha, foi acoplado um túnel de plástico acrílico transparente, denominado câmara de vôo, e junto a essa, foi acoplado um último compartimento, denominado câmara de segurança. Um emissor de vento (*cooler* de computador) foi inserido na câmara de segurança e funcionou de forma a sugar o odor da mão do pesquisador. Entre a câmara de segurança e a armadilha, foram colocadas divisórias para manter as fêmeas presas nesses compartimentos. Na câmara de segurança eram liberadas fêmeas de *Ae. aegypti*, que ficavam expostas aos estímulos atrativos. Após o período de exposição, os mosquitos eram contados em todas as câmaras.

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema de câmaras, adaptado daquele proposto por Klowden & Lea (1978), para estudos comportamentais com mosquitos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho foi desenvolvido um sistema de câmaras, que serão aqui denominadas seções com base no sistema originalmente proposto por Klowden & Lea (1978) e depois utilizado por Foster & Lutes (1985). Convencionou-se denominar esse sistema como Câmara K&L-Unicamp, enquanto aquele desenvolvido por Klowden & Lea (1978) como Câmara K&L. O sistema foi por nós montado em isopor e consistiu em um tubo de 1,25 m de comprimento, com 20 cm de diâmetro interno livre, conectado a uma caixa (50 L) nas medidas 36x36x57 cm. A conexão foi feita por pressão, ficando o tubo e a caixa presos por meio de elásticos de borracha. Em uma das laterais da caixa foi feito um orifício onde foi colocada uma manga de pano para que o pesquisador pudesse inserir a mão no momento dos testes e manusear os mosquitos dentro da caixa. Ao lado desse orifício, outro orifício ainda foi feito para inserir uma haste, com uma pena fixada à sua extremidade, para que as fêmeas que porventura viessem pousar para picar fossem espantadas no momento dos testes. Acima dos orifícios, mas ainda na lateral, foi feita uma abertura para observação dos mosquitos e na parte superior da caixa foi feita uma janela de 15x15 cm vedada com acrílico transparente onde foi colocada uma lâmpada, mas essa também serviu para observar os mosquitos (Figura 2).

O tubo foi dividido em duas partes, formando-se uma seção distal de 25 cm e outra de 100 cm. Todo o sistema ficou constituído portanto de três seções: A, B e C. Para facilitar a recaptura dos mosquitos no término de cada experimento, o tubo que constituiu a seção B foi dividido ainda em duas partes de 50 cm cada (Figuras 1 e 2).

Klowden & Lea (1978) descrevem as seções do sistema por eles utilizado como câmara de segurança (equivalente em nosso sistema à seção A), câmara de vôo (equivalente à seção B) e armadilha (equivalente à caixa de isopor, seção C). No sistema desenvolvido na Unicamp foram colocados panos de lycra nas duas extremidades de cada seção, para vedação após cada repetição do experimento. Entre as seções A-B e B-C foi colocado uma

divisória fina de madeira para aprisionar os mosquitos respectivamente nas câmaras A e C, antes e depois do período de avaliação (Figura 1). A divisória A-B podia ser removida graças a um fio transpassado a uma roldana fixada no teto da sala de experimento.

A mão do pesquisador e uma fonte de luz foram colocadas como atrativos na seção C. Nessa mesma seção foi colocado ainda um gerador de vento (*cooler* de computador) de 12 V (marca Yate Loon, modelo DC FAN D80SH-12), com um adaptador (Universal AC/DC Adapter CA-44, da marca Coby®) calibrado para 3V. No momento dos ensaios, o *cooler* emitia um vento leve em direção ao tubo formando assim uma corrente de ar e uma pluma de odor da mão do pesquisador. A velocidade do vento foi medida com um anemômetro (marca Dwyer®) a 2,0 cm do *cooler*. A fonte de luz foi posicionada sobre a janela de acrílico sobre a seção C (Figura 1). Inicialmente utilizou-se uma lâmpada eletrônica Compacta Flúor *day light* branca, 9W, marca FLC®. Posteriormente, essa foi substituída por uma lâmpada fluorescente compacta flúor, marca Ecolume, de 24 W. O iluminamento das duas lâmpadas, internamente à seção C, foi medido por meio de um Luxímetro digital (Lutron, modelo LX-107) a 20 cm de distância da lâmpada.

Figura 1 – Esquema, vista lateral, da Câmara K&L-Unicamp, mostrando as seções A, B e C, as divisórias entre as seções A-B e B-C (1), a posição do *cooler*, direcionado para o tubo (2) e a fonte de luz (3).

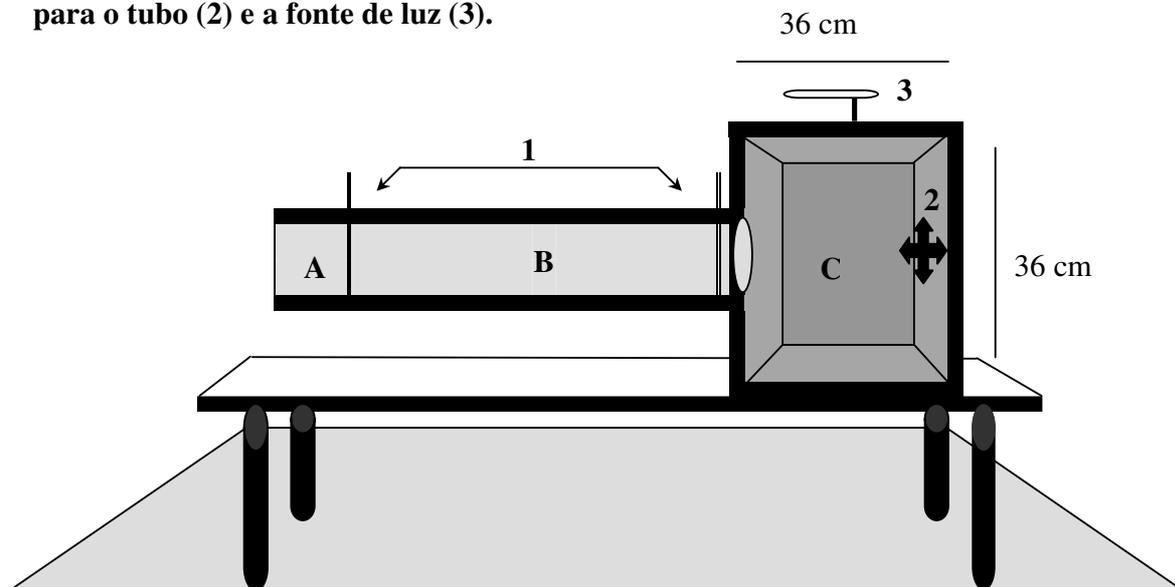
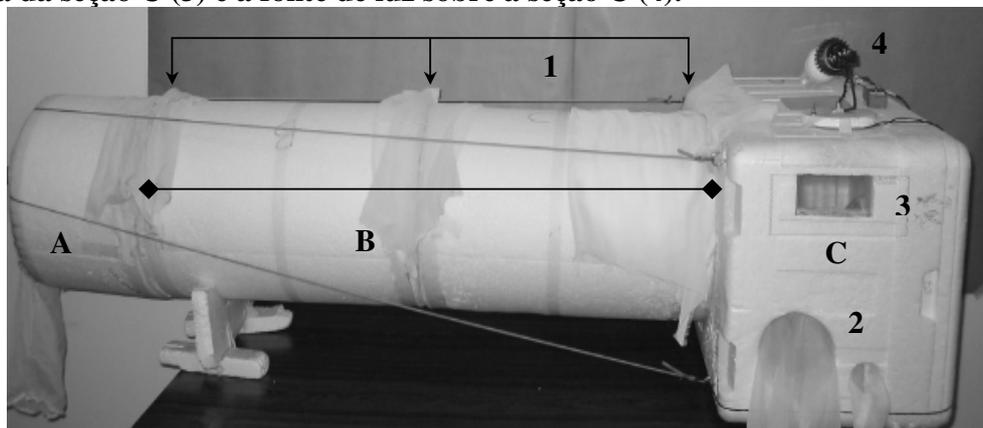


Figura 2 – Câmara K&L-Unicamp, mostrando as seções A, B e C, com seus respectivos panos de lycra para fecha-las (1), os orifícios para inserção da mão do pesquisador (maior) e haste com pena (menor) (2), uma janela para observação interna da seção C (3) e a fonte de luz sobre a seção C (4).



Para constatar a efetividade conjunta da fonte de luz e da mão como atrativos foram feitos testes em laboratório à temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $80\pm 5\%$, utilizando-se grupos diferentes de 10 fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

As avaliações consistiram em 10 repetições durante um período de 10min (600 seg) cada, registrando-se o número de picadas e observando-se se essas formas de atração exerceriam de fato influência no comportamento dos mosquitos. Ao final de cada repetição, as câmaras foram fechadas com o tecido de lycra e as duas divisórias, e os indivíduos foram coletados com um aspirador elétrico e contados.

Procedimento Estatístico – Utilizou-se a Análise de Variância (nível de significância de 5%) (BioEstat 3.0 – Ayres et al. (2003) para se comparar as duas espécies de mosquitos, tomando a quantidade de mosquitos que chegaram até a seção C, sendo que a hipótese nula era que a mesma quantidade de fêmeas chegariam até a seção C e a hipótese alternativa era que quantidades diferentes de fêmeas chegariam à seção C.

O mesmo teste foi utilizado para se comparar o número de tentativas de picadas para cada espécie. Sendo que a hipótese nula era que ambas espécies teriam a mesma frequência de ataque e a hipótese alternativa era que uma das espécies teria maior frequência de ataque durante o período de contagem.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema de câmaras desenvolvido no presente trabalho, baseado naquele proposto por Klowden & Lea (1978), foi em parte otimizado no sentido de que facilitou o manuseio durante os experimentos. Os comentários a respeito do sistema desenvolvido na Unicamp serão baseados no trabalho de Foster & Lutes (1985).

No presente trabalho a Câmara K&L-Unicamp foi avaliada em 10 repetições, obtendo-se uma atração média de 95,0% (d.p. 0,70) das fêmeas de *Ae. aegypti* para a seção C, enquanto que nas seções A e B ficaram respectivamente apenas 4% (d.p. 0,67) e 1% (d.p. 0,31) dos mosquitos. Já para *Ae. albopictus* houve atração de 94% (d.p. 0,80) para a seção C, e 3% (0,70) para a seção A e 3% (0,00) para a seção B (Tabela 1). O teste ANOVA não demonstrou diferença significativa quanto ao número de fêmeas que chegaram até a seção C, na comparação entre as espécies (seção A: $F=0,1059$; d.p. 0,7; $p>0,05$ / seção B: $F=0,7200$; d.p. 0,31; $p>0,05$ e seção C: $F=0,0826$; d.p. 0,75; $p>0,05$). Os resultados de Foster & Lutes (1985) com os aparelhos também desligados, quando comparados ao presente resultado, mostram semelhança na resposta das fêmeas de *Ae. aegypti* para atração ao odor da mão do pesquisador e respiração humana.

No trabalho realizado por Foster & Lutes (1985) foram feitas avaliações de alguns repelentes eletrônicos com várias espécies de mosquitos, entre elas *Ae. aegypti*. Quando esses pesquisadores testaram todos os aparelhos eletrônicos ao mesmo tempo, em quatro repetições, houve uma elevada e indistinta atração para a última câmara (ca. 82%) com os aparelhos desligados. Na avaliação com os aparelhos individualmente, em duas repetições, houve atração média de mais de 90% quando os aparelhos estavam desligados.

Quanto ao número médio de tentativas de picadas, encontramos que a frequência de ataque (número de picadas) para ambas espécies permaneceu em uma certa constância durante todo o período de avaliação (600seg). Por isso foi possível determinar o número de picadas a cada segundo e assim obter a média e o desvio padrão. Dessa forma, observa-se que *Ae. aegypti* foi mais insistente tentando picar com maior frequência do que *Ae. albopictus*. (Tabela 2). A Análise de Variância comparando as duas espécies demonstrou que houve diferença significativa entre as espécies, sendo $F=0,391$; d.p. 0,14; $p<0,05$.

Tabela 1 – Percentual de mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, atraídos totalmente (seção C), parcialmente (seção B) ou não atraídos (Seção A) na Câmara K&L-Unicamp em 10 repetições (n=10).

Repetição	<i>Ae. aegypti</i>			<i>Ae. albopictus</i>		
	Seções			Seções		
	A	B	C	A	B	C
1	10	0	90	20	0	80
2	0	0	100	0	0	100
3	0	10	90	0	20	80
4	0	0	100	0	0	100
5	0	0	100	10	0	90
6	20	0	80	0	0	100
7	10	0	90	0	10	90
8	0	0	100	0	0	100
9	0	0	100	0	0	100
10	0	0	100	0	0	100
Atração média	4,0 ^{1a}	1,0 ^b	95,0 ^c	3,0 ^a	3,0 ^b	94,0 ^c
Desvio Padrão	0,67	0,31	0,70	0,67	0,67	0,80

¹Letras iguais – não houve diferença significativa; Letras diferentes – houve diferença significativa

O *cooler*, como já descrito, funcionou na Câmara K&L-Unicamp em 3V, formando uma leve corrente de ar pelo tubo, o que auxiliou a atração das fêmeas. Isso demonstra que a emissão de ar com o intuito de espalhar o odor pelo sistema é um procedimento tão eficiente quanto o de sugar o odor, como utilizado por Foster & Lutes (1985), para melhorar a resposta das fêmeas. A velocidade do vento, determinada pelo anemômetro, à 2,0 cm do *cooler*, consistiu em 4,8 Km/h.

Um fator que se acredita ter interferido na atração dos mosquitos, foi a luz produzida pela lâmpada fluorescente. Em experimentos preliminares, os mesmos fatores atrativos (mão e fonte de luz) foram utilizados. No entanto, inicialmente foi utilizada uma lâmpada eletrônica compacta flúor *day light* branca de 9 W com uma taxa de iluminamento de 525 lux (à 20 cm) e os resultados não foram satisfatórios, obtendo-se atrações de apenas 60 a 70%. A partir do momento em que uma lâmpada fluorescente branca de 24 W com taxa de iluminamento de 1460 lux (à 20 cm) foi utilizada, a atração passou a ser maior, chegando-se aos resultados descritos na Tabela 1.

Foster & Lutes (1985) não descrevem o tempo que as fêmeas demoraram a voar da câmara de segurança até a armadilha no seu sistema. Isso foi observado no presente trabalho e estimou-se que os indivíduos demoram cerca de 5 seg para perceberem o

estímulo e voarem da seção A até a seção C. Também foi observado que a atividade dos mosquitos após chegarem à caixa, permanece em uma certa constância, ou seja, o ataque continua ininterrupto durante todo o tempo de avaliação, que foi de 10 min (600 seg). Isso levou a possibilidade de durante a avaliação, ser contado o número de tentativas de picadas em diferentes intervalos de tempo, e quando da avaliação de algum produto como repelentes eletrônicos, além da atração, pode-se avaliar se esses aparelhos evitam as picadas das fêmeas como um repelente de uso tóxico. A Tabela 2 apresenta o número de tentativas de picadas pelas fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*.

Tabela 2. Número de tentativas de picadas a cada segundo, durante 600 seg, média e desvio padrão de picadas para fêmeas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, para 10 repetições (n=10).

Repetição	Número de picadas durante 600 seg	
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>
1	0,46	0,21
2	0,51	0,39
3	0,81	0,03
4	0,59	0,24
5	0,48	0,34
6	0,39	0,09
7	0,40	0,10
8	0,29	0,32
9	0,38	0,39
10	0,25	0,30
Média	0,45	0,24
D.P.	0,16	0,13

O sistema K&L-Unicamp, portanto, é tão viável para obtenção de dados quanto aquele desenvolvido por Klowden & Lea (1978), pois os resultados aqui obtidos são demonstrativos de que as fêmeas de ambas espécies, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, responderam para os atrativos colocados na câmara. Dessa forma avaliações de produtos contra mosquitos, ou mesmo contra outros insetos hematófagos, podem ser realizadas com segurança na obtenção dos dados.

4. CONCLUSÕES

- 1) A utilização da câmara-teste para estudos com mosquitos é adequada, conseguindo-se homogeneidade nas respostas para as repetições;
- 2) As principais vantagens da presente câmara-teste são o baixo custo do material utilizado para confeccioná-lo e a facilidade em se fazer adaptações;
- 3) Foster & Lutes (1985) não citam o tipo de iluminação que utilizaram durante seus experimentos. Concluiu-se que esse é um aspecto importante e indica-se no presente estudo a utilização de uma lâmpada específica sobre a caixa (seção C) como mais um atraente.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

AYRES, M.; JR. AYRES, M.; AYRES, D.M.; SANTOS, A.S. **BioEstat 3.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Brasília, Sociedade Civil Mamirauá - Belém, CNPq, 2003.

CARLSON, D.A., SCHRECK, C.E., BRENNER, R.J. Carbon-dioxide released from human skin – effect of temperature and insect repellents. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 165-170, 1992.

CHAREONVIRIYAPHAP, T; PRABARIPAI, A.; SUNGVORNYOTHRIN, S. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral tests. **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 2, p. 250-252, 2002.

DOGAN, E.B.; ROSSIGNOL, P.A. An olfactometer for discriminating between attraction, inhibition, and repellency in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36 n. 6, p. 788-793, 1999.

FEINSOD, F.M.; SPIELMAN, A. An olfactometer for measuring host-seeking behavior of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 15, n. 3, p. 282-285, 1979.

FOSTER, W.A.; LUTES, K.I. Tests of ultrasonic emissions on mosquito attraction to hosts in a flight chamber. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 1, n. 2, p. 199-202, 1985.

- GEIER, M.; BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 92 (1): 9-19, 1999.
- GOUCK, H.K.; SCHRECK, C.E. An olfactometer for use in the study of mosquito attractants. **Journal of Economic Entomology**, v. 58, n. 3, p. 589-590, 1965.
- KLOWDEN, M. J.; LEA, A.O. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 4, p. 827-831, 1978.
- LEWIS, D. J.; FAIRCHILD, W.L.; LEPRINCE, D.J. Evaluation of an electronic mosquito repeller. **Canadian Entomologist**, v. 114, p. 699-702, 1982.
- MBOERA, L.E.G.; KNOLS, B.G.J.; TAKKEN, W.; HUISMAN, P.W.T. Olfactory responses of female *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in a dual-choice olfactometer. **Journal of Vector Ecology**, 23(2): 107-113, 1998.
- OMER, S.M. Responses of females of *Anopheles arabiensis* and *Culex pipiens fatigans* to air currents, carbon dioxide and human hands in a flight-tunnel. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 26, p. 142-151, 1979.
- POSEY, K.H.; BARNARD, D.R.; SCHRECK, C.E. Triple cage olfactometer for evaluating mosquito (Diptera: Culicidae) attraction responses. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 330-334, 1998.
- PRICE, G.D.; SMITH, N.; CARLSON, D.A. Attraction of female mosquitos (*Anopheles quadrimaculatus*) to stored human emanations in conjunction with adjusted levels of relative humidity, temperature, and carbon dioxide (Diptera, Culicidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 5, n. 3, p. 383-395, 1979.
- SHARPINGTON, P.J.; HEALY, T.P.; COPLAND, J.W. A wind tunnel bioassay system for screening mosquito repellents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 3, p. 234-240, 2000.
- SINGLETON, R.E. Evaluation for two mosquito-repelling devices. **Mosquito News**, v. 37, n. 2, p. 195-199, 1977.
- SMITH, C.N.; SMITH, N.; GOUCK, H.K.; WEIDHAAS, D.E.; GILBERT, I.H.; MAYER, M.S.; SMITTLE, B.J.; HOBAUER, A. L-lactic acid as a factor in attraction of *Aedes*

aegypti (Diptera: Culicidae) to human hosts. **Annals of the Entomology Society of America**, v. 63, n. 3, p. 760-768, 1970.

CAPÍTULO II

Comprovação Experimental da Ineficácia de Novos Repelentes Eletrônicos para Mosquitos, Utilizando-se *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) Como Modelo

RESUMO

Na tentativa de se evitar que fêmeas de mosquito consigam efetuar seu incômodo repasto sanguíneo e conseqüentemente transmitir doenças, estudos têm sido realizados no sentido de desenvolver produtos para essa finalidade. Dentre esses, os repelentes de uso tópico tem se demonstrado eficaz, dependendo entretanto do princípio ativo. No entanto, devido a algumas desvantagens desse tipo de repelente, alternativas como repelentes eletrônicos tem surgido, sendo propalados como efetivos para afugentar mosquitos do ambiente. No presente trabalho sete repelentes eletrônicos foram avaliados na câmara-teste K&L-Unicamp (Cap. I), utilizando-se fêmeas de *Ae. aegypti*. Os repelentes avaliados foram: *Byeinset®*, *Kawoa®*, *Mosquito Control®*, *Mosquito Guard®*, *Repelim®*, *Travel Clock Mosquito Repelle®* e um *software* denominado *Anti-mosquito* (versão 1.10b). A cada repetição 10 mosquitos foram liberados em uma extremidade da câmara-teste e a mão de um pesquisador e uma fonte de luz foram colocadas na outra extremidade como atrativos. Vinte repetições foram feitas com os repelentes individualmente ligados ou desligados, sendo que nenhum deles demonstraram alguma repelência. Houve uma atração, que variou em média de 75,0% a 92,5% com os repelentes ligados. Concomitantemente a essa avaliação, o número de tentativas de picadas foi registrado. A conclusão é que nenhum repelente eletrônico aqui avaliado impediu que as fêmeas chegassem até a mão do pesquisador e efetuassem picadas. Durante essas avaliações observou-se que aparentemente quando alguns aparelhos estavam ligados, a frequência de ataque aumentava, o que denominamos “Excitação para picar”. Para testar essa hipótese, o mesmo procedimento anterior foi repetido, narrando-se o número de tentativas de picadas a um gravador. Dessa forma foi possível demonstrar que algumas frequências sonoras parecem ter induzido as fêmeas a tentar picar a mão do pesquisador com maior avidez. Algumas frequências sonoras medidas para esses repelentes eletrônicos estão na faixa de ultra-som. A propaganda dos fabricantes é que esses sons são semelhantes aos emitidos por machos de mosquito, ou mesmo libélulas, mas a literatura não confirma tal afirmação e as avaliações no presente trabalho demonstram que esses repelentes eletrônicos não repelem fêmeas de *Ae. aegypti*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos comportamentais de mosquitos em relação ao som

Em 1855, Christopher Johnston, estudando mosquitos do gênero *Culex*, descobriu uma estrutura sensorial antenal que foi por ele denominada órgão de Johnston. Em suas palavras: "*machos são dotados de uma sensibilidade auditiva superior à das fêmeas, pois esses encontram-nas no escuro utilizando o som das asas como guia*". Mosquitos do gênero *Culex*, em geral, possuem hábitos noturnos e assim, a afirmação de Johnston pôde ser confirmada pelo trabalho de Charlwood (1979), o qual submeteu machos de *Cx. quinquefasciatus* (Say) à emissão de onda sonora artificial, ou seja, som semelhante ao das fêmeas emitidas por um alto-falante, e ao som natural emitido pelas próprias fêmeas presas em alfinetes e movimentando suas asas. Os machos responderam aos dois sons e também copularam com as fêmeas fixadas.

As antenas de ambos os sexos dos mosquitos são constituídas por três segmentos, o escapo, o pedicelo e uma estrutura alongada denominada flagelo. O escapo é um segmento em forma de anel. O pedicelo é um segmento globular onde está o órgão de Johnston. E o flagelo é subdividido em 13 flagelômeros. Nas antenas dos mosquitos estão órgãos sensitivos, também denominados cordotonais. Todos os órgãos cordotonais são mecanotransdutores, alguns têm função proprioceptora e outros são receptores de vibração. Os órgãos de audição de machos de mosquitos são órgãos cordotonais, formados por sensilas, e são sensíveis a ondas sonoras. Esses órgãos de audição convertem a energia das ondas sonoras em sinais elétricos. Nas sensilas, parte dessa energia elétrica é convertida em energia mecânica o qual é transmitida para os neurônios. A energia mecânica causa uma deformação mecânica na membrana dendrítica, produzindo potenciais receptores. Finalmente, ocorre a conversão dos potenciais receptores em um potencial de ação, no qual acredita-se ocorrer na membrana celular do neurônio. Dessa forma o macho de mosquito detecta o som emitido pelas asas de uma fêmea co-específica em voo (Clements, 1999). A partir do momento em que detectam o som das asas das fêmeas, os machos são atraídos para o acasalamento (Roth, 1948).

Uma característica importante no comportamento dos mosquitos é o fato de que os machos de algumas espécies se agrupam durante o vôo em determinados locais, formando enxames. Relatos desse comportamento em *Cx. pipiens* foram feitos por Réaumur e De Geer já no século XVIII. Assim, têm sido levantadas hipóteses de que o comportamento de enxamear dos machos está relacionado ao acasalamento (Downes, 1969). No entanto essa afirmação ainda não é comprovada. Nielsen & Greve (1950) e Nielsen & Haeger (1960), consideram que essas ações são independentes, e não se conhece ao certo a razão dos machos enxamearem. Mas desde o início do século passado, Knab (1906; 1907) associou os dois eventos, sugerindo que os acasalamentos ocorrem junto aos enxames. De fato, em experimentos de laboratório e observações de campo sobre *Ae. communis* (DeGeer) e *Ae. stimulans* (Walker), McDaniel (1986) concluiu que há a necessidade de enxameamento para que ocorra o acasalamento, afirmando que as fêmeas quando receptivas entram no enxame com esse propósito.

Segundo Belton (1994) a batida das asas de machos de mosquitos é duas vezes mais rápida que a das fêmeas co-específicas, e quando em um enxame, os machos são capazes de diferenciar o som das asas de outros machos da mesma espécie, ou mesmo de espécies diferentes que enxameiam junto. Quando uma fêmea co-específica aproxima-se do enxame, os machos são atraídos para a cópula. Forattini (2002) também menciona que as fêmeas encontram e penetram no enxame, e os machos são atraídos pela frequência de batimentos de suas asas e dali saem acasalando-se.

Nas ilhas São Tomé, o mosquito *An. gambiae* foi estudado quanto à associação entre o comportamento de enxame e o acasalamento. Os pesquisadores puderam observar que pares de mosquitos em cópula ocorreram logo após o início do enxame de machos. Foi sugerido que os machos se orientam para as fêmeas por meio do som de suas asas e essas encontram o enxame por meio da sensibilidade visual (Charlwood et al., 2002).

Detalhes desse comportamento ainda não são bastante claros, ou seja, não se sabe ao certo se realmente fêmeas são atraídas ao enxame pelo som ou orientam-se por meio da visão. Assim, quanto ao fato de fêmeas poderem ser atraídas pelo som dos machos, são realmente necessários maiores estudos, pois como se sabe, elas não possuem grande capacidade auditiva (Clements, 1999).

A utilização de som no intuito de manipular o comportamento de mosquitos data do início do século XX, sendo que alguns pesquisadores têm constatado que é possível atrair mosquitos por meio de determinadas frequências sonoras (Howard, 1901; Roth, 1948; Belton, 1994). A partir dessa descoberta, armadilhas para captura de mosquitos têm sido desenvolvidas com o objetivo de controlar populações de machos e conseqüentemente reduzir o número de fêmeas fecundadas (Kahn & Offenhauser, 1949; Ikeshoji, 1986; Belton, 1967). No entanto, o uso dessas armadilhas em grande escala como uma ferramenta para controle de culicídeos, é discutível. Coro e Suárez (1998) defendem o uso das armadilhas sonoras no intuito de realizar amostragens de populações de vetores e posteriormente utilizar outros métodos efetivos para o controle. Segundo Service (1993), a utilização em grande escala de armadilhas apenas sonoras é pouco provável, devido à necessidade de complementação com odores atrativos (ex. CO₂). Ou seja, outros estímulos parecem ser também importantes. Ikeshoji (1986), por exemplo, associou um pano preto no chão, como marcador de enxame, à sua armadilha sonora, que era instalada em campo aberto sobre um tripé, não ficando claro no seu estudo entretanto, se o próprio conjunto, mesmo desligado, significava importante estímulo para a atração. Na atração de *Chironomus plumosus* (Linnaeus) (Diptera: Chironomidae), Hirabayashi & Ogawa (1999) usaram frequências sonoras associadas à luz negra com maior eficiência do que qualquer dos dois atrativos individualmente.

Assim, a utilização de armadilhas sonoras de mosquitos associadas a algum outro tipo de atração, parece ser uma fonte alternativa de bom prospecto para o monitoramento, ou mesmo uma ferramenta útil no controle de algumas espécies vetorais, mas que necessitam ser melhor avaliadas.

1.2. Avaliação de repelentes eletrônicos

Repelentes eletrônicos de mosquitos têm sido propalados como uma poderosa arma contra os mosquitos, podendo até substituir os repelentes químicos comerciais de uso tópico. Em 1997 um documentário do canal pago de TV *Discovery Channel* mostrou que uma rádio francesa (FM de Compiègne) estaria emitindo ondas sonoras eficientes como repelentes de mosquito durante sua programação, mas em entrevistas com os ouvintes,

surgiram opiniões divergentes sobre essa eficácia. Em 2000 foi divulgado no Brasil pela Revista Superinteressante (vol.14; nº5) o lançamento comercial de um CD, que produzia um som imitando o grito ultra-sônico dos morcegos, e segundo os autores, permitia 80% de eficiência na repelência de *Ae. aegypti* em testes preliminares (Andrade & Bueno, 2001). Em 2002, outro documentário do canal *Discovery Channel* relatou alguns repelentes comerciais já conhecidos e utilizados, e entre esses o programa mostrou uma rádio canadense (*Simi-FM*), que durante a programação anunciava aos ouvintes, que estaria emitindo frequências sonoras ultra-sônicas repelentes de mosquitos. No documentário relata-se que essas frequências foram utilizadas durante uma festa ao ar livre e, segundo os participantes, os mosquitos foram espantados. Uma nota no jornal O Estado de São Paulo (Tecnologia, 10 de julho de 2003), anunciou uma novidade da operadora *SK Telecom* (Coréia do Sul), que estaria emitindo som repelente de mosquitos por meio de telefone celular, na forma de serviço pago.

Greenlee (1970) foi o precursor do desenvolvimento dos repelentes eletrônicos, afirmando que fêmeas de mosquito são repelidas pelo mesmo som que atrai os machos. A partir de então aparelhos emissores de sons, com o intuito de repelir mosquitos, começaram a ser produzidos e hoje são comumente encontrados à venda na internet ou estabelecimentos comerciais. Outras alegações, feitas pelos fabricantes, sobre o modo de ação dos repelentes eletrônicos surgiram. Nos estudos sobre essas alegações, nós determinamos que, são três as principais alegações feitas pelos fabricantes:

- 1) O aparelho eletrônico imita o som das asas dos machos. E as fêmeas, uma vez inseminadas são repelidas pelo som das asas dos machos.
- 2) O aparelho eletrônico imita o som das asas de libélulas (predadoras);
- 3) O aparelho eletrônico imita o grito ultra-sônico dos morcegos (também tido como predador de mosquitos).

Essas afirmações não foram confirmadas nos testes feitos por Foster & Lutes (1985). Excetuando-se o som das libélulas, os outros sons são inaudíveis aos ouvidos humanos, mas seriam detectados pelos mosquitos.

Gorham (1974) avaliou o aparelho eletrônico *Skeeter Skat*® e não encontrou nenhum efeito repelente, pelo contrário houve até 413% mais picadas com o aparelho ligado, do que no controle.

Kutz (1974) testou um aparelho (marca não citada) em três situações diferentes. Nas duas primeiras foram utilizados sistemas fechados e os mosquitos *Ae. aegypti* e *Cx. salinarius* (Coquillett) foram induzidos a procurar o hospedeiro contra as ondas sonoras do aparelho. Na terceira situação foram feitas avaliações de campo. O resultado foi que o aparelho ligado não demonstrou eficácia em repelir os mosquitos.

Schreck et al. (1977b) testaram dois aparelhos, denominados *Buzz-Off®* e *Norris Eletronic Mosquito Repelle®r*, em situação de campo, sendo que em um dos testes foi utilizado somente um aparelho de cada vez e em outro foi feita comparação com um repelente de uso tópico com Deet como princípio ativo, e ainda foram feitos testes com os dois aparelhos eletrônicos juntos. Em nenhuma dessas avaliações foi encontrada repelência pelo aparelho eletrônico.

Snow (1977) avaliou o aparelho *Moziquit®*, gerador de ondas sonoras nas frequências entre 2.000 e 2.500 Hz, na repelência de mosquitos noturnos, incluindo alguns vetores da malária. O pesquisador concluiu que o número de mosquitos capturados pelas pessoas utilizando o aparelho como repelente, foi maior do que por aquelas que não utilizaram nenhum tipo de proteção. O autor chamou a atenção para o perigo da utilização desses aparelhos como proteção pessoal contra a malária.

Belton (1981), considerando as afirmações feitas por Greenlee (1970), determinou as frequências sonoras, pressão de som e pico harmônico dos aparelhos: *Eletronic Gadget Eletronic Mosquito Repeller®*, *Eletronic Mosquito Repeller®*, *Moziquit®* e *Antipic®* e testou sua possível repelência em laboratório e campo. Esse pesquisador encontrou que as frequências sonoras de nenhum dos aparelhos correspondem ao som das asas das fêmeas de mosquitos, e por isso não poderiam repelir com o mesmo som que atrai os machos. Também não encontrou diferença significativa entre os aparelhos ligados e desligados.

Um ano depois, Lewis et al. (1982), também testaram o aparelho *Antipic®*, em condições de campo e laboratório. Nos testes de laboratório foi utilizado um túnel transparente onde foram liberados os mosquitos e após a dispersão sem aparelho foi feita a contagem dos indivíduos em cada metro do túnel. Após esse procedimento o aparelho foi ligado e contagens de 30 min foram feitas da mesma forma anterior. Os pesquisadores concluíram que nenhum efeito repelente foi demonstrado por *Antipic®*.

Curtis (1982) também testou o aparelho *Antipic*®, que é propalado como imitador do som das asas de machos, dado que as fêmeas uma vez alimentadas com sangue seriam repelidas por esse som. O pesquisador, através de sonogramas, encontrou que o aparelho emite uma frequência sonora de 6.500 Hz, mas, segundo ele, a frequência das batidas das asas dos machos de mosquitos está entre 500 e 900 Hz. A conclusão desse trabalho é que *Antipic*® não possui nenhum efeito repelente para espécies dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*.

Foster e Lutes (1985) avaliaram alguns repelentes eletrônicos utilizando-se dos mosquitos *An. quadrimaculatus* (Say), *Ae. aegypti*, *Ae. triseriatus* (Say) e *Haemagogus equinus* (Theobald). O efeito repelente dos aparelhos foi analisado em um sistema denominado câmara-teste, descrito por Klowden e Lea (1978). Os repelentes eletrônicos não causaram nenhum efeito na orientação de voo dos mosquitos para alguns estímulos colocados no sistema. Os pesquisadores concluíram que não há evidência de repelência pelo som emitido pelos aparelhos.

Barrido et al. (1993) avaliaram cinco aparelhos repelentes eletrônicos em condições de laboratório e campo, sendo que no primeiro experimento houve maior atração dos mosquitos quando o aparelho estava ligado e no campo não houve diferença significativa para todas as espécies encontradas e entre os aparelhos.

Em um artigo de revisão sobre repelentes eletrônicos, Coro & Suárez (1998) destacam que foi a partir da proposta de fabricação do aparelho eletrônico com emissão de som feita por Greenlee em 1970, que começou a surgir a idéia de que sons em diferentes frequências poderiam repelir mosquitos e substituir os repelentes de uso tópico. Destaca-se que Greenlee não apresentou nenhuma referência científica como base para sua afirmação. Nessa época alguns aparelhos começaram a surgir no mercado, e a partir de 1972 vários aparelhos foram submetidos a testes simultaneamente em vários locais e em condições de campo. Posteriormente foram testados em laboratório, sendo que alguns aparelhos produziram frequências sonoras entre 2.000 e 6.500Hz, e sem efeito repelente. Na década de 80 surgiram os aparelhos que emitem frequências acima de 20.000Hz, ou seja, ultrassônicas. Nessas frequências, é necessário levar em conta a intensidade em que são emitidas, pois acima de 90 dB podem causar danos ao ouvido humano, que não poderão ser evitados por serem inaudíveis. Segundo Coro & Suárez (1998) está claro que os dispositivos não

protegem das picadas dos mosquitos, ou seja, não evitam a transmissão de doenças pelos vetores.

Jensen et al. (2000) avaliando vários produtos comerciais utilizados como repelentes de mosquito, testaram um aparelho emissor de ultra-som, denominado *Mosquito Control® Portable* do fabricante Lentek, comparado ao repelente químico Deet, e concluíram que o aparelho eletrônico não era eficaz, pois não possui efeito repelente, enquanto “Deet” produziu bons resultados quanto a repelência de mosquitos em ambiente de campo.

Sylla et al. (2000) avaliaram o aparelho *Isonic®* em dezoito casas na Alemanha, sendo divididas em nove pares, onde uma recebeu o aparelho ligado e outra desligado. Tal aparelho possui uma amplitude de frequência entre 3.000 e 11.000 Hz. Após dezoito noites de coleta, os pesquisadores concluíram que não houve diferença significativa entre a casa tratada e não tratada, mostrando a ineficiência do aparelho.

Andrade & Bueno (2001) testaram, em condições de laboratório, três aparelhos eletrônicos repelentes *Antipic®*, *Mosquito Repeller® DX-600* e *Bye-Bye Mosquito®* em *Ae. albopictus*, e os resultados foram que, em um dos modelos, houve inicialmente uma suposta proteção de 30,3%, porém essa eficácia não foi confirmada em repetições posteriores. E ao fim do trabalho, não foi obtida nenhuma proteção eficiente para qualquer dos repelentes eletrônicos testados.

Apesar de todas essas confirmações quanto à ineficácia de vários repelentes eletrônicos, novos produtos são frequentemente encontrados à venda pela internet, propalando as mesmas alegações já evidenciadas como falsas, ou mesmo sem qualquer embasamento técnico sobre seu funcionamento. Mediante essa situação, duas hipóteses podem ser levantadas: 1) novos repelentes eletrônicos podem eficientemente repelir mosquitos ou, 2) não repelem mesmo, e portanto, todas as avaliações descritas acima não atingiram o objetivo de fazer com haja uma normatização e a proibição desses produtos no mercado mundial. No presente trabalho temos como objetivo principal, avaliar alguns novos repelentes eletrônicos à disposição no mercado e assim tentar responder as hipóteses acima descritas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação dos aparelhos eletrônicos supostamente repelentes de mosquitos foi conduzida utilizando-se a câmara K&L-Unicamp (Cap. I). A única modificação no sistema ocorreu internamente às câmaras, sendo que todo o sistema foi revestido de manta acrílica, apropriada para a diminuição da reverberação das ondas sonoras.

A avaliação dos repelentes eletrônicos ocorreu no intuito de analisar se as ondas sonoras emitidas podem impedir que as fêmeas dos mosquitos: a) cheguem até o hospedeiro e b) efetuem a picada. Para que o segundo item pudesse ser desenvolvido, o número de tentativas de picadas das fêmeas foi contado utilizando-se o mesmo método usado por Andrade & Bueno (2001b), com adaptações. Esse método consiste em aplicar um repelente tópico sobre uma área definida dos dedos das mãos. O restante da superfície da mão é toda coberta, deixando exposta somente uma área de 8 cm² das falanges mediais. No entanto, no presente trabalho o pesquisador utilizou uma manga de pano para cobrir o antebraço, deixando a mão inteiramente descoberta, não sendo levado em conta o tamanho da superfície exposta às tentativas de picadas.

Os aparelhos repelentes avaliados, assim como o *software*, com seus respectivos modelos, fabricantes ou importador são os seguintes: 1) *Byeinset*® (BINSE) (modelo único, fabricante MRZM Ind. Com. Ltda); 2) *Kawoa*® (KAWOA) (modelo MK02, fabricante Kawoa); 3) *Mosquito Control*® (MCONT) (modelo MC05 pulseira, fabricante Lentek International, Inc.); 4) *Repelim*® (REPEL) (modelo único, fabricante JNP Eng. Elet. IC Ltda); 5) *Mosquito Guard*® (MGUAR) (modelo único, importador CrystalBay); 6) *Travel Clock Mosquito Repeller*® (TCMR) (modelo único, fabricante Pretty Rich Industrial Ltda); 7) *Software Anti-mosquito* (SAMOS) (versão 1.10b, desenvolvido por Saranyo Punyaratabunbhu; *download* no site www.thaiware.com em 2002) (Figura 4). Somente os aparelhos KAWOA e REPEL são desenvolvidos e fabricados no Brasil.

Figura 3 – Fotos dos repelentes eletrônicos testados. (A) MGUARD, (B) BINSE, (C) KAWOA, (D) MCONT, (E) TCMR, (F) REPEL e (G) SAMOS (tela do monitor do computador, mostrando os ícones de acesso do *software*).



Para cada teste foi colocado na seção C do sistema um repelente eletrônico emitindo as ondas sonoras em direção aos mosquitos. No caso da avaliação do *software*, utilizou-se um computador portátil (Compac-Pressario F1200) e um alto-falante de 2,5 cm de diâmetro (marca JLS).

Tanto a atração quanto o número de tentativas de picadas foram determinadas durante 10 min (600 seg). As frequências sonoras de cada repelente eletrônico foram avaliadas com 20 repetições. Ao final do tempo estabelecido, a fonte de luz e o *cooler* foram desligados, as câmaras foram fechadas, os mosquitos em cada seção foram coletados com um aspirador elétrico e contados.

A etapa de determinação e confirmação da frequência sonora, quando disponibilizada pelos fabricantes, assim como do nível de pressão sonora de cada repelente eletrônico foram realizados no Laboratório de Bioacústica, Depto. de Zoologia, Instituto de Biologia - Unicamp, utilizando-se um microfone (marca LeSon, modelo ML-70-D) com amplitude de frequência entre 20 e 20.000 Hz, e sensibilidade negativa de 38 dB. Para a visualização gráfica das frequências fundamentais utilizou-se o programa Cool Edit Pro (versão 1.0). O tempo de gravação para cada repelente eletrônico foi de 8 seg. Já, o nível de pressão sonora foi determinado às distâncias de 1 cm, 5 cm e 30 cm da fonte, utilizando-se um decibelímetro Sennheiser MKH 816p48.

Os aparelhos BINSE, KAWOA, MGUAR e REPEL possuem somente uma frequência sonora. Já os aparelhos MCONT e TCMR possuem chave seletora para duas frequências sonoras diferentes. O SAMOS possui 5 opções com frequências sonoras diferentes e, nesses casos, cada uma das frequências foi avaliada.

2.1. Excitação para picar

Durante as avaliações iniciais dos repelentes eletrônicos, suspeitou-se que por vezes quando os aparelhos estavam ligados, havia um maior número de tentativas de picadas do que quando desligados, o que foi preliminarmente denominado “Excitação para picar”. Para verificar especificamente esse aspecto, foi idealizado um novo sistema de testes. O número de tentativas de picadas durante um período de tempo foi assim narrado a um gravador digital de voz (marca Olympus, modelo DS330), para depois gerar as planilhas numéricas. Utilizou-se de resto o mesmo procedimento, já descrito para avaliações dos aparelhos eletrônicos, ou seja, liberando-se fêmeas apenas de *Ae. aegypti* no sistema K&L-Unicamp.

Os testes foram realizados durante um período de 6 min. Nesse período os aparelhos permaneceram desligados durante 3 min, e em seguida foram ligados, permanecendo assim

mais 3 min. As avaliações iniciaram-se sempre com o aparelho desligado. Nesses testes utilizaram-se grupos de 10 fêmeas e os experimentos foram repetidos cinco vezes para cada frequência sonora. Uma vez decupada a gravação, foram criadas planilhas com o número de tentativas de picadas agrupado a cada 5 seg, para que se pudesse obter a média e o desvio padrão, mostrando a variação da frequência de tentativas de picadas durante os períodos de tempo.

Procedimento Estatístico - Para analisar se houve diferença entre os tratamentos ligados e desligados, para cada aparelho e frequência, utilizou-se o teste de Qui-quadrado para duas amostras independentes e nível de significância de 5% (BioEstat 3.0 – Ayres et al. (2003) sendo que a hipótese nula era que os repelentes eletrônicos repeliriam as fêmeas de mosquitos, ou seja, as médias seriam diferentes e a hipótese alternativa era que os repelentes eletrônicos não repeliriam as fêmeas de mosquitos, ou seja, as médias seriam iguais.

Quanto à análise do número de picadas, utilizou-se Análise de Variância para testar as hipóteses de diferença significativa entre os tratamentos ligado e desligado. Em havendo diferença, utilizou-se o teste múltiplo de Duncan ($\alpha=0,05$) para comparação das médias, sendo que a hipótese nula era que os repelentes eletrônicos impediriam que as fêmeas picassem a mão do pesquisador, e a hipótese alternativa era que os repelentes eletrônicos não impediriam as fêmeas de picar (SAS, Inc., 1997).

Para se testar a excitação para picar utilizou-se o teste t de Student ($\alpha=0,05$) (BioEstat 3.0 – Ayres et al. (2003) para comparação entre as médias dos aparelhos ligados e desligados, sendo que a hipótese nula era que as frequências sonoras avaliadas fariam aumentar o número de tentativas de picadas, e a hipótese alternativa era que as frequências sonoras não levariam ao aumento de tentativas de picadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características dos aparelhos eletrônicos, assim como do *software*, estão descritas na Tabela 3. Algumas dessas características foram compiladas do próprio rótulo do produto, sendo portanto especificadas pelos fabricantes.

Quanto à frequência fundamental, observou-se que algumas estão acima do nível de audição humana (20.000 Hz), sendo consideradas ultra-sônicas, e outras estão próximas desse nível (Tabela 3; Figuras 5 a 16). Nessas frequências é necessário levar em conta a intensidade em que são emitidas, pois acima de 90 dB podem causar danos aos ouvidos humanos e não poderão ser evitadas por serem inaudíveis (Coro e Suárez, 1998).

O condensador utilizado para determinar o nível de pressão sonora possui limite inferior de sensibilidade de 34 dB e, nas distâncias acima de 1cm não foi captado o nível de pressão sonora real, respondendo sempre com 34 dB. Por isso, os níveis de pressão sonora nas distâncias de 5 cm e 30 cm, não foram colocados na Tabela 3.

Segundo Wishart & Riordan (1959) o mosquito *Ae. aegypti* produz uma intensidade de batida de asas próxima a 41 dB à distância de 13 mm. Em seus trabalhos, Roth (1948) e Charlwood (1979) demonstraram que machos de *Ae. aegypti* ou *Cx. quinquefasciatus*, são atraídos para as fêmeas co-específicas devido à frequência e a intensidade da batida das suas asas. Singleton (1977) emitiu artificialmente uma frequência sonora de 5.000 Hz nas intensidades de 70 dB, 90 dB e 110 dB e encontrou que nenhuma das intensidades teve efeito de repelência sobre *Ae. aegypti*. Da mesma forma, no presente trabalho, independente da intensidade dos aparelhos, as fêmeas de *Ae. aegypti* não foram repelidas.

Quando da determinação da frequência fundamental e do nível de som, o aparelho BINSE (LED indicativo de funcionamento aceso) não emitiu qualquer sinal detectável. O som desse aparelho não foi audível, assim como o da maioria dos outros aparelhos aqui avaliados. As repetições com esse aparelho ligado demonstraram menor atração das fêmeas, porém, maior número de tentativas de picadas, mesmo não havendo diferença significativa entre ligado e desligado em ambos experimentos (Tabela 4; Tabela 5).

Tabela 3 – Especificações técnicas de sete Repelentes Eletrônicos de mosquitos, sendo a frequência fundamental e nível de som obtidos no Laboratório de Bioacústica – IB – Unicamp e o restante obtido do rótulo de cada produto.

Repelente	Tamanho (cm)	Alcance (m ²)	Energia (V)	Origem	Frequência Fundamental (kHz)		Pressão Sonora (dB)	Custo (R\$)
BINSE	3,0x3,5x5,5	20	110/220 AC	NC ³	Chave Seletora -	ND ⁴	Distância 1cm ND	52,00
KAWOA	4,2x1,7x6,5	27	110/220 AC	Brasil	-	11,8	<34	12,80
MCONT	2,8x0,9x5,5	AP ¹	6 DC	China	1	18,9	39,9	24,00
MGUAR	5,2x2,9x1,4	-	1,2 DC	USA	D.f. ²	9,6	52,2	
REPEL	7,0x4,5x3,5	30	110 AC	Brasil	-	6,2	38,7	28,00
SAMOS	-	AP	-	Tailândia	-	22	<34	45,00
					1	16,2	47	Free
					2	17	45,8	
					3	18,2	47,1	
					4	19,2	49	
					5	20,4	47,4	
TCMR	9,0x7,0x2,5	25	6 DC	China	HIGH	8	50	20,00
					LOW	7,2	35,2	

¹Área Pessoal - Cerca de 2m²; ²D.f.= Dragon fly; ³Não Conhecido; ⁴Não Detectado.

Como pode ser observado na Tabela 4, o percentual médio de atração das fêmeas de *Ae. aegypti* para a seção C da Câmara K&L-Unicamp, com os aparelhos ligados variou de 91,5 a 98%. Para os aparelhos KAWOA, MGUAR e níveis 01, 02, 03 e 05 do SAMOS houve maior atração quando houve emissão de som. No entanto, não houve diferença significativa para nenhum aparelho pelo teste de Qui-quadrado. Snow (1977) avaliando aparelhos repelentes em campo, capturaram em alguns casos, maior número de mosquitos quando os aparelhos estavam ligados, sendo que uma das espécies envolvidas era *An. gambiae*, importante vetor de malária. Barrido et al. (1993) avaliaram seis aparelhos e quatro deles foram mais atrativos quando ligados, havendo diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado.

Mediante esses resultados rejeita-se a hipótese nula de que os repelentes eletrônicos repelem fêmeas de mosquitos, e considera-se que, nas condições do sistema fechado, os aparelhos eletrônicos e o software aqui avaliados não possuem qualquer eficácia em impedir que as fêmeas de *Ae. aegypti* cheguem até o hospedeiro.

Quanto ao número médio de tentativas de picadas (Tabela 5), observa-se que houve uma elevada atividade das fêmeas em todo o período de avaliação para todos os aparelhos. Comparando-se cada aparelho, desligado ou ligado, observa-se que houve maior frequência de tentativas de picadas para algumas frequências sonoras quando os repelentes eletrônicos estavam ligados.

Conclui-se que os repelentes eletrônicos aqui avaliados, nas condições de sistema fechado, não possuem nenhuma eficácia no sentido de impedir que as fêmeas de *Ae. aegypti* tentem picar o hospedeiro, fortemente indicando que esses aparelhos podem acarretar grande prejuízo se usados na prevenção de doenças veiculadas por mosquitos.

Considera-se que o tempo de 10 min de avaliação foi suficiente para obtenção de dados consistentes para a determinação da atração ou suposta repelência dos produtos eletrônicos. Quanto à frequência de tentativas de picadas, observa-se que há uma grande variação entre os aparelhos, sendo que as tentativas de picadas não permaneceram em um padrão, ou seja, entre o início, o meio e o fim do período houve maior ou menor número de tentativas de picadas. Os fatores que influenciam essa variação necessitam de maiores estudos, pois no presente trabalho os experimentos foram padronizados, utilizando-se do sistema de câmaras, fazendo com que tais detalhes não pudessem ser obtidos.

Tabela 4 – Atração (Percentual Médio \pm D.P.) e o teste de Qui-quadrado ($\alpha=0,05$) de fêmeas de *Aedes aegypti* para sete repelentes eletrônicos em 20 repetições ligados ou desligados. (n=10 e avaliações por 10 min)

Repelentes Eletrônicos	Atração Média % \pm D.P.			
	Chave seletora	Ligado	Desligado	Qui-quadrado
BINSE	-	97,0 \pm 0,57	98,0 \pm 0,41	0,2062 (p>0,05)
KAWOA	-	97,5 \pm 0,55	97,0 \pm 0,57	0,8103 (p>0,05)
MCONT	1	95,5 \pm 0,68	98,5 \pm 0,36	0,4570 (p>0,05)
	D.f.	97,5 \pm 0,44	97,5 \pm 0,55	0,3275 (p>0,05)
MGUAR	-	96,5 \pm 0,58	95,0 \pm 0,60	0,4626 (p>0,05)
REPEL	-	97,5 \pm 0,55	98,5 \pm 0,36	0,2065 (p>0,05)
TCMR	High	96,0 \pm 0,82	96,5 \pm 0,81	0,9736 (p>0,05)
	Low	91,5 \pm 1,13	95,0 \pm 1,00	0,7541 (p>0,05)
SAMOS	1	96,0 \pm 0,59	95,0 \pm 0,88	0,7899 (p>0,05)
	2	94,5 \pm 0,75	94,0 \pm 1,04	1,9876 (p>0,05)
	3	96,3 \pm 0,49	96,0 \pm 0,94	0,9211 (p>0,05)
	4	95,0 \pm 0,76	95,5 \pm 0,68	0,5966 (p>0,05)
	5	96,5 \pm 0,58	96,0 \pm 0,88	0,7435 (p>0,05)

D.f. = Dragon fly

Tabela 5. Frequência de tentativas de picadas de fêmeas de *Aedes aegypti* (Média ± D.P.) e o teste de Análise de Variância ($\alpha=0,05$) a cada segundo, durante 600 seg., para sete repelentes eletrônicos ligados ou desligados.

Repelentes	Número médio ± D.P. a cada segundo		
	Ligado	Desligado	ANOVA
BINSE	0,68± 0,24	0,64 ±0,12	0,0342 (p>0,05)
KAWOA	0,68± 0,16	0,47± 0,07	0,5264 (p<0,05)
MCONT (1) ¹	0,61± 0,12	0,64± 0,11	0,0248 (p>0,05)
MCONT (Df) ²	0,56 ±0,11	0,52± 0,08	0,4633 (p<0,05)
MGUAR	0,78± 0,08	0,66± 0,10	0,1040 (p>0,05)
REPEL	0,43± 0,09	0,44± 0,13	0,1030 (p>0,05)
TCMR (Low)	0,46 ±0,10	0,43 ±0,12	0,4764 (p>0,05)
TCMR (High)	0,64 ±0,16	0,44± 0,13	0,2517 (p>0,05)
SAMOS (1)	0,69± 0,10	0,54± 0,13	0,9832 (p<0,05)
SAMOS (2)	0,75± 0,15	0,51± 0,14	0,1774 (p<0,05)
SAMOS (3)	0,70 ±0,09	0,55 ±0,10	0,7232 (p<0,05)
SAMOS (4)	0,61 ±0,16	0,53± 0,15	0,0073 (p>0,05)
SAMOS (5)	0,57 ±0,10	0,51± 0,10	0,1027 (p>0,05)

¹ Números e Letras entre parênteses -chaves seletoras com diferentes frequências sonoras; ² Dragon fly

A seguir estão expostos os sonogramas obtidos do programa Cool Edit Pro (versão 1.0), demonstrando a frequência fundamental de cada chave seletora dos repelentes eletrônicos.

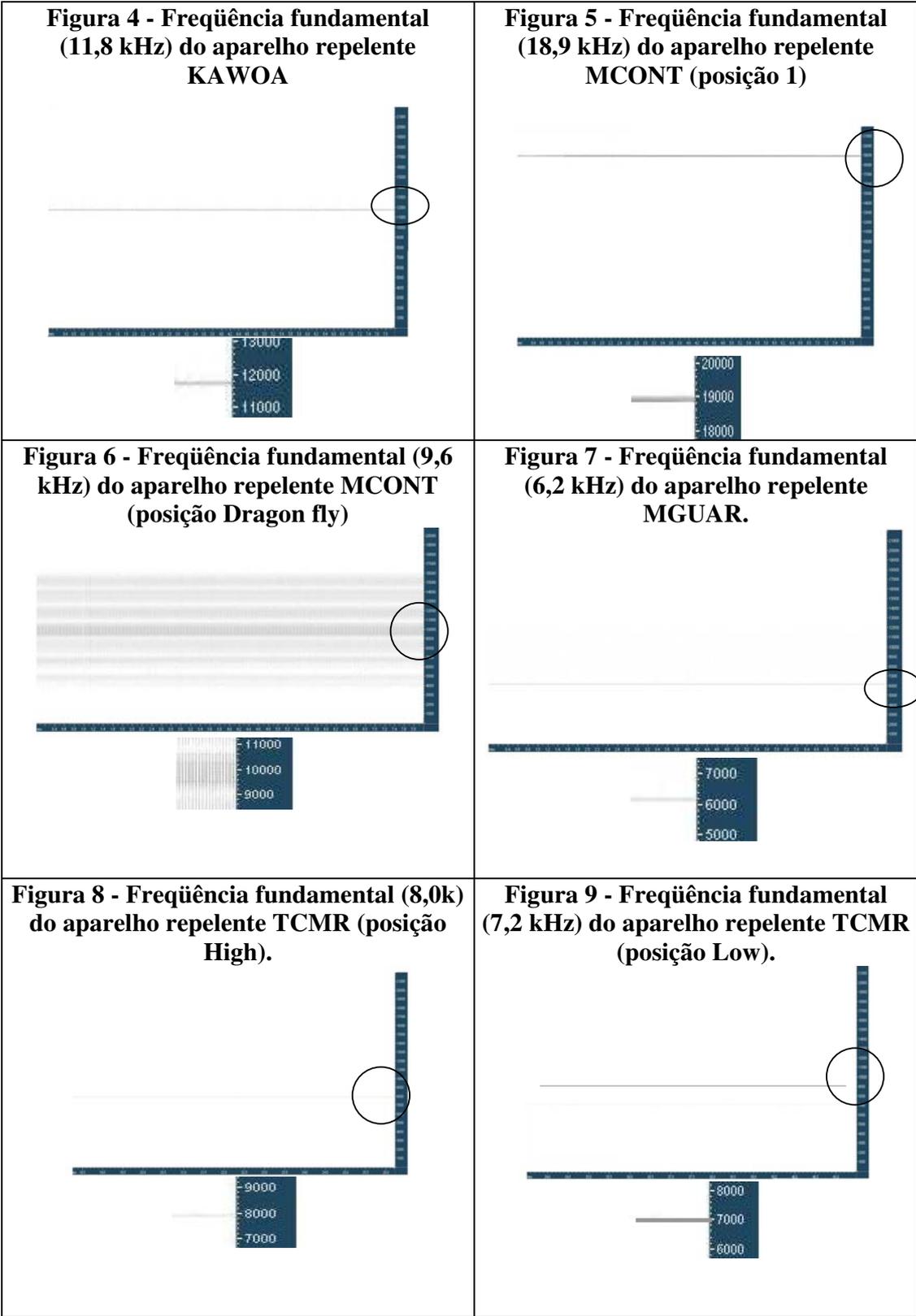


Figura 10 - Frequência fundamental (22,0 kHz) do aparelho repelente REPEL.

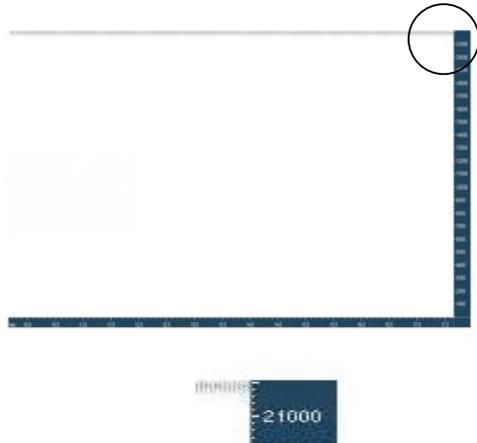


Figura 11 - Frequência fundamental (16,2 kHz) do SAMOS (nível 1)

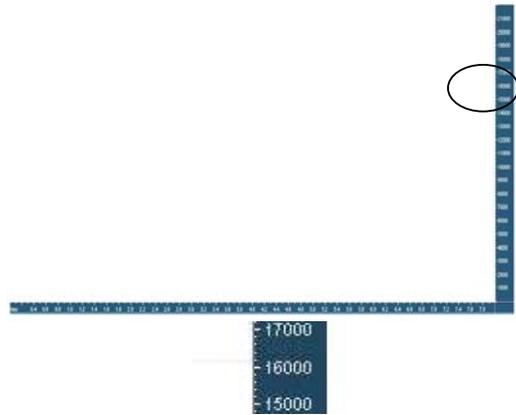


Figura 12 - Frequência fundamental (17,0 kHz) do SAMOS (nível 2).

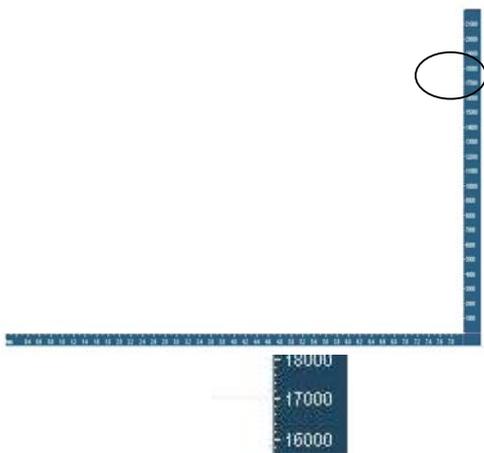


Figura 13 - Frequência fundamental (18,2 kHz) do SAMOS (nível 3).

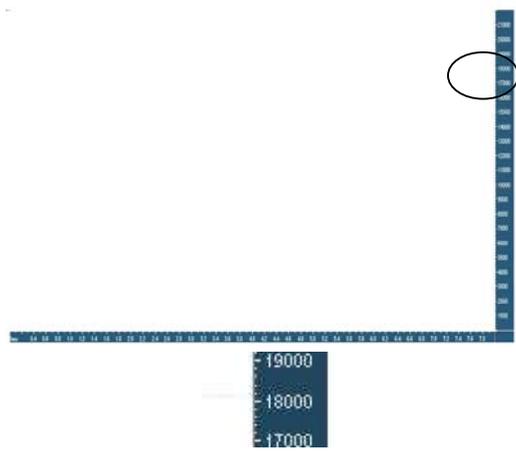


Figura 14 - Frequência fundamental (19,2 kHz) do SAMOS (nível 4).

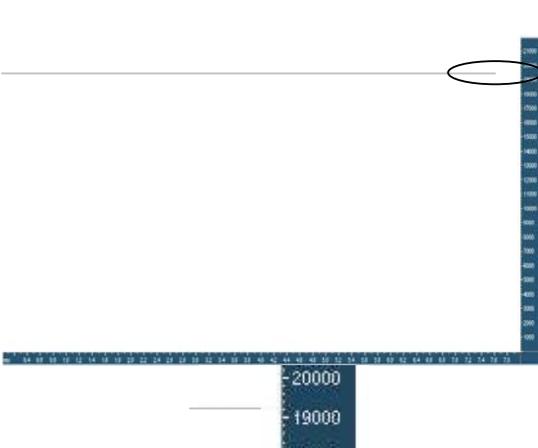
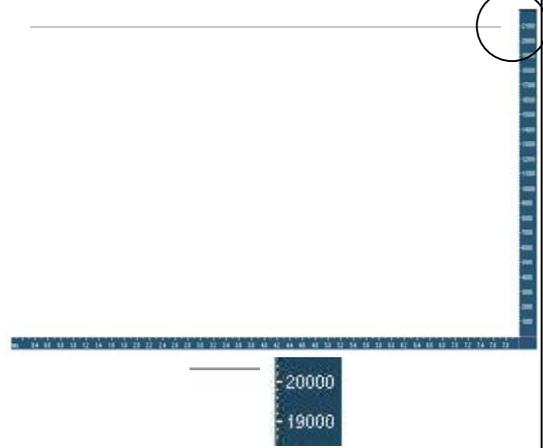


Figura 15 - Frequência fundamental (20,4 kHz) do SAMOS (nível 5).



3.1. Excitação para picar

Nas avaliações da repelência dos aparelhos foi encontrado que, para alguns, parecia haver um aumento na frequência de ataque (número de tentativas de picadas) quando o som era emitido. Devido a isso, levantou-se a hipótese de que essas ondas sonoras poderiam estar induzindo as fêmeas a aumentarem sua frequência de tentativas de picadas, o que se denominou aqui “Excitação para picar”.

Na Tabela 6 estão expostos os números médios, desvio padrão e Teste t de Student para a frequência de tentativas de picadas das fêmeas de *Ae. aegypti*. Para todos os repelentes encontrou-se que quando som passou a ser emitido, houve um aumento significativo na frequência de tentativas de picadas, confirmando que de alguma forma as fêmeas ficavam estimuladas a picar.

Ao que parece, há uma faixa de frequências sonoras que estimula as fêmeas a tentarem obter o repasto sanguíneo com mais avidez. No presente trabalho essa faixa de frequência foi entre 9,6 e 17kHz (ver Tabela 3).

Tabela 6 – Número médio \pm D.P. e Teste t de Student ($\alpha=0,05$) para a frequência de tentativas de picadas de fêmeas de *Aedes aegypti* expostas a repelentes eletrônicos 3min desligados, seguido de 3min dos aparelhos ligados (n=10, 5 repetições)

Repelentes	Média nº picadas (DP)		% aumento	t Student
	Desligado	Ligado		
KAWOA	2,39 \pm 0,59	3,58 \pm 0,83	49,7	5,7989 (p<0,05)
MCONT (Df ¹)	2,70 \pm 0,76	3,87 \pm 0,67	43,3	5,2271 (p<0,05)
SAMOS 1	3,46 \pm 0,69	4,09 \pm 1,06	18,2	3,2596 (p<0,05)
SAMOS 2	2,80 \pm 0,94	4,14 \pm 0,80	47,8	6,4440 (p<0,05)
SAMOS 3	3,97 \pm 1,14	5,81 \pm 1,07	46,3	6,7912 (p<0,05)

¹Dragon fly.

Embora o aumento de atratividade provocado por repelentes eletrônicos já tenha sido relatado, há apenas um relato quanto à excitação para picar. Assim, Gorham (1974) relatou resultados semelhantes aos do presente trabalho, nas avaliações de campo do repelente eletrônico *Skeeter Skat*® para os mosquitos *Ae. communis*, *Ae. nigripes* (Zetterstedt) e *Ae. hexodontus* (Dyar). O autor indicou que o *Skeeter Skat*® não só falhou em repelir esses mosquitos, como também teria produzido um aumento entre 57% e 413% no número de picadas quando ligado. Salienta-se, no entanto, que não foi publicado

nenhum estudo laboratorial para confirmação desse fenômeno e que o autor não menciona a frequência sonora do *Skeeter Skat*®.

É bem conhecido o fato de que machos de muitas espécies de mosquitos possuem a capacidade de detectar o som das asas de fêmeas co-específicas, e são, assim, atraídos para o acasalamento. Assim, estudos mais sofisticados utilizando-se vibrômetro a laser indicam que a frequência de ressonância do flagelo dos machos e a frequência fundamental dominante do som de vôo das fêmeas coincidem (Göpfert & Robert, 2000).

Já para as fêmeas, é notório que não são atraídas para o som das asas dos machos (Roth, 1948; Charlwood, 1979; Clements, 1999), mas não significa que não podem perceber essas frequências sonoras. Em outro estudo, Göpfert et al. (1999) demonstraram que não só a extremidade distal do flagelo de machos de *Ae. aegypti*, mas também a de fêmeas, respondem com vibrações para frequências artificiais entre 100 e 3100 Hz. As frequências que levaram a maior vibração do flagelo de ambos os sexos são entretanto diferentes, sendo para os machos entre 344 e 406 Hz, e para as fêmeas entre 219 e 263 Hz. Em concordância, no estudo feito com *Tx. brevipalpis* (Theobald), Göpfert & Robert (2000) indicaram que o flagelo das fêmeas vibra com maior intensidade na frequência de 244 Hz.

Conforme os trabalhos acima citados, as fêmeas de *Ae. aegypti* percebem determinadas frequências sonoras, abaixo das que machos e fêmeas produzem com suas asas. As questões são: podem essas fêmeas perceber também frequências bem acima daquelas já avaliadas pelos autores mencionados? E que respostas comportamentais têm as fêmeas dessa espécie de mosquito a essas frequências sonoras?

As frequências avaliadas pelos autores acima mencionados foram baixas, quando comparadas às frequências dos repelentes eletrônicos, pois avaliavam respostas comportamentais, para uma faixa de frequência próxima a aquelas do batimento das asas (ca. 400 Hz). Os resultados aqui obtidos demonstram que nas condições da Câmara K&L-Unicamp, as elevadas frequências sonoras (entre 6.000 e 18.000 Hz) emitidas por esses repelentes eletrônicos também influenciaram as fêmeas de *Ae. aegypti*, e produziram de alguma forma uma excitação e aumento na frequência de picadas na mão do pesquisador. Pode-se indicar aqui, que ademais de não repelirem, esses aparelhos podem até mesmo aumentar o risco de contrair doenças por expor as pessoas a uma maior frequência de

picadas. Ainda, indica-se que seriam necessários outros estudos, no sentido de caracterizar de que forma estariam as fêmeas de *Ae. aegypti* detectando essas frequências sonoras, que como foi dito, são elevadas quando comparadas com as frequências de vôo.

Mediante os resultados obtidos no presente trabalho, é de se considerar que os repelentes eletrônicos aqui avaliados, assim como aqueles já descritos na literatura, são uma farsa quanto à propriedade repelente, pois em nenhuma das nossas avaliações houve repelência de fêmeas de *Ae. aegypti*. Pelo contrário, em alguns casos os mosquitos foram atraídos e picaram em maior quantidade quando havia emissão do som. Isso acarreta um problema de saúde pública, pois além de não estar protegido, o usuário está sujeito a ser atacado mais vezes do que seria, dependendo do aparelho que estiver usando, ou seja, a probabilidade de contrair uma doença veiculada por mosquitos pode ser maior para quem estiver usando um dos aparelhos aqui avaliados.

Mediante os resultados obtidos no presente trabalho, convencionou-se utilizar a metodologia de avaliação dos repelentes eletrônicos para elaboração de um protocolo que permitisse a padronização dos testes desses produtos. O protocolo está disposto no Anexo II.

4. CONCLUSÕES

- 1) Os repelentes eletrônicos aqui avaliados não possuem nenhuma eficácia quanto a repelir o mosquito *Ae. aegypti*, e devem ser desconsiderados como uma alternativa para a proteção pessoal contra as picadas dos mosquitos dessa espécie.
- 2) A hipótese de que as ondas sonoras de alguns aparelhos poderiam estar influenciando no sentido de aumentar a atividade de tentativas de picadas das fêmeas foi confirmada, para algumas frequências sonoras. Quando esses sons foram emitidos, o aumento na frequência de ataque ficou evidente, demonstrando que, além de não repelir, determinadas frequências sonoras, de algum modo, exercem influência sobre as fêmeas de *Ae. aegypti* no sentido de fazer com que elas tentem obter o repasto sanguíneo com mais avidez.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ANDRADE, C.F.S.; BUENO, V.S. Evaluation of Electronic Mosquito-Repelling Devices Using *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 497-499, 2001a.

ANDRADE, C.F.S. & BUENO, V.S. Evaluation of three laboratory methods for the comparative test of mosquito repellents using *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae). **Annals Medical Entomology**, v. 10, n. 2, p. 34-40, 2001b.

AYRES, M.; JR. AYRES, M.; AYRES, D.M.; SANTOS, A.S. **BioEstat 3.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Brasília, Sociedade Civil Mamirauá - Belém, CNPq, 2003.

BARRIDO, R.; BROWN, J.; NOVAK, R.; BORENBAUM, M. A test of the efficacy of ultrasonic mosquito repellents. **Vector Control Bulletin North Central States**, v. 2, n. 2, p. 65-69, 1993.

BELTON, P. Trapping mosquitoes with sound. **Proceedings of the California Mosquito Control Association**, v. 35, p. 98, 1967.

BELTON, P. An acoustic evaluation of electronic mosquito repellents. **Mosquito News**, v. 41, n. 4, p. 751-755, 1981.

BELTON, P. Attraction of male mosquitoes to sound. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 297-301, 1994.

BUENO, Virgínia de Souza Bueno. **Avaliação em laboratório de repelentes para proteção pessoal utilizando-se o mosquito *Aedes (S.) albopictus* (SKUSE) como modelo**. Campinas, SP: UNICAMP, 1999. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 1999.

CHARLWOOD, J. D. Observações sobre o comportamento de acasalamento de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Acta Amazonica**, v. 0, n. 3, p. 463-470, 1979.

CHARLWOOD, J.D.; PINTO, J.; SOUSA, C.A.; MADSEN, H.; FERREIRA, C.; ROSARIO, V.E. The swarming and mating behaviour of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) from São Tomé Island. **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 2, p. 178-183, 2002.

- CLEMENTS, A.N. **The Biology of Mosquitoes - Sensory Reception and Behavior**, vol. 2, CABI Publishing, 1999.
- CORO, F.; SUÁREZ, S. Repelentes electrónicos contra mosquitos: propaganda y realidad. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 50, n. 2, p. 89-92, 1998.
- CURTIS, C.F. Once bitten, twice shy. **New Scientist**, v. 93, p. 1291, 1982.
- DOWNES, J.A. The swarming and mating flight of Diptera. **Annual Review of Entomology**, v. 14, p. 271-298, 1969.
- FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**. vol. 2, São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 2002.
- FOSTER, W.A.; LUTES, K.I. Tests of ultrasonic emissions on mosquito attraction to hosts in a flight chamber. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 1, n. 2, p. 199-202, 1985.
- GÖPFERT M.C.; BRIEGEL, H.; ROBERT, D. Mosquito hearing: sound-induced antennal vibrations in male and female *Aedes aegypti*. **Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 2727-2738, 1999.
- GÖPFERT M.C.; ROBERT, D. Nanometer-range acoustic sensitivity in male and female mosquitoes. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 267, p. 453-457, 2000.
- GORHAM, J. R. Tests of mosquito repellents in Alaska. **Mosquito News**, v. 34, n.4, p. 409-415, 1974.
- GREENLEE, L. Build the bug-shoo. **Popular Eletronics**. July, p. 27-30, 1970.
- HIRABAYASHI, K.; OGAWA, K. The efficiency of artificial wing beat sounds for capturing midges in black light traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 92, p. 233-238, 1999.
- HOWARD, L.O. **Mosquitoes. How they live; how they carry disease; how they are classified; how they may be destroyed**. New York: McClure. Philips and Co., 1901.
- IKESHOJI, T. Distribution of the mosquitoes, *Culex tritaeniorhynchus*, in relation to disposition of sound traps in a passy field. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 37, n. 2, p. 153-159, 1986.
- JENSEN, T.; LAMPMAN, R.; NOVAK, R.J. Field efficacy of commercial antimosquito products in Illinois. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 2, p. 148-152, 2000.

- JOHNSTON, C. Auditory apparatus of the *Culex* mosquito. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 3, p. 97-102, 1855.
- KAHN, M.C.; OFFENHAUSER, W. The first field tests of recorded mosquito sounds used for mosquito destruction. **American Journal of Tropical and Medicine**, 29: 811-825, 1949.
- KLOWDEN, M. J.; LEA, A.O. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 4, p. 827-831, 1978.
- KNAB, F. The swarming of *Culex pipiens*. **Psyche**, v. 13, p. 123-133, 1906.
- KNAB, F. The swarming of *Anopheles punctipennis* Say. **Psyche**, v. 14, p. 1-4, 1907.
- KUTZ, F.W. Evaluations of an electronic mosquito repelling device. **Mosquito News**, v. 34, n. 4, p. 369-375, 1974.
- LEWIS, D. J.; FAIRCHILD, W.L.; LEPRINCE, D.J. Evaluation of an electronic mosquito repeller. **Canadian Entomologist**, v. 114, p. 699-702, 1982.
- McDANIEL, I.N. Swarming and mating of univoltine *Aedes* mosquitoes in the laboratory. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2 n. 3, p. 321-324, 1986.
- NIELSEN, E.T.; GREVE, H. Studies on the swarming habits of mosquitoes and other Nematocera. **Bulletin of Entomological Research**, v. 41, p. 227-258, 1950.
- NIELSEN, E.T.; HAEGER, H.S. Swarming and mating in mosquitos. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 1, p. 71-95, 1960.
- ROTH, L.M. A study of mosquito behavior. An experimental laboratory study of the sexual behavior of *Aedes aegypti* (Linnaeus). **American Midland Naturalist**, v. 40, p. 265-352, 1948.
- SAS. SAS Institute Inc. Cary, N C. USA.445p, 1997.
- SCHRECK, C.E.; WEIDHAAS, D.E.; SMITH, N. Evaluation of electronic sound-producing devices against *Aedes taeniorhynchus* and *Ae. sollicitans*. **Mosquito News**, v. 37, n. 3, p. 529-531, 1977b.
- SERVICE, M.W. **Mosquito ecology: field sampling methods**. London: Elsevier Applied Science, 1993.

SNOW, W.F. Trials with an electronic mosquito-repelling device in West Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 449-450, 1977.

SYLLA, E.H.K.; LELL, B.; KREMSNER, G.K. A blinded, controlled trial of an ultrasound device as mosquito repellent. **Wien Klin Wochenschr**, v. 112, n. 10, p. 448-450, 2000.

WISHART, G; RIORDAN, D.F. Flight responses to various sounds by adult males of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Canadian Entomologist**, 91: 181-191, 1959.

CAPÍTULO III

**Eficiência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1854) em
Transpor Algumas Telas Comerciais.**

RESUMO

Os mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* têm sido incriminados de possuírem alguma capacidade em transpor telas como as das gaiolas de criação. Embora essa suspeita possa ter sido indicada por alguns pesquisadores, ainda não se conhece ao certo, que fatores dão a essas espécies condição de passar pelos vazados de algumas telas, e com que dinâmica conseguem fazer isso. Os estudos já feitos com telas são principalmente relacionados a mosquiteiros de proteção pessoal ao *Culex* spp e *Anopheles* spp, e demonstram que vazados grandes, maiores que a envergadura das asas, facilitam a sua passagem até voando. E os vazados menores, levam os mosquitos a pousar sobre as telas e por vezes a passar pelos seus orifícios esgueirando-se entre os fios. No presente trabalho estudou-se o comportamento de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em relação a quatro telas com vazados diferentes, observando-se a eficiência para a transposição das telas, em termos da porcentagem de sucesso e do tempo mediano para passar (TP₅₀). Os experimentos foram realizados utilizando-se grupos de dez fêmeas, em 20 repetições. Utilizou-se o sistema K&L-Unicamp (Cap. I), sendo que as telas foram colocadas como obstáculo para as fêmeas chegarem até a mão do pesquisador. Entre as telas avaliadas duas são comercializadas como mosquiteiro, sendo uma delas impregnada com inseticida. Os vazados das quatro telas variaram quanto ao tamanho médio (4,21x4,97 mm; 2,36x1,84 mm; 1,50x2,19 mm e 4,62x2,89 mm). Ambas espécies conseguiram transpor todas as telas. *Ae. aegypti* obteve maior sucesso na transposição dos vazados maiores e apresentou um TP₅₀ menor. Já, *Ae. albopictus* passou com mais eficiência pelas telas com os vazados menores. A tela impregnada causou pronunciado efeito de abatimento (*knock down*) e ação repelente, além da morte. Para ela, ambas espécies demonstraram demorar mais tempo para passar e passaram em menor quantidade. O comportamento típico observado foi que os indivíduos passaram voando pelas telas com vazados maiores. Já naquelas com vazados pequenos, as fêmeas pousaram e passaram esgueirando-se entre os fios.

1. INTRODUÇÃO

Algumas espécies de mosquitos, entre elas os principais vetores de doenças para o homem, têm sido mantidas em colônias de laboratório para diversos estudos pelo mundo todo. Assim, para o estabelecimento e manutenção de várias gerações de mosquitos em laboratório, é necessária uma estrutura apropriada para o desenvolvimento das larvas e dos adultos. Gaiolas de criação são classicamente utilizadas para manutenção dos adultos, e consistem geralmente em caixas envoltas por tela, e uma manga para manuseio do material disposto dentro da gaiola. Em alguns países, gaiolas especialmente desenvolvidas para criação de mosquitos são comercializadas por fabricantes especializados. A empresa norte americana BioQuip por exemplo (http://www.bioquip.com/html/view_catalog.asp), oferece em seu catálogo gaiolas para mosquitos cobertas por telas com vazados (orifícios entre os fios) entre 0,36x0,36 mm e 1,27x1,27 mm.

Telas para proteção por sua vez, utilizadas para evitar o contato das fêmeas dos mosquitos com os hospedeiros, têm sido desenvolvidas e avaliadas em várias partes do mundo, para serem utilizadas como mosquiteiros de cama (Somboon et al., 1995; Lyimo et al., 1991; Basimike & Mutinga, 1995; Huailu et al., 1995; Brinkmann & Brinkmann, 1995) e cortinas (Curtis et al., 1996; Poopathi & Rao, 1995; Nguyen et al., 1996; Fanello et al., 2003). Esse tipo de proteção constitui-se hoje uma das mais importantes ferramentas de controle da malária na África (Positive, 1994; Net, 1997). A Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) têm indicado a cobertura de caixas d'água, tambores e outros recipientes semelhantes com telas, com vazados de 1x1 mm, para o controle da dengue. O objetivo é tentar evitar que as fêmeas coloquem seus ovos nesses potenciais criadouros (http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/dengue_f_amarela/texto_dengue.htm).

Seja para gaiolas de criação, para a proteção contra as picadas, ou para evitar a oviposição, um cuidado aparentemente óbvio que deve ser tomado, está na utilização de telas que possuam vazados, que de fato impeçam os mosquitos de passarem. Mas nem sempre essas telas impedem a passagem.

Relatos têm sido feitos na lista de discussão *on-line* americana Mosquito-L (2004) de que mosquitos, principalmente o *Ae. albopictus*, possuem capacidade de transpor algumas telas das caixas de criação usadas para colônias de *Ae. aegypti*. Nesses relatos,

alguns pesquisadores citaram que aquele mosquito, na época recém introduzido nos Estados Unidos, estaria passando pelas telas das gaiolas comerciais de criação (tamanho de vazado não citado), e que essa capacidade estaria relacionada ao tamanho dos adultos. No entanto, a eficiência e o comportamento, quanto à capacidade de transposição de telas que são utilizadas em caixas de criação, assim como das telas de proteção, não foi estudado para os *Aedes* spp.

A utilização de telas para o controle de doenças tem sido prática corrente em alguns países, sendo que produtos como mosquiteiros de cama, para impedir as picadas dos vetores, têm sido amplamente estudados. O uso desse tipo de tela durante o sono tem reduzido drasticamente a transmissão e a morbidade pela malária, além da mortalidade infantil. Se usado em grande escala, pode ser então um eficiente método de controle de vetores (Port & Boreham, 1982; Burkot et al., 1990; Greenwood & Baker, 1993; W.H.O., 1993; Choi et al., 1995; Binka et al., 1996; Nevill et al., 1996; Kobayashi et al., 2004). Em alguns casos, no entanto, os vetores conseguem passar pelas telas e chegar aos humanos. Dependendo assim das condições da tela e do seu uso adequado, varia a eficácia em impedir a passagem das fêmeas dos mosquitos. Boreham & Port (1982) citam, por exemplo, que *An. gambiae* foi capaz de passar por mosquiteiros danificados, alimentar-se de sangue e sair. Em outro estudo, Port & Boreham (1982) citam ainda que telas em más condições (com vazados aumentados) permitem uma percentagem significativamente maior de fêmeas de *An. gambiae* alimentadas. Os autores discutem que a variação na eficiência do mosquiteiro está relacionado à habilidade do usuário em manuseá-lo, ou seja, em mantê-lo em boas condições de uso.

Mosquiteiros com vazados pequenos podem ser de fato uma proteção física bastante eficiente contra picadas de mosquitos, mas impedem a ventilação e tornam-se desconfortáveis principalmente nas noites quentes. Aqueles com vazados grandes por sua vez, proporcionam boa ventilação, porém permitem a passagem dos mosquitos (Itoh et al., 1986).

Para aumentar a taxa de proteção e contornar o problema de ventilação dos mosquiteiros, têm sido realizados estudos com telas impregnadas com inseticidas. Schreck et al. (1977a) avaliaram telas impregnadas com o piretróide Resmetrina, usando *Ae. aegypti* e *An. quadrimaculatus* em um olfatômetro. Os mosquitos tinham que passar pela tela antes

de chegar a um compartimento armadilha. Os resultados foram que houve uma maior eficiência para *Ae. aegypti* (86%) do que para *An. quadrimaculatus* (54%), e que para ambas as espécies mais de 90% morreram devido ao contato com a tela.

No caso do uso de telas impregnadas, não há realmente necessidade de que a tela possua vazados pequenos, mas que seja de um tamanho tal que as fêmeas do mosquito precisem pousar sobre elas antes de passar. Itoh et al. (1986) determinaram que o tamanho ideal de vazado para que as fêmeas de *Cx. pipiens pallens* (Coquillett) precisem pousar antes de passar, seria de 8,0x8,0 mm, indicando que vazados pouco menores que a envergadura das asas do mosquito voando, os leva a pousar e entrar em contato com a tela. Em outro estudo, um mosquiteiro com vazado de 5,0x5,0 mm foi impregnado com alguns piretróides e fêmeas de *Cx. pipiens pallens* e *An. gambiae* foram expostas dentro de um sistema de câmaras. Ambas as espécies morreram depois do contato com a tela, porém a primeira espécie não foi capaz transpô-la, enquanto a segunda foi, mas não conseguiu picar o hospedeiro devido ao efeito do inseticida (Itoh et al., 1990). Telas associadas a inseticidas têm se mostrado então uma boa ferramenta de proteção.

Ao comparar mosquiteiros impregnados, com aqueles sem inseticida, D'Alessandro et al. (1995) concluíram que ambos forneceram proteção individual significativa para crianças, e que mosquiteiros impregnados tiveram alguma vantagem adicional sobre os não impregnados, quanto à prevenção da malária. Mosquiteiros não impregnados, por sua vez, também podem oferecer boa taxa de proteção individual, mas apenas aqueles em boas condições (Clarke et al., 2001 e Mwangi, et al., 2003).

Em Guiné Bissau, Palsson & Jaenson (1999) compararam o número de mosquitos em casas onde as paredes dos quartos foram forradas internamente por mosquiteiros impregnados com piretróides e aquelas tratadas com a queima de plantas, usadas por moradores para espantar mosquitos à noite. Tanto o uso das telas com inseticidas quanto os produtos naturais, levou à diminuição no número médio de mosquitos, com bom potencial para uso.

Em geral, os principais inseticidas utilizados para impregnar telas de proteção são da classe dos piretróides (Hougard et al., 2003). Por isso avaliações têm sido feitas para determinar a eficácia desses produtos. Telas de *nylon* impregnadas com Deltrametrina, Ciflutrina, Lambda-cialotrina e Etofenprox demonstraram repelência e causaram 100% de

mortalidade em *Anopheles* spp. e *Culex* spp. (Ansari & Razdan, 2000). Em outro estudo, alguns piretróides, quando comparados com um inseticida da classe dos carbamatos (Carbosulfan), demonstraram maior persistência na impregnação após lavagens consecutivas, levando também a uma maior mortalidade de *Cx. quinquefasciatus* e *An. gambiae* (Asidi et al., 2004).

Apesar das vantagens no uso de telas impregnadas, um obstáculo para a implementação desse tipo de controle em campo é a necessidade de re-impregnar regularmente os mosquiteiros (Chavasse et al., 1999). Para superar esse fator negativo, novas telas foram lançadas no mercado. O fabricante Sumitomo Chemical Co., Osaka, Japão, desenvolveu a tela impregnada pré-tratada Olyset Net®, o qual é fabricada em fibra de polietileno e impregnada com Permetrina a 2%, que é incorporada durante a fabricação dos fios, podendo ser lavada repetidas vezes com a manutenção da eficácia do inseticida (Itoh & Okuno, 1996; Nguyen et al., 1996; Ikeshoji & Bakotee, 1996, 1997; Vythilingam et al., 1996; Faye et al., 1998, N'Guessan et al., 2001). O Laboratório francês Roussel-Uclaf fabrica o mosquiteiro Moskitul® impregnado com 25 mg de Deltametrina/m² e utilizados pelo exército francês. Depois de guardados na embalagem original por 5 ou 6 anos de sua impregnação, Carnevale et al. (1998) encontraram que esses mosquiteiros ainda permitiam proteção total.

O comportamento de mosquitos em relação a passar ou não por barreiras, como as telas, tem sido pouco estudado, e pode permitir um melhor conhecimento das estratégias usadas pelas fêmeas para a aproximação do hospedeiro, resultando em novas estratégias para telas mosquiteiro e cortinas. Ainda, esses estudos podem avaliar a eficiência das telas para proteger criadouros, uma vez que prefeituras no Brasil têm adotado esse recurso no programa de controle da dengue. O presente trabalho tem assim como objetivo, estudar a eficiência de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em transpor telas com tamanhos e formas de vazados diferentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos quanto à eficiência de transposição das telas pelos mosquitos foram realizados utilizando-se a Câmara K&L-Unicamp previamente descrita. Para esses

experimentos uma parte (50 cm) da seção B foi retirada, e o tubo passou a medir somente 75 cm. No entanto, o sistema continuou valendo-se de três seções (A, B e C), consistindo a seção A de 25 cm de comprimento, a seção B, 50 cm, e a seção C, formada pela caixa. Esse procedimento foi realizado devido ao fato de que, quando da avaliação dos repelentes eletrônicos, houve necessidade de maior espaço para dispersão das ondas sonoras. Já, no presente experimento somente os atrativos do sistema foram utilizados.

Foram utilizadas quatro telas, sendo fixadas em bastidores circulares de madeira de 34 cm de diâmetro. No momento do teste a tela era colocada entre as seções B e C (ver Cap. I, Figura 1), de forma que quando os mosquitos eram liberados para voarem na câmara-teste a tela formava uma barreira para a chegada dos indivíduos até a mão do pesquisador, exposta na seção C (Figura 16).

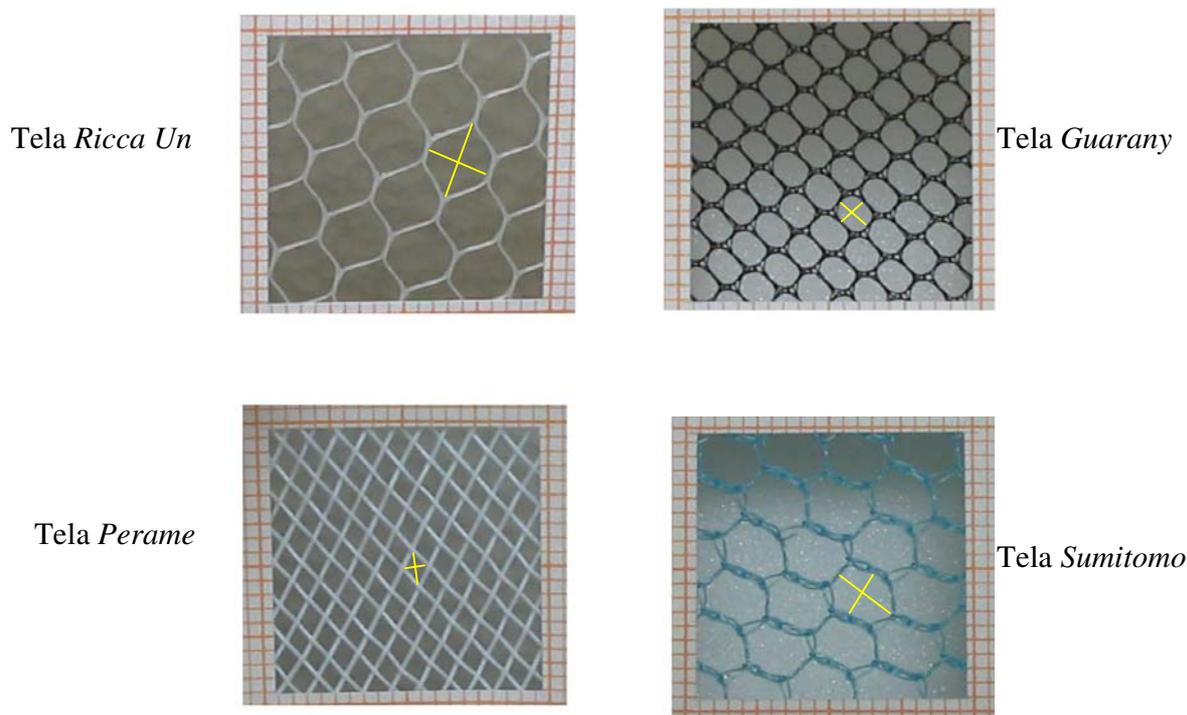
Figura 16 – Vista da Câmara K&L-Unicamp a partir do tubo, mostrando uma das telas avaliada e a mão do pesquisador. Ao fundo o cooler na seção C.



As telas utilizadas possuem diferentes formas e tamanhos de vazados, sendo que as medidas desses vazados foram determinadas utilizando-se o programa para medições Image-ProLite (versão 4.0), disponível no Depto. de Parasitologia, Instituto de Biologia, Unicamp. Foram feitas duas medidas cruzadas (90°) entre a largura e a altura do vazado. Esse tipo de medição tem sido adotado em outros estudos (Itoh et al., 1986; Itoh et al., 1990), mesmo que o desenho dos vazados das telas não seja quadrado. Para essas medições foi obtida uma imagem digitalizada de uma seção da tela, sobre papel milimetrado de 2x2 mm, tirada com uma máquina fotográfica Canon PowerShot A300 (Figura 17). De cada seção de vazados, foram feitas dez medidas conforme citado anteriormente. Convencionou-

se denominar as telas da seguinte forma: tela *Ricca Un*, tela *Guarany*, tela *Perame* e tela *Sumitomo*.

Figura 17 – Fotos das telas utilizadas, sob uma moldura de papel milimetrado, mostrando a forma em que os vazados foram medidos (tracejados).



Das quatro telas utilizadas, três são confeccionadas com fios maleáveis (*Ricca Un*, *Guarany* e *Sumitomo*), permitindo variação no tamanho do vazado, enquanto que uma contém fios mais rígidos e vazado não variável (*Perame*) (cf. Figura 18). Tomou-se, portanto, o cuidado de se fixar as telas com fios maleáveis nos bastidores, de forma a se distribuir homogeneamente os vazados para serem feitas as avaliações e se determinar seus tamanhos médios.

Os experimentos foram realizados utilizando-se grupos de 10 fêmeas para um total de 20 repetições. Os seguintes parâmetros foram observados: 1) Número médio de fêmeas que obtiveram sucesso em passar pelas telas para 20 minutos de observação; 2) Tempo para Passar 50% das fêmeas de cada espécie (TP₅₀) e 3) Características comportamentais das duas espécies em relação à barreira proporcionada pelas telas.

Para determinação do TP₅₀, o número de fêmeas acumulativo em um intervalo de tempo de 5 min foi plotado a cada 60 seg. O TP₅₀ só foi calculado para as telas quando houve mais 50% de fêmeas com sucesso na transposição, para os 6 min de observação.

2.1. Tamanho dos mosquitos e Tamanho dos vazados - A relação entre o tamanho dos mosquitos e das telas foi analisado no presente trabalho utilizando-se as mesmas fêmeas do experimento anterior. Elas foram mortas e mantidas em congelador, para a determinação do comprimento das asas, medindo-se a distância entre a incisão axilar e a margem apical (conforme Packer & Cobert, 1989). Uma das asas foi cortada com uma tesoura cirúrgica, sendo colocada em uma lâmina de microscopia e fixada com fita adesiva transparente. Packer & Cobert (1989) e Gleiser et al. (2000) estabeleceram que a diferença entre o comprimento da asa esquerda e direita de mosquitos é desprezível, por isso, no presente trabalho utilizou-se qualquer das asas de cada indivíduo. As medições foram feitas utilizando-se o programa Image-ProLite (versão 4.0), determinando-se a média e o desvio padrão do comprimento das asas. Ambas espécies foram criadas nas mesmas condições, sendo a temperatura $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e U.R. $80\pm 5\%$. A densidade larval e a taxa de alimentação no presente trabalho foram padronizadas para as duas espécies de acordo com Teng & Apperson (2000). Cinquenta larvas foram mantidas em bandejas de 32x27x06 cm, contendo um litro de água de torneira, com 50 mg de ração para cão triturada e misturada a levedo de cerveja na proporção de 3:1, adicionada 2 vezes/semana (resultando em 1 mg ração/larva).

Procedimento Estatístico - Foi utilizado a Análise de Variância (nível de significância de 5%) (BioEstat 3.0 – Ayres et al., 2003), para observar se haveria diferença significativa entre as espécies quanto ao número de fêmeas que passaram pelas telas, sendo que a hipótese nula era que uma das espécies conseguiria passar em maior número e a hipótese alternativa era que as espécies passariam na mesma proporção. O teste de Bonferroni foi utilizado para comparar as médias.

O teste de ANOVA foi utilizado também para analisar o tamanho das asas das fêmeas, na comparação entre as espécies, sendo que a hipótese nula era que uma das

espécies possuiria asa maior e a hipótese alternativa era que ambas espécies possuiriam o mesmo tamanho de asa.

Para a determinação do TP₅₀, utilizou-se o programa POLO-PC (LeOra Software, 1987), sendo que a hipótese nula era que o TP₅₀ seria diferente para as espécies e a hipótese alternativa era que o TP₅₀ seria igual.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 7 resume as características das telas utilizadas. Observa-se que a tela *Ricca Un* possui medidas semelhantes e o maior vazado. As telas *Guarany*, *Perame* e *Sumitomo* possuem uma medida maior que a outra fazendo com que o espaço para a passagem dos mosquitos seja mais estreito.

Tabela 7 – Descrição das características das telas utilizadas para estudar a eficiência de transposição de duas espécies de *Aedes* em uma câmara-teste.

Telas	Fabricante	Material	Vazado médio (mm)	Forma do Vazado	Cor
<i>Ricca Un</i>	Ricca Un	Polietileno	4,976 x 4,212	Losango	 Amarela
<i>Guarany</i>	Guarany Ltda.	Nylon	2,366 x 1,845	Redondo	 Preta
<i>Perame</i>	Perame Ind. Com.	Polietileno	2,199 x 1,504	Losango	 Branca
<i>Sumitomo</i>	Sumitomo Chemical Co.	Polietileno	4,620 x 2,989	Oval	 Azul

Em relação ao sucesso das fêmeas das duas espécies de mosquito em passar pelas telas, pode-se observar que para as telas não tratadas (*Ricca Un*, *Guarany* e *Perame*), houve uma relação direta entre o tamanho do vazado e a percentagem média de fêmeas que passaram. Independente das telas serem tratadas ou não, comparando-se as percentagens de sucesso na transposição para as duas espécies de mosquitos, encontrou-se diferença significativa para as seguintes telas: *Guarany* (F=22,434; d.p. 1,59; p<0,05), *Perame* (F=69,352; d.p. 0,65; p<0,05) e *Sumitomo* (F=844,531; d.p. 1,13; p<0,05). Enquanto *Ae.*

aegypti teve mais sucesso com os vazados maiores (telas *Sumitomo* e *Guarany*), *Ae. albopictus* demonstrou maior sucesso em passar pelo vazado menor (tela *Perame*; Tabela 8).

Com relação à tela *Sumitomo* as fêmeas se comportaram de maneira peculiar. Essa tela mosquiteiro, de nome comercial Olyset Net®, é impregnada com um inseticida Piretróide (Permetrina a 2%) (N'Guessan et al., 2001). Os Piretróides são típicos por possuir efeito *knock down* (abatimento) sobre os insetos, ou seja, quando em contato com o inseticida, em pouco tempo os insetos perdem a capacidade de movimento, porém continuam vivos e a morte ocorrerá após algumas horas. Esse inseticida também é usado como repelente para os mosquitos, sendo aplicado na pele e nas roupas, individualmente ou em conjunto com “Deet”, além de ser usado em estado de vapor (Young & Evans, 1998; Abou-Donia et al., 2001; Pates et al., 2002). Por isso, quando da utilização dessa tela, houve grande diferença no comportamento quando comparado com a tela *Ricca Un*, que possui um tamanho de vazado próximo, ou seja, o inseticida proporcionou uma barreira adicional para o mosquito, sendo que após alguns minutos das fêmeas pousarem ou somente tocarem a tela, começaram a sofrer o efeito desorientador, com perda de movimento, e não continuaram tentando transpor. As fêmeas que conseguiram passar também ficaram desorientadas, e não puderam encontrar a mão do pesquisador exposta na seção C da Câmara K&L-Unicamp. Esses resultados são semelhantes ao de Vythilingam et al. (1996), que observaram que fêmeas de *Ae. aegypti* foram capazes de passar pela tela Olyset Net® em uma percentagem bastante pequena quando comparado com a percentagem de fêmeas que não conseguiram passar. E das que passaram, nenhuma realizou o repasto sanguíneo. No presente trabalho o mesmo aconteceu com *Ae. aegypti*, que também não conseguiu realizar o repasto, no entanto, 1,5% das fêmeas de *Ae. albopictus* conseguiram efetuar o repasto sanguíneo completo, e após o término da alimentação então, sofreram o efeito do inseticida e acabaram por morrer. Itoh et al. (1990) avaliaram telas impregnadas com piretróides e vazados de 5x5 mm, sendo que uma percentagem média entre 52,0% e 87,2% de fêmeas de *An. gambiae* e *Cx. pipiens pallens* conseguiram passar pelo vazado, e todas morreram sem conseguir efetuar a picada. No presente trabalho não se notou efeito repelente sobre os mosquitos, mesmo sendo o experimento realizado em um ambiente fechado (câmara-teste).

Tabela 8 – Percentual médio \pm D.P. de fêmeas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* que obtiveram sucesso em passar pelas telas durante um período de 20 min, em condições de câmara-teste (n=10, 20 repetições).

Tela	% Médio \pm D.P.)	% Médio \pm D.P.	ANOVA
	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	
<i>Ricca Un</i>	95,0 \pm 0,80	93,0 \pm 0,80	22,4340 (p>0,05)
<i>Guarany</i>	74,0 \pm 1,50	59,0 \pm 1,68	86,7140 (p<0,05)
<i>Perame</i>	0,5 \pm 0,22	7,0 \pm 1,08	69,352 (p<0,05)
<i>Sumitomo</i>	13,0 \pm 1,03	46,0 \pm 1,23	844,5310 (p<0,05)

Na Tabela 9 foi disposta a quantidade média acumulada \pm desvio padrão de fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* que passaram pelas telas, a cada 60 seg. *Ae. aegypti* passou aparentemente em menor tempo do *Ae. albopictus* pela tela *Ricca Un*. E o cálculo do TP₅₀ em minutos sugere isso (*Ae. aegypti* TP₅₀= 2,1 [1,8-2,4] e *Ae. albopictus* TP₅₀= 2,5 [1,2-3,6]), porém, não houve diferença significativa. Para a tela *Guarany* entretanto, o mesmo ocorreu, porém houve diferença significativa (*Ae. aegypti* TP₅₀= 8,3 [7,2-9,8] e *Ae. albopictus* TP₅₀= 0,14 [0,06-0,2]). Os cálculos do TP₅₀ para as telas *Perame* e *Sumitomo* não foram feitos, devido à quantidade de fêmeas que passaram ter sido inferior a 50%. Mas pode-se verificar ainda pela Tabela 9, que ao final dos 6 min, em média mais fêmeas de *Ae. albopictus* (3,05 \pm 1,36) conseguiram passar pela tela tratada *Sumitomo* do que fêmeas de *Ae. aegypti* (1,00 \pm 0,86). Com isso, duas hipóteses podem ser levantadas: 1) *Ae. aegypti* é mais sensível ao inseticida impregnado nessa tela ou; 2) devido a uma maior rapidez de *Ae. albopictus* em passar por essa tela, os indivíduos podem ter sofrido menor contato com o inseticida, dando condições para que pudessem passar e até mesmo efetuar a picada.

Tabela 9 - Quantidade média acumulativa (a cada 60 seg.) \pm D.P para grupos de fêmeas de *Aedes aegypti* ou *Ae. albopictus* que passaram por 4 diferentes telas (n=10, 20 repetições).

Tela Ricca Un										
	<i>Ae. aegypti</i>					<i>Ae. albopictus</i>				
Segundos	60	120	180	240	300	60	120	180	240	300
M.	1,70	4,00	5,85	6,90	7,75	2,00	3,30	4,75	5,55	6,50
D.P.	0,98	1,21	1,87	2,00	1,68	1,34	1,63	1,37	1,28	1,54
Tela Guarany										
	<i>Ae. aegypti</i>					<i>Ae. albopictus</i>				
Segundos	60	120	180	240	300	60	120	180	240	300
M.	0,30	1,05	2,80	3,55	4,15	0,55	1,00	2,00	2,90	3,55
D.P.	0,47	0,89	1,67	1,90	1,81	0,76	1,03	1,21	1,41	1,54
Tela Perame										
	<i>Ae. aegypti</i>					<i>Ae. albopictus</i>				
Segundos	60	120	180	240	300	60	120	180	240	300
M	0,00	0,00	0,00	0,05	0,05	0,05	0,25	0,30	0,35	0,35
D.P.	0,00	0,00	0,00	0,22	0,22	0,22	0,55	0,57	0,59	0,59
Tela Sumitomo										
	<i>Ae. aegypti</i>					<i>Ae. albopictus</i>				
Segundos	60	120	180	240	300	60	120	180	240	300
M	0,15	0,50	0,75	0,90	1,00	0,85	1,35	2,25	2,70	3,05
D.P.	0,37	0,51	0,72	0,79	0,86	0,75	0,93	1,21	1,17	1,36

M. – Média

Na Tabela 9 foi utilizado o período de 5 min, conforme está disposto para que se pudesse demonstrar a diferença entre as espécies. No entanto, quando do cálculo do TP₅₀ utilizou-se os períodos que de fato tomasse uma amplitude de dados ao redor de 50% para que dessa forma pudessem ser feitos os cálculos. Por exemplo, nos cálculos para *Ae. aegypti*, utilizou-se o período de 30 à 150 seg para a Tela *Ricca Un* e 180 à 270 seg para a Tela *Guarany*.

3.1. Comportamento relativo à passagem pelos vazados

A passagem pelos vazados dependeu esforços diferenciados, sendo que para os maiores vazados (telas *Ricca Un* e *Sumitomo*) as fêmeas de ambas espécies conseguiram passar sem pousar. Mas a maioria dos indivíduos ainda tocava a tela durante o vôo, antes de encontrar o vazado. Já para as outras duas telas de vazado menor (*Guarany* e *Perame*) os indivíduos sempre pousaram. E quando passaram o vazado, o fizeram esgueirando-se entre

os fios, sendo que primeiramente inseriam a probóscide e a cabeça, e em seguida o restante do corpo. Itoh et al. (1986) descreveram o comportamento de *Cx. pipiens pallens* como sendo semelhante aos resultados obtidos no presente trabalho, sendo que para os vazados menores os mosquitos também tiveram que pousar, e passar esgueirando-se entre os fios. Já nas telas com vazados maiores, conseguiram passar sem pousar. Os autores concluíram que telas com vazados menores que a abertura das asas do mosquito em vôo, leva-os a pousar ou entrar em contato com a tela, na tentativa de passar. A medida dos vazados das telas utilizadas por esses pesquisadores foi 8x8 mm, 16x16 mm e 32x32 mm. No presente trabalho o tamanho médio dos vazados foi menor, sendo para a tela *Ricca Un* 4,21x4,97 mm, *Guarany* 2,36x1,84 mm, *Perame* 1,50x2,19 mm e *Sumitomo* 4,62x2,89 mm. Analisando a diferença entre os tamanhos de vazados utilizados no presente trabalho e aqueles usados por Itoh et al. (1986), conclui-se que *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* é mais eficiente do que *Cx. pipiens pallens* em transpor telas com vazados pequenos.

3.2. Tamanho dos mosquitos e Tamanho dos vazados

As fêmeas de *Ae. aegypti* mostraram possuir asas maiores do que as de *Ae. albopictus*, havendo diferença significativa ($F=74,31$; d.p. 0,22; $p<0,05$), sendo o tamanho médio para a primeira espécie $2,55 \text{ mm} \pm 0,20$ e para a segunda $2,36 \text{ mm} \pm 0,24$.

A variação no comprimento das asas de ambas espécies, medida pela razão do comprimento máximo pelo comprimento mínimo, foi 1,01 mm para *Ae. aegypti* e 1,13 mm para *Ae. albopictus*. A envergadura de um animal alado é igual à distância entre as pontas das suas asas, quando completamente estendidas. Isto obviamente é igual também à soma das medidas das asas direita e esquerda, mais a distância entre os pontos onde as asas se inserem no tórax. No presente estudo, a envergadura média das fêmeas de ambas espécies foi maior do que os vazados de todas as telas utilizadas.

Considerando-se a porcentagem de indivíduos que passaram pelas telas (ver Tabela 8), observa-se que para as três primeiras telas, ocorreu uma relação direta entre o tamanho do indivíduo com o tamanho do vazado, ou seja, uma maior proporção de *Ae. aegypti* passou pelas telas *Ricca Un* e *Guarany*, mesmo sendo um mosquito maior. Já *Ae. albopictus*, sendo menor, obteve maior sucesso na transposição pela Tela *Perame*, que é a menor.

Por estar industrialmente impregnada com inseticida, a tela *Sumitomo* não foi avaliada quanto ao fator tamanho dos indivíduos, pois se considerou que o inseticida influenciou muito mais o sucesso de transposição das fêmeas do que o tamanho dos vazados.

Quanto ao tempo para as fêmeas passarem as telas (ver Tabela 9), o padrão encontrado na discussão anterior se manteve, sendo que *Ae. aegypti* passou mais rápido do que *Ae. albopictus* pelas telas *Ricca Un* e *Guarany*. Para a tela *Perame* ocorreu o inverso, *Ae. albopictus* foi mais rápido. Fica claro que o tamanho do indivíduo interfere na proporção e na rapidez para a transposição, dependendo entretanto do tamanho do vazado. Esses resultados mostram que não há, portanto, de forma generalizada, uma capacidade específica maior de *Ae. albopictus* em passar por telas, pois caso isso fosse verdade, deveria também ter passado com mais sucesso (mais indivíduos e mais rápido), também pelas telas maiores. Mas conclui-se que essa espécie tem entretanto, uma maior capacidade de superar telas de vazado pequeno, quando comparado com *Ae. aegypti*.

Os resultados obtidos quanto aos estudos sobre a eficiência de transposição de telas pelos mosquitos dentro do sistema fechado (câmara K&L-Unicamp), demonstram que as fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* possuem alguma capacidade de transpor obstáculos para obter o repasto sanguíneo. Um fato a ser considerado é que *Ae. albopictus* demonstrou ser eficiente em transpor os pequenos vazados, assim como a tela impregnada (Olyset Net®). Essa condição é um fator determinante no momento de decidir qual tipo de tela a utilizar em uma área onde há infestação de *Ae. albopictus*, pois se as fêmeas conseguem transpor essas telas, há necessidade de reavaliar a opção de controle dos adultos, vinculada ao uso de telas.

4. CONCLUSÕES

- 1) Fêmeas dos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* obtiveram sucesso em transpor as telas comerciais que aparentemente poderiam evitá-las;
- 2) A forma do vazado não exerceu influência sobre a capacidade de transposição;
- 3) A espécie *Ae. albopictus* foi mais eficiente em transpor a tela com vazados menores e aquela impregnada (tela *Perame* e *Sumitomo*, respectivamente);
- 4) *Ae. aegypti* foi mais eficiente em transpor as telas com os vazados maiores (telas *Ricca Un* e *Guarany*);
- 5) O inseticida impregnado na tela *Sumitomo* exerceu maior influência na transposição do que o próprio tamanho do vazado.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABOU-DONIA, M.B; GOLDESTEIN, L.B.; DECHOVSKAIA, A.; BULLMAN, S.; JONES, K.H.; HERRICK, E.A.; ABDEL-RAHMAN, A.A.; KHAN, W.A. Effects of daily dermal application of DEET and permethrin, alone and in combination, on sensorimotor performance, blood-brain barrier, and blood-testis barrier in rats. **Journal of Toxicology and Environmental Health Part A**, 62, n 7, p. 523-541, 2001.

ANSARI, M.A.; RAZDAN, R.K. Relative efficacy of insecticide treated mosquito nets (Diptera: Culicidae) under field conditions. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 1, p. 201-204, 2000.

ASIDI, A.N.; N'GUESSAN, R.N.; HUTCHINSON, R.A.; TRAORÉ-LAMIZANA, M.; CARNEVALE, P.; CURTIS, C.F. Experimental hut comparisons of nets treated with carbamate or pyrethroid insecticides, washed or unwashed, against pyrethroid-resistant mosquitoes. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 2, p. 134-140, 2004.

AYRES, M.; JR. AYRES, M.; AYRES, D.M.; SANTOS, A.S. **BioEstat 3.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Brasília, Sociedade Civil Mamirauá - Belém, CNPq, 2003.

BASIMIKE, M.; MUTINGA, M.J. Effects of permethrin-treated screens on phlebotomine sand flies, with reference to *Phlebotomus martini* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 428-431, 1995. BINKA, F.N.; KUBAJE, A.; ADJIUK, M.; WILLIAMS, L.A.; LENGELER, C.; MAUDE, G.H.; ARMAH, G.E.;

KAJIHARA, B.; ADIAMA, J.H.; SMITH, P.G. Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassene-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. **Tropical Medicine and International Health**, v. 1, p. 147-154, 1996.

BOREHAM, P.F.L.; PORT, G.R. The distribution and movement of engorged females of *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae) in a Gambian village. **Bulletin of Entomological Research**, 72: 489-495, 1982.

BRINKMANN, U.; BRINKMANN, A. Economics aspects of the use of impregnated mosquito for malaria control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 73, n. 5, p. 651-658, 1995.

BUESCHER, M.D.; RUTLEDGE, L.C.; WIRTZ, R.A. Tests of commercial repellents on human-skin against *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, v. 42, n. 3, p. 428-433, 1982.

BURKOT, T.R.; GARNER, P.; PARU, R.; DAGORO, H.; BARNES, A.; McDOUGALL, S.; WIRTZ, R.A.; CAMPBELL, G.; SPARK, R. Effects on untreated bednets on the transmission of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax* and *Wuchereria bancrofti* in Papua New Guinea. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, p. 773-779, 1990.

CARNEVALE, P.J.; N'GUESSAN, R.; DARRIET, F. Long-lasting anti-mosquito efficacy of a commercially impregnated bednet. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 4, p. 379-380, 1998.

CHAVASSE, D.; REED, C.; ATTAWELL, K. **Insecticide treated net projects: a handbook for managers**. Malaria Consortium: London & Liverpool, 1999.

CHOI, H.W.; BREMAN, J.G.; TEUTSCH, S.M.; LIN, S.; HIGHTOWER, A.W.; SEXTON, J.D. The effectiveness on insecticide-impregnated bednets in reducing cases of malaria infection: a meta-analysis of published results. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 52, p. 377-382, 1995.

CLARKE, S.E.; BOGH, C.; BROWN, R.C.; PINDER, M.; WALRAVEN, G.E.L.; LINDSAY, S.W. Do untreated bednets protect against malaria? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 5, p. 457-462, 2001.

CURTIS, C.F.; MYAMBA, J.; WILKES, T.J. Comparison of different insecticides and fabrics for anti-mosquito bednets and curtains. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 1996.

- D'ALESSANDRO, U.; OLALEYE, O.; McGUIRE, W.; THOMSON, M.C.; LANGEROCK, P.; BENNETT, S.; GREENWOOD, B.M. A comparison of the efficacy of insecticide-treated and untreated bednets in preventing malaria in Gambian children. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 596-598, 1995.
- FAYE, O.; KONATÉ, L.; GAYE, O.; FONTENILLE, D.; SY, N.; DIOP, A.; DIAGNE, M.; MOLEZ, J.-F. Impact de l'utilisation des moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine sur la transmission du paludisme dans un village hyperendémique du Senegal. **Médecine Tropicale**, v. 58, p. 355-360, 1998.
- FANELLO, C.; CARNEIRO, I.; ILBOUDO-SANOOGO, E.; CUZIN-OUATTARA, N.; BADOLO, A.; CURTIS, C.F. Comparative evaluation of carbosulfan- and permethrin-impregnated curtains for preventing house-entry by the malaria vector *Anopheles gambiae* Burkina Faso. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, p. 333-338, 2003.
- GLEISER, R.M.; URRUTIA, J.; GORLA, D.E. Body size variation of the floodwater mosquito *Aedes albifasciatus* in Central Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 14, p. 38-43, 2000.
- GREENWOOD, B.M.; BAKER, J.R. A malaria control trial using insecticide-treated bednets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical and Medicine Hygiene**, v. 87, suppl. 2, 1993.
- HOUARD, J.-M.; CORBEL, V.; N'GUESSAN, R.; DARRIET, F.; CHANDRE, F.; AKOGBÉTO, M.; BALDET, T.; GUILLET, P.; CARNEVALE, P.; TRAORÉ-LAMIZANA, M. Efficacy of mosquito nets treated with insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Côte d'Ivoire. **Bulletin of Entomological Research**, v. 93, n. 6, p. 491-498, 2003.
- HUAILU, C.; WEN, Y.; WUANMIN, K.; CHONGYI, L. Large-scale spraying of bednets to control mosquito vectors and malaria in Sichuan, China. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 73, n. 3, p. 321-328, 1995.

- IKESHOJI, T.; BAKOTEE, B. Effects and usages of permethrin-treated mosquito nets in the malaria control program in Honiara and the environmental. **Medical Entomology and Zoology**, v. 47, p. 331-337, 1996.
- IKESHOJI, T.; BAKOTEE, B. Dynamics of permethrin on mosquito nets used in the malaria control program in Honiara, Solomon Islands. **Medical Entomology and Zoology**, v. 48, p. 25-31, 1997.
- ITOH, T.; SHINJO, G.; KURIHARA, T. Studies on wide mesh netting impregnated with insecticides against *Culex* mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, n. 4, p. 503-506, 1986.
- ITOH, T.; SHINJO, G.; KURIHARA, T. Efficacy of pyrethroid-treated wide-mesh netting in preventing mosquitoes from passing through and biting. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 41, n. 2, p. 77-80, 1990.
- ITOH, T.; OKUNO, T. Evaluation of the polyethylene net incorporated with permethrin during manufacture of thread on efficacy against *Aedes aegypti* (Linnaeus). **Medical Entomology and Zoology**, v. 47, p. 171-174, 1996.
- KOBAYASHI, J.; PHOMPIDA, S.; TOMA, T.; LOOAREENSUWAN, S.; TOMA, H.; MIYAGI, I. The effectiveness of impregnated bednet in malaria control in Laos. **Acta Tropica**, v. 89, n. 3, p. 299-308 2004.
- LEORA Software. **POLO-PC a User's Guide to Probit or Logit Analysis**. LeOra Software, Berkeley, 1987, 22p.
- LYIMO, E.O.; MSUYA, F.H.M.; RWEGOSHORA, R.T.; NICHOLSON, E.A.; MNZAVA, A.E.P.; LINES, J.D.; CURTIS, C.F. Trial of pyrethroid impregnated bednets in an area of Tanzania holoendemic for malaria. Part 3. Effects on the prevalence of malaria parasitaemia and fever. **Acta Tropica**, v. 49, p. 157-163, 1991.
- MOSQUITO-L, the Mosquito Mailing List. Mosquito Mailing List Archives. Disponível em <http://www.ent.iastate.edu/maillinglist/archives/mosquito-l/>. [Acesso em: 05 jun. 2004].
- MWANGI, T.W.; ROSS, A.; MARSH, K.; SNOW, R.W. The effects of untreated bednets on malaria infection and morbidity on the Kenyan coast. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 4, p. 369-372, 2003.
- N'GUESSAN, R.; DARRIET, F.; DOANNIO, J.M.C.; CHANDRE, F.; CARNEVALE, P. Olyset Net® efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex*

quinquefasciatus after 3 years' field use in Côte d'Ivoire. **Medical and Veterinary Entomology**, 15(1): 97-104, 2001.

NGUYEN, H.T.; TIEN, T.V.; TIEN, N.C.; NINH, T.U.; HOA, N.T. The effect of Olyset Net screen to control the vector of dengue fever in Viet Nam. **Dengue Bulletin**, v. 20, p. 87-91, 1996.

NET Gain for Africa Task Force: Increasing the availability of insecticide-treated nets for malaria control in sub-Saharan Africa through public-private partnerships. **TDR news**, n. 53, jun. 1997.

NEVILL, C.G.; SOME, E.S.; MUNG'ALA, V.O.; MUTEMI, W.; NEW, L.; MARSH, K.; LENGELER, C.; SNOW, R.W. Insecticide-treated bednets reduce mortality and severe morbidity from malaria among children on the Kenyan coast. **Tropical Medicine and International Health**, v. 1, p. 139-146, 1996.

PACKER, M.J.; CORBET, P.S. Size variation and reproductive success of female *Aedes punctor* (Diptera: Culicidae). **Ecological Entomology**, v. 14, p. 297-309, 1989.

PALSSON, K.; JAENSON, T.G.T. Comparison of plant products and pyrethroid-treated bednets for protection against mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Guinea Bissau, West Africa. **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 144-148, 1999.

PATES, H.V.; LINES, J.D.; KETO, A.J.; MILLER, J.E. Personal protection against mosquitoes in Dar es Salaam, Tanzania, by using a kerosene oil lamp to vaporize transfluthrin. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 16, n. 3, p. 277-284, 2002.

POOPATHI, S.; RAO, D.R. Pyrethroid-impregnated hessian curtains for protection against mosquitoes indoors in South India. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, p. 169-175, 1995.

PORT, G.R.; BOREHAM, P.F.L. The effect of bednets on feeding by *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, p. 483-488, 1982.

POSITIVE bednet results from The Gambia. **TDR news**, n. 46, nov. 1994.

SCHRECK, C.E.; WEIDHAAS, D.E.; SMITH, N.; POSEY, H. Chemical treatment of wide-mesh net clothing for personal protection against blood-feeding arthropods. **Mosquito News**, v. 37, n. 3, p. 455-462, 1977a.

SOMBOON, P.; LINES, J.; ARAMRATTANA, A.; CHITPRAROP, U.; PRAJAKWONG, S.; KHAMBOONRUANG, C. Entomological evaluation of community-wide use of

lambda-cyhalothrin impregnated bed net against malaria in a border area of north-west Thailand. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 248-254, 1995.

TENG, H.-J.; APPERSON, C.S. Development and survival of immature *Aedes albopictus* e *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the laboratory: Effects of density, food, and competition on response to temperature. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 40-52, 2000.

VYTHILINGAM, I.; PASCUA, B.P.; MAHADEVAN, S. Assessment of a new type of permethrin impregnated mosquito net. **Journal of Bioscience**, v. 7, p. 63-70, 1996.

YOUNG, G.D.; EVANS, S. Safety and efficacy of DEET and permethrin in the prevention of arthropod attack. **Military Medicine**, v. 163, n. 5, p. 324-330, 1998.

WORLD Health Organization. **A global strategy for malaria control**. Geneva: World Health Organization, 1993.

4. COMENTÁRIOS GERAIS

O desenvolvimento de sistemas fechados como câmara-teste, entre outros, é bastante comum e relevante quando nos reportamos a estudos realizados com vetores, pois esses sistemas acabam por permitir que um experimento seja padronizado e a obtenção de dados seja facilitada. Esse fato é comprovado com os estudos, nos quais utilizam-se esses sistemas, datarem de pelo menos o início do século passado. O presente trabalho visou desenvolver um sistema para que os estudos pudessem ser direcionados exclusivamente para o laboratório, pois nossas colônias de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são mantidas para essas finalidades. O sistema aqui desenvolvido é mais uma contribuição para a área de pesquisa relacionada ao assunto voltado para sistemas fechados. Além disso, a simplicidade com que nosso sistema foi desenvolvido é importante para demonstrar que em nosso país é possível trabalhar com escassez de recursos e obter resultados importantes para a saúde pública. A eficácia da câmara-teste desenvolvida pôde adicionalmente ser demonstrada pelos trabalhos de avaliação de repelentes eletrônicos e os estudos sobre a eficiência de mosquitos em transpor telas.

Apesar de vários repelentes eletrônicos terem sido demonstrados ineficazes já há algum tempo, ainda é necessário continuar com as avaliações, pois o mercado brasileiro está servindo de paradeiro para esses produtos. Tais repelentes, em sua maioria, são importados, o que demonstra que no Brasil não há uma preocupação realmente séria com os problemas que podem ser causados pela entrada de produtos com propagandas enganosas. Além disso, dois dos aparelhos avaliados são desenvolvidos pela indústria nacional, aproveitando-se da inexistência de leis normativas. No presente trabalho foi possível demonstrar que os repelentes eletrônicos que ainda não haviam sido avaliados continuam sendo enganosamente propalados como eficazes. Porém, a situação ainda mais agravante é aquela no qual conseguimos demonstrar empiricamente que alguns repelentes eletrônicos fazem com que as fêmeas de *Ae. aegypti* sejam, de alguma forma, influenciadas a picar com maior frequência. Esse fato é mais um motivo para que os repelentes eletrônicos sejam banidos do mercado nacional e internacional. Nossos contatos com alguns órgãos responsáveis pela normatização e liberação comercial de produtos no Brasil não obtiveram sucesso em demonstrar a importância dos repelentes eletrônicos como um fator relacionado à transmissão de doenças por *Ae. aegypti* ou, essa situação foi reconhecida como

problemática, porém a questão está na morosidade dos órgãos públicos em resolver questões relacionadas à saúde pública (ver ANEXO I). Além disso, a retirada desses produtos do mercado envolve questões econômicas. Por isso, concluímos que é mais fácil se manter à parte da discussão do que sancionar uma lei proibitiva que venha favorecer a população brasileira.

Atualmente, telas denominadas mosquiteiros (*bednet*) são largamente utilizadas na prevenção da malária nos países africanos. No Brasil, a região amazônica tem sido o foco para a utilização desse tipo de telas. Por causa do enfoque estar voltado para a proteção contra as picadas do *Anopheles* spp., vários estudos demonstrando a eficiência de transposição dessa espécie de mosquito têm sido realizados. Porém, telas para proteção podem ser utilizadas também contra os *Aedes* spp. Mas poucos estudos têm sido realizados com essas espécies. No presente trabalho foi possível demonstrar que *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* conseguem passar pelas telas aqui utilizadas, mesmo que essas possuam vazados pequenos. Um fato ainda mais importante é que *Ae. albopictus* foi bastante eficiente em transpor as telas com os vazados menores e ainda aquela impregnada com inseticida. Essa espécie é a vetora primária da dengue em países asiáticos. No Brasil, ainda não se tem comprovado sua capacidade de transmissão da mesma doença. Mediante os resultados do presente trabalho e em havendo novas epidemias de dengue, pode-se dizer que a transmissão de dengue por *Ae. aegypti* poderá ser diminuída se houver a utilização de telas como cortinas nas portas e janelas. Já, para *Ae. albopictus* não podemos fazer a mesma afirmação.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Capítulo I

- A câmara-teste desenvolvida é passível de ser utilizada para diversos estudos com adultos de *Aedes* spp., como por exemplo, estudos comportamentais, avaliação de produtos para proteção pessoal, entre outros.

Capítulo II

- Os repelentes eletrônicos avaliados não são eficazes quanto a repelir fêmeas de *Aedes aegypti*. Além disso, alguns dos repelentes eletrônicos e três frequências sonoras do software demonstraram fazer aumentar a frequência de ataque das fêmeas para tentar obter o repasto sanguíneo.

Capítulo III

- As fêmeas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são eficientes em transpor obstáculos como as telas aqui utilizadas, dependendo do tamanho dos vazados de cada tela. *Ae. aegypti* foi mais eficiente em transpor as telas com os vazados maiores e *Ae. albopictus* demonstrou ter maior eficiência na transposição da tela com o vazado menor e aquela impregnada.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA GERAL (ABNT – NBR 6023 de Agosto de 2002)

ACREE, F.; TURNER, R.B.; GOUCK, H.K.; BEROZA, M.; SMITH, N. L-lactic acid - A mosquito attractant isolated from humans. **Science**, v. 161, n 3848, p. 1346-1348, 1968.

ALLAN, S.A.; DAY, J.F.; EDMAN, J.D. Visual ecology of biting flies. **Annual Review of Entomology**, v. 32, p. 297-316, 1987.

ALLAN, S.A. Physics of mosquito vision - an overview. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n 2, p. 266-271, 1994.

ANDRADE, C.F.S.; BUENO, V.S. Evaluation of Electronic Mosquito-Repelling Devices Using *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 497-499, 2001a.

ANDRADE, C.F.S. & BUENO, V.S. Evaluation of three laboratory methods for the comparative test of mosquito repellents using *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera, Culicidae). **Annals Medical Entomology**, v. 10, n. 2, p. 34-40, 2001b.

ANSARI, M.A.; RAZDAN, R.K. Relative efficacy of insecticide treated mosquito nets (Diptera: Culicidae) under field conditions. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 1, p. 201-204, 2000.

ASIDI, A.N.; N'GUESSAN, R.N.; HUTCHINSON, R.A.; TRAORÉ-LAMIZANA, M.; CARNEVALE, P.; CURTIS, C.F. Experimental hut comparisons of nets treated with carbamate or pyrethroid insecticides, washed or unwashed, against pyrethroid-resistant mosquitoes. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 2, p. 134-140, 2004.

AYRES, M.; JR. AYRES, M.; AYRES, D.M.; SANTOS, A.S. **BioEstat 3.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Brasília, Sociedade Civil Mamirauá - Belém, CNPq, 2003.

BARRIDO, R.; BROWN, J.; NOVAK, R.; BORENBAUM, M. A test of the efficacy of ultrasonic mosquito repellents. **Vector Control Bulletin North Central States**, v. 2, n. 2, p. 65-69, 1993.

BASIMIKE, M.; MUTINGA, M.J. Effects of permethrin-treated screens on phlebotomine sand flies, with reference to *Phlebotomus martini* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 428-431, 1995.

- BEIER, J.C. Malaria parasite development in mosquitoes. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 519-43, 1998.
- BELTON, P. Trapping mosquitoes with sound. **Proceedings of the California Mosquito Control Association**, v. 35, p. 98, 1967.
- BELTON, P. An acoustic evaluation of electronic mosquito repellents. **Mosquito News**, v. 41, n. 4, p. 751-755, 1981.
- BELTON, P. Attraction of male mosquitoes to sound. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 297-301, 1994.
- BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; BARNARD, D.R.; SCHREEK, C.E.; YOST, R.A. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 747-756, 2000.
- BIDLINGMAYER, W.L. How mosquitoes see traps: role of visual responses. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 272-279, 1994.
- BINKA, F.N.; KUBAJE, A.; ADJIUK, M.; WILLIAMS, L.A.; LENGELER, C.; MAUDE, G.H.; ARMAH, G.E.; KAJIHARA, B.; ADIAMAH, J.H.; SMITH, P.G. Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassene-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. **Tropical Medicine and International Health**, v. 1, p. 147-154, 1996.
- BOREHAM, P.F.L.; PORT, G.R. The distribution and movement of engorged females of *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae) in a Gambian village. **Bulletin of Entomological Research**, 72: 489-495, 1982.
- BRAKS, M.A.H.; MEIJERINK, J.; TAKKEN, W. The response of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to two components of human sweat, ammonia and L-lactic acid, in an olfactometer. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 142-148, 2001.
- BRINKMANN, U.; BRINKMANN, A. Economics aspects of the use of impregnated mosquito for malaria control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 73, n. 5, p. 651-658, 1995.
- BROWN, A.W.A. Factors which attract *Aedes* mosquitoes to humans. **Proceedings 10th International Congress Entomology**, Montreal, ano 1956, v. 3, p. 757-763, 1958.

- BROWN, MD; HENDRIKZ, J.K; GREENWOOD, J.G.; KAY, B.H. Evaluation of *Mesocyclops aspericornis* (Cyclopoida: Cyclopidae) and *Toxorhynchites speciosus* as integrated predators of mosquitoes in tire habitats in Queensland. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 12, n. 3, p. 414-420, Part 1, 1996.
- BROWNE, L.B. Host-related responses and their suppression: some behavioral considerations. In: SHORREY, H.H.; McKELVEY Jr., J.J. **Chemical control of insect behavior**. New York: John Wiley & Sons, 1977.
- BUENO, Virgínia de Souza Bueno. **Avaliação em laboratório de repelentes para proteção pessoal utilizando-se o mosquito *Aedes (S.) albopictus* (SKUSE) como modelo**. Campinas, SP: UNICAMP, 1999. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 1999.
- BUESCHER, M.D.; RUTLEDGE, L.C.; WIRTZ, R.A. Tests of commercial repellents on human-skin against *Aedes aegypti*. **Mosquito News**, v. 42, n. 3, p. 428-433, 1982.
- BURKETT, D.A.; LEE, W.J.; LEE, K.W.; KIM, H.C.; LEE, H.I.; LEE, J.S.; SHIN, E.H.; WIRTZ, R.A.; CHO, H.W.; CLABORN, D.M.; COLEMAN, R.E.; KLEIN, R.A. Light, carbon dioxide, and octenol-baited mosquito trap and host-seeking activity evaluations for mosquitoes in a malarious area of the Republic of Korea. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 3, p. 196-205, 2001.
- BURKOT, T.R.; GARNER, P.; PARU, R.; DAGORO, H.; BARNES, A.; McDOUGALL, S.; WIRTZ, R.A.; CAMPBELL, G.; SPARK, R. Effects on untreated bednets on the transmission of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax* and *Wuchereria bancrofti* in Papua New Guinea. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, p. 773-779, 1990.
- CARNEVALE, P.J.; N'GUESSAN, R.; DARRIET, F. Long-lasting anti-mosquito efficacy of a commercially impregnated bednet. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 4, p. 379-380, 1998.
- CARLSON, D.A., SCHRECK, C.E., BRENNER, R.J. Carbon-dioxide released from human skin – effect of temperature and insect repellents. **Journal of Medical Entomology**, v. 29, n. 2, p. 165-170, 1992.

CHAREONVIRIYAPHAP, T; PRABARIPAI, A.; SUNGVORNYOTHRIN, S. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral tests. **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 2, p. 250-252, 2002.

CHARLWOOD, J. D. Observações sobre o comportamento de acasalamento de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Acta Amazonica**, v. 0, n. 3, p. 463-470, 1979.

CHARLWOOD, J.D.; PINTO, J.; SOUSA, C.A.; MADSEN, H.; FERREIRA, C.; ROSARIO, V.E. The swarming and mating behaviour of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) from São Tomé Island. **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 2, p. 178-183, 2002.

CHAVASSE, D.; REED, C.; ATTAWELL, K. **Insecticide treated net projects: a handbook for managers**. Malaria Consortium: London & Liverpool, 1999.

CHOI, H.W.; BREMAN, J.G.; TEUTSCH, S.M.; LIN, S.; HIGHTOWER, A.W.; SEXTON, J.D. The effectiveness on insecticide-impregnated bednets in reducing cases of malaria infection: a meta-analysis of published results. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 52, p. 377-382, 1995.

CILEK, J.E.; KLINE, D.L. Adult biting midge response to trap type, carbon dioxide, and an octenol-phenol mixture in northwestern Florida. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 3, p. 228-231, 2002.

CLARKE, S.E.; BOGH, C.; BROWN, R.C.; PINDER, M.; WALRAVEN, G.E.L.; LINDSAY, S.W. Do untreated bednets protect against malaria? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 5, p. 457-462, 2001.

CLEMENTS, A.N. **The Biology of Mosquitoes - Sensory Reception and Behavior**, vol. 2, CABI Publishing, 1999.

CONSOLI, R.A.G.B; OLIVEIRA, R.L. **Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 1994.

COOPER, R.D.; FRANCES, S.P.; POPAT, S.; WATERSON, D.G.E. The effectiveness of light, 1-octen-3-ol, and carbon dioxide as attractants for anopheline mosquitoes in Madang Province, Papua New Guinea. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 20, n. 3, p. 239-242, 2004.

- CORK, A. Olfactory basis of host location by mosquitoes and other haematophagous Diptera. Olfaction in mosquito-host interactions, **CIBA Foundation Symposia**, v. 200, p. 71-88, 1996.
- CORO, F.; SUÁREZ, S. Repelentes electrónicos contra mosquitos: propaganda y realidad. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 50, n. 2, p. 89-92, 1998.
- COSTANTINI, C.; BIRKETT, M.A.; GIBSON, G.; ZIESMANN, J.; SAGNON, N.F.; MOHAMMED, H.A.; COLUZZI, M.; PICKETT, J.A. Electroantennogram and behavioral responses of the malaria vector *Anopheles gambiae* to human-specific sweat components. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, n. 3, p. 259-266, 2001.
- CURTIS, C.F. Once bitten, twice shy. **New Scientist**, v. 93, p. 1291, 1982.
- CURTIS, C.F. Anti-mosquito buzzers, Advertising and the law. **Wing Beats Winter**, v. 6, p. 10-11, 1994.
- CURTIS, C.F.; MYAMBA, J.; WILKES, T.J. Comparison of different insecticides and fabrics for anti-mosquito bednets and curtains. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 10, n. 1, p. 1-11, 1996.
- D'ALESSANDRO, U.; OLALEYE, O.; MCGUIRE, W.; THOMSON, M.C.; LANGEROCK, P.; BENNETT, S.; GREENWOOD, B.M. A comparison of the efficacy of insecticide-treated and untreated bednets in preventing malaria in Gambian children. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 596-598, 1995.
- DAVID, C.T.; KENNEDY, J.S.; LUDLOW, A.R.; PERRY, J.N.; WALL, C. A reappraisal of insect flight towards a distant point source of wind-borne odour. **Journal of Chemical Ecology**, v. 8, p. 1207-1215, 1982.
- DAVIS, E.E.; SOKOLOVE, P.G. Lactic acid sensitive receptors on antennae of mosquito, *Aedes aegypti*. **Journal of Comparative Physiology**, v. 105, n.1, p. 43-54, 1976.
- DAVIS, E.E. Insect repellents: concepts of their mode of action relative to potential sensory mechanisms in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 22, p. 237-243, 1985.
- DAVIS, E.E.; HAGGART, D.A.; BOWEN, M.F. Receptors mediating host-seeking behaviour in mosquitoes and their regulation by endogenous hormones. **Insect Science and its Application**, v. 8, p. 637-641, 1987.

- DAVIS, E.E.; BOWEN, M.F. Sensory physiological basis for attraction in mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 10, n. 2, p. 316-325, 1994.
- DE JONG, R.; KNOLS, B.G.J. Selection of biting sites on man by two malaria mosquito species. **Experientia**, v. 51, p. 80-84, 1995a.
- DE JONG, R.; KNOLS, B.G.J. Olfactory responses of host-seeking *Anopheles gambiae s.s.* Giles (Diptera: Culicidae). **Acta Tropical**, v. 59, p. 333-335, 1995b.
- DEKKER, T.; TAKKEN, W.; KNOLS, B.G.J.; BOUMAN, E.; VAN DE LAAK, S.; DE BEVER, A.; HUISMAN, P.W.T. Selection of biting sites on a human host by *Anopheles gambiae s.s.*, *An. arabiensis* and *An. quadriannulatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 87, n. 3, p. 295-300, 1998.
- DEKKER, T.; TAKKEN, W.; CARDÉ, R.T. Structure of host-odour plumes influences catch of *Anopheles gambiae s.s.* and *Aedes aegypti* in a dual-choice olfactometer. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 124-134, 2001.
- DETHIER, V.G.; BROWN, L.B.; SMITH, C.N. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 53, p. 134-136, 1960.
- DOGAN, E.B.; AYRES, J.W.; ROSSIGNOL, P.A. Behavioural mode of action of deet: inhibition of lactic acid attraction. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, p. 97-100, 1999.
- DOGAN, E.B.; ROSSIGNOL, P.A. An olfactometer for discriminating between attraction, inhibition, and repellency in mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36 n. 6, p. 788-793, 1999.
- DOWNES, J.A. The swarming and mating flight of Diptera. **Annual Review of Entomology**, v. 14, p. 271-298, 1969.
- EIRAS, A.E.; JEPSON, P.C. Host location by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): a wind tunnel study of chemical cues. **Bulletin of Entomological Research**, v. 81, p. 151-160, 1991.
- EIRAS, A.E.; JEPSON, P.C. Responses of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to host odours and convection currents using an olfactometer bioassay. **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, p. 20-211, 1994.

FANELLO, C.; CARNEIRO, I.; ILBOUDO-SANOGO, E.; CUZIN-OUATTARA, N.; BADOLO, A.; CURTIS, C.F. Comparative evaluation of carbosulfan- and permethrin-impregnated curtains for preventing house-entry by the malaria vector *Anopheles gambiae* Burkina Faso. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, p. 333-338, 2003.

FAYE, O.; KONATÉ, L.; GAYE, O.; FONTENILLE, D.; SY, N.; DIOP, A.; DIAGNE, M.; MOLEZ, J.-F. Impact de l'utilisation des moustiquaires pré-imprégnées de perméthrine sur la transmission du paludisme dans un village hyperendémique du Senegal. **Médecine Tropicale**, v. 58, p. 355-360, 1998.

FEINSOD, F.M.; SPIELMAN, A. An olfactometer for measuring host-seeking behavior of female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 15, n. 3, p. 282-285, 1979.

FONSECA, D.M.; KEYGHOBADI, N.; MALCOLM, C.A.; MEHMET, C.; SCHAFFNER, F.; MOGI, M.; FLEISHER, R.C.; WILKERSON, R.C. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. **Science**, v. 303, n. 5, p. 1535-1538, 2004.

FORATTINI, O.P. **Culicidologia Médica**. vol. 2, São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 2002.

FOSTER, W.A.; LUTES, K.I. Tests of ultrasonic emissions on mosquito attraction to hosts in a flight chamber. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 1, n. 2, p. 199-202, 1985.

FOX, A.N.; PITTS, R.J.; ROBERTSON, H.M.; CARLSON, J.R.; ZWIEBEL, L.J. Candidate odorant receptors from the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* and evidence of down-regulation in response to blood feeding. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 98, n. 25, p. 14693-14697, 2001.

FUNDAÇÃO Nacional de Saúde. Dengue no Brasil Situação Atual. Curitiba, PR, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/Seminario/Dengue/funasa.htm>>. [Acesso em: 16 out. 2003].

GARRET, L. **A próxima peste - Novas doenças num mundo de desequilíbrio**. Rio de Janeiro: Ed. Nova Fronteira, 1994.

GEIER, M.; BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 92 (1): 9-19, 1999.

- GEIER, M.; BOSCH, O.J.; BOECKH, J. Influence of odour plume structure on upwind flight of mosquitoes towards hosts. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, n. 12, p. 1639-1648, 1999.
- GIBSON, G.; TORR, S.J. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 13, p. 2-23, 1999.
- GILLIES, M.T.; WILKES, T.J. A comparison of the range of attraction of animal baits and of carbon dioxide for some West African mosquitoes. **Bulletin of Entomological Research**, v. 59, p. 441-456, 1969.
- GILLIES, M.T. The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera: Culicidae): a review. **Bulletin of Entomological Research**, v. 70, p. 525-532, 1980.
- GLARE, T.R.; O'CALLAGHAM, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley and Sons; 2000. p. 350.
- GLEISER, R.M.; URRUTIA, J.; GORLA, D.E. Body size variation of the floodwater mosquito *Aedes albifasciatus* in Central Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 14, p. 38-43, 2000.
- GODDARD, L.B.; ROTH, A.E.; REISEN, W.K.; SCOTT, T.W. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. **Emerging Infectious Diseases**, 8(12): 1385-1391, 2002.
- GONÇALVES, A.J.R. Mudanças dos padrões epidemiológicos e clínicos das doenças infecciosas nos últimos 35 anos. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 68, n. 1/2, p. 19-37, 1995.
- GORHAM, J. R. Tests of mosquito repellents in Alaska. **Mosquito News**, v. 34, n.4, p. 409-415, 1974.
- GÖPFERT M.C.; BRIEGEL, H.; ROBERT, D. Mosquito hearing: sound-induced antennal vibrations in male and female *Aedes aegypti*. **Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 2727-2738, 1999.
- GÖPFERT M.C.; ROBERT, D. Nanometer-range acoustic sensitivity in male and female mosquitoes. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 267, p. 453-457, 2000.
- GOUCK, H.K.; SCHRECK, C.E. An olfactometer for use in the study of mosquito attractants. **Journal of Economic Entomology**, v. 58, n. 3, p. 589-590, 1965.
- GREENLEE, L. Build the bug-shoo. **Popular Eletronics**. July, p. 27-30, 1970.

- GREENWOOD, B.M.; BAKER, J.R. A malaria control trial using insecticide-treated bednets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical and Medicine Hygiene**, v. 87, suppl. 2, 1993.
- HIRABAYASHI, K.; OGAWA, K. The efficiency of artificial wing beat sounds for capturing midges in black light traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 92, p. 233-238, 1999.
- HOCKING, B. Blood-sucking behavior of terrestrial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 16, p.1-26, 1971.
- HOUGARD, J.-M.; CORBEL, V.; N'GUESSAN, R.; DARRIET, F.; CHANDRE, F.; AKOGBÉTO, M.; BALDET, T.; GUILLET, P.; CARNEVALE, P.; TRAORÉ-LAMIZANA, M. Efficacy of mosquito nets treated with insecticide mixtures or mosaics against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Côte d'Ivoire. **Bulletin of Entomological Research**, v. 93, n. 6, p. 491-498, 2003.
- HOWARD, L.O. **Mosquitoes. How they live; how they carry disease; how they are classified; how they may be destroyed.** New York: McClure, Philips and Co., 1901.
- HUAILU, C.; WEN, Y.; WUANMIN, K.; CHONGYI, L. Large-scale spraying of bednets to control mosquito vectors and malaria in Sichuan, China. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 73, n. 3, p. 321-328, 1995.
- IKESHOJI, T. Distribution of the mosquitoes, *Culex tritaeniorhynchus*, in relation to disposition of sound traps in a passy field. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 37, n. 2, p. 153-159, 1986.
- IKESHOJI, T.; BAKOTEE, B. Effects and usages of permethrin-treated mosquito nets in the malaria control program in Honiara and the environmental. **Medical Entomology and Zoology**, v. 47, p. 331-337, 1996.
- IKESHOJI, T.; BAKOTEE, B. Dynamics of permethrin on mosquito nets used in the malaria control program in Honiara, Solomon Islands. **Medical Entomology and Zoology**, v. 48, p. 25-31, 1997.

ITOH, T.; SHINJO, G.; KURIHARA, T. Studies on wide mesh netting impregnated with insecticides against *Culex* mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, n. 4, p. 503-506, 1986.

ITOH, T.; SHINJO, G.; KURIHARA, T. Efficacy of pyrethroid-treated wide-mesh netting in preventing mosquitoes from passing through and biting. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 41, n. 2, p. 77-80, 1990.

ITOH, T.; OKUNO, T. Evaluation of the polyethylene net incorporated with permethrin during manufacture of thread on efficacy against *Aedes aegypti* (Linnaeus). **Medical Entomology and Zoology**, v. 47, p. 171-174, 1996.

JENSEN, T.; LAMPMAN, R.; NOVAK, R.J. Field efficacy of commercial antimosquito products in Illinois. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 2, p. 148-152, 2000.

JOHNSTON, C. Auditory apparatus of the *Culex* mosquito. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, v. 3, p. 97-102, 1855.

KAHN, M.C.; OFFENHAUSER, W. The first field tests of recorded mosquito sounds used for mosquito destruction. **American Journal of Tropical and Medicine**, 29: 811-825, 1949.

KHAN, A.A.; MAIBACH, H.I.; STRAUSS, W.G.; FENLEY, W.R. Screening humans for degrees of attractiveness to mosquitoes. **Journal of Economic Entomology**, v. 58, p. 694-697, 1965.

KLOWDEN, M. J.; LEA, A.O. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, n. 4, p. 827-831, 1978.

KLOWDEN, M.J. Blood, Sex, and the Mosquito. **BioScience**, v. 45, n. 5, p. 326-331, 1995.

KNAB, F. The swarming of *Culex pipiens*. **Psyche**, v. 13, p. 123-133, 1906.

KNAB, F. The swarming of *Anopheles punctipennis* Say. **Psyche**, v. 14, p. 1-4, 1907.

KNOLS, B.G.J.; vanLOON, J.J.A.; CORK, A.; ROBINSON, R.D.; ADAM, W.; MEIJERINK, J.; DeJONG, R.; TAKKEN, W. Behavioural and electrophysiological responses of the female malaria mosquito *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) to Limburger cheese volatiles. **Bulletin of Entomological Research**, v. 87, n. 2, p. 151-159, 1997.

- KNOLS, B.G.J.; MEIJERINK, J. Odors influence mosquito behavior. **Science & Medicine**, v. 4, n. 5, p. 56-63, 1997.
- KNUDSEN, A.B.; SLOOFF, R. Vector-borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 70, n. 1, p. 1-6, 1992.
- KOBAYASHI, J.; PHOMPIDA, S.; TOMA, T; LOOAREENSUWAN, S.; TOMA, H.; MIYAGI, I. The effectiveness of impregnated bednet in malaria control in Laos. **Acta Tropica**, v. 89, n. 3, p. 299-308 2004.
- KUSAKABE, Y.; IKESHOJI, T. Comparative attractancy of physical and chemical stimuli to aedine mosquitoes. **Japanese Journal of Sanitary Zoology**, v. 41, n. 3, p. 219-225, 1990.
- KUTZ, F.W. Evaluations of an electronic mosquito repelling device. **Mosquito News**, v. 34, n. 4, p. 369-375, 1974.
- LAND, M.F.; GIBSON, G.; HORWOOD, J. ZEIL, J. Fundamental differences in the optical structure of the eyes of nocturnal and diurnal mosquitoes. **Journal of Comparative Physiology A Sensory, Neural and Behavioral Physiology**, v. 185, n. 1, p. 91-103, 1999.
- LEHANE, M.J. **Biology of blood-sucking insects**. London: Chapman & Hall, 1996. cap. 1 e 2.
- LEORA Software. **POLO-PC a User's Guide to Probit or Logit Analysis**. LeOra Software, Berkeley, 1987, 22p.
- LEWIS, D. J.; FAIRCHILD, W.L.; LEPRINCE, D.J. Evaluation of an electronic mosquito repeller. **Canadian Entomologist**, v. 114, p. 699-702, 1982.
- LYIMO, E.O.; MSUYA, F.H.M.; RWEGOSHORA, R.T.; NICHOLSON, E.A.; MNZAVA, A.E.P.; LINES, J.D.; CURTIS, C.F. Trial of pyrethroid impregnated bednets in an area of Tanzania holoendemic for malaria. Part 3. Effects on the prevalence of malaria parasitaemia and fever. **Acta Tropica**, v. 49, p. 157-163, 1991.
- MAIBACH, H.I.; SKINNER, W.A.; STRAUSS, W.G.; KHAN, A.A. Factors that attract and repel mosquitoes in human skin (*Aedes aegypti*). **The Journal of the American Medical Association**, v. 196, p. 263-166, 1966.
- MANSON, P. On the development of *Filaria sanguinis hominis* and on the mosquito considered as a nurse. **Journal of the Linnean Society of London**, v. 14, p. 304-11, 1878.

- MBOERA, L.E.G.; KNOLS, B.G.J.; TAKKEN, W.; HUISMAN, P.W.T. Olfactory responses of female *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in a dual-choice olfactometer. **Journal of Vector Ecology**, 23(2): 107-113, 1998.
- McDANIEL, I.N. Swarming and mating of univoltine *Aedes* mosquitoes in the laboratory. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2 n. 3, p. 321-324, 1986.
- McIVER, S.B. Sensory aspects of mate-finding behavior in male mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 17, p. 54-57, 1980.
- McIVER, S.B. A model for the mechanism of action of the repellent Deet of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 18, n. 5, p. 357-361, 1981.
- McIVER, S.B. Sensilla of mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 19, n. 5, p. 489-535, 1982.
- MEIJERINK, J.; VANLOON, J.J.A. Sensitivity of antennal olfactory neurons of the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*, to carboxylic acids. **Journal of Insect Physiology**, v. 45, p. 365-373, 1999.
- MELO, A.S.; ANDRADE, C.F.S. Differential predation of the planarian *Dugesia tigrina* on two mosquito species under laboratory conditions. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 17, n. 1, p. 81-83, 2001.
- MOHSEN, Z.H.; JAWAD, A.-L.M.; AL-SAAD, M.; AL-NAIB, A. Anti-oviposition and insecticidal activity of *Imperata cylindrical* (Gramineae). **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, p. 441-442, 1995.
- MOSQUITO-L, the Mosquito Mailing List. Mosquito Mailing List Archives. Disponível em <http://www.ent.iastate.edu/maillinglist/archives/mosquito-l/>. [Acesso em: 05 jun. 2004].
- MURLIS, J.; JONES, C.D. Fine-scale structure of odour plumes in relation to insect orientation to distant pheromone and other attractant sources. **Physiological Entomology**, v. 6, p. 71-86, 1981.
- MWANGI, T.W.; ROSS, A.; MARSH, K.; SNOW, R.W. The effects of untreated bednets on malaria infection and morbidity on the Kenyan coast. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 4, p. 369-372, 2003.
- NET Gain for Africa Task Force: Increasing the availability of insecticide-treated nets for malaria control in sub-Saharan Africa through public-private partnerships. TDR news, n. 53, jun. 1997.

NEVILL, C.G.; SOME, E.S.; MUNG'ALA, V.O.; MUTEMI, W.; NEW, L.; MARSH, K.; LENGELER, C.; SNOW, R.W. Insecticide-treated bednets reduce mortality and severe morbidity from malaria among children on the Kenyan coast. **Tropical Medicine and International Health**, v. 1, p. 139-146, 1996.

N'GUESSAN, R.; DARRIET, F.; DOANNIO, J.M.C.; CHANDRE, F.; CARNEVALE, P. Olyset Net® efficacy against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* after 3 years' field use in Côte d'Ivoire. **Medical and Veterinary Entomology**, 15(1): 97-104, 2001.

NGUYEN, H.T.; TIEN, T.V.; TIEN, N.C.; NINH, T.U.; HOA, N.T. The effect of Olyset Net screen to control the vector of dengue fever in Viet Nam. **Dengue Bulletin**, v. 20, p. 87-91, 1996.

NIELSEN, E.T.; GREVE, H. Studies on the swarming habits of mosquitoes and other Nematocera. **Bulletin of Entomological Research**, v. 41, p. 227-258, 1950.

NIELSEN, E.T.; HAEGER, H.S. Swarming and mating in mosquitos. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 1, p. 71-95, 1960.

OMER, S.M. Responses of females of *Anopheles arabiensis* and *Culex pipiens fatigans* to air currents, carbon dioxide and human hands in a flight-tunnel. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 26, p. 142-151, 1979.

PACKER, M.J.; CORBET, P.S. Size variation and reproductive success of female *Aedes punctor* (Diptera: Culicidae). **Ecological Entomology**, v. 14, p. 297-309, 1989.

PALSSON, K.; JAENSON, T.G.T. Comparison of plant products and pyrethroid-treated bednets for protection against mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Guinea Bissau, West Africa. **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 144-148, 1999.

PATES, H.V.; TAKKEN, W.; CURTIS, C.F.; HUISMAN, P.W.; AKINPELU, O.; GILL, G.S. Unexpected anthropophagic behaviour in *Anopheles quadriannulatus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, p. 293-298, 2001a.

PATES, H.V.; TAKKEN, W.; STUKE, K.; CURTIS, C.F. Differential behaviour of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human and cow odours in the laboratory. **Bulletin of Entomological Research**, v. 91, p. 289-296, 2001b.

PATES, H.V.; LINES, J.D.; KETO, A.J.; MILLER, J.E. Personal protection against mosquitoes in Dar es Salaam, Tanzania, by using a kerosene oil lamp to vaporize transfluthrin. **Medical and Veterinary Entomology**, v 16, n. 3, p. 277-284, 2002.

POOPATHI, S.; RAO, D.R. Pyrethroid-impregnated hessian curtains for protection against mosquitoes indoors in South India. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 9, p. 169-175, 1995.

PORT, G.R.; BOREHAM, P.F.L. The effect of bednets on feeding by *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 72, p. 483-488, 1982.

POSEY, K.H.; BARNARD, D.R.; SCHRECK, C.E. Triple cage olfactometer for evaluating mosquito (Diptera: Culicidae) attraction responses. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 330-334, 1998.

POSITIVE bednet results from The Gambia. **TDR news**, n. 46, nov. 1994.

PRICE, G.D.; SMITH, N.; CARLSON, D.A. Attraction of female mosquitos (*Anopheles quadrimaculatus*) to stored human emanations in conjunction with adjusted levels of relative humidity, temperature, and carbon dioxide (Diptera, Culicidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 5, n. 3, p. 383-395, 1979.

QIU, Y.T.; SMALLEGANCE, R.C.; HOPPE, S.; VAN LOON, J.J.A.; BAKKER, E.J.; TAKKEN, W. Behavioural and electrophysiological responses of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* Giles sensu stricto (Diptera : Culicidae) to human skin emanations. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 4, p. 429-438, 2004.

ROMI, R.; PONTUALE, G.; CIUFOLINI, M.G.; FIORENTINI, G.; MARCHI, A.; NICOLLETI, L.; COCCHI, M.; TAMBURRO, A. Potential vectors of West Nile virus following an equine disease outbreak in Italy. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, p. 14-19, 2004.

ROTH, L.M. A study of mosquito behavior. An experimental laboratory study of the sexual behavior of *Aedes aegypti* (Linnaeus). **American Midland Naturalist**, v. 40, p. 265-352, 1948.

SANTOS, L.U.; ANDRADE, C.F.S.; CARVALHO, G.A. Biological control of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) larvae in trap tires by *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopidae) in two field trials. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 2, p. 161-162, 1996.

SAS. SAS Institute Inc. Cary, N C. USA.445p, 1997.

SCHRECK, C.E.; WEIDHAAS, D.E.; SMITH, N; POSEY, H. Chemical treatment of wide-mesh net clothing for personal protection against blood-feeding arthropods. **Mosquito News**, v. 37, n. 3, p. 455-462, 1977a.

SCHRECK, C.E.; WEIDHAAS, D.E.; SMITH, N. Evaluation of electronic sound-producing devices against *Aedes taeniorhynchus* and *Ae. sollicitans*. **Mosquito News**, v. 37, n. 3, p. 529-531, 1977b.

SCHRECK, C.E.; KLINE, D.L.; CARLSON, D.A. Mosquito attraction to substances from the skin of different humans. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 6, n. 3, p. 406-410, 1990.

SCHRECK, C.E. Permethrin and dimethyl phthalate as tent fabric treatments against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 7, n. 4, p. 533-535, 1991.

SERVICE, M.W. **Mosquito ecology: field sampling methods**. London: Elsevier Applied Science, 1993.

SHARPINGTON, P.J.; HEALY, T.P.; COPLAND, J.W. A wind tunnel bioassay system for screening mosquito repellents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 3, p. 234-240, 2000.

SHIRA, Y.; FUNADA, H.; KAMIMURA, H; SEKI, T.; MOROBASHI, M. Landing sites on the human body preferred by *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 18, n. 2, p. 97-99, 2002.

SINGLETON, R.E. Evaluation for two mosquito-repelling devices. **Mosquito News**, v. 37, n. 2, p. 195-199, 1977.

SKINNER, W.A.; TONG, H.; PEARSON, T.; STRAUSS, W.; MAIBACH, H. Human sweat components attractive to mosquitoes. **Nature**, London, v. 207, p. 661-662, 1965.

SMITH, C.N.; SMITH, N.; GOUCK, H.K.; WEIDHAAS, D.E.; GILBERT, I.H.; MAYER, M.S.; SMITTLE, B.J.; HOBBAUER, A. L-lactic acid as a factor in attraction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to human hosts. **Annals of the Entomology Society of America**, v. 63, n. 3, p. 760-768, 1970.

- SNOW, W.F. Trials with an electronic mosquito-repelling device in West Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 449-450, 1977.
- SNOW, R.W.; GUERRA, C. A., NOOR, A. M., MUYINT, H. Y.; HAY, S. I. The global distribution on clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature**, v. 434, p. 214-217, 2005.
- SOMBOON, P.; LINES, J.; ARAMRATTANA, A.; CHITPRAROP, U.; PRAJAKWONG, S.; KHAMBOONRUANG, C. Entomological evaluation of community-wide use of lambda-cyhalothrin impregnated bed net against malaria in a border area of north-west Thailand. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 248-254, 1995.
- SUTCLIFE, J.F. Distance orientation of biting flies to their hosts. **Insect Science and its Application**, v. 8, p. 611-616, 1987.
- SYLLA, E.H.K.; LELL, B.; KREMSNER, G.K. A blinded, controlled trial of an ultrasound device as mosquito repellent. **Wien Klin Wochenschr**, v. 112, n. 10, p. 448-450, 2000.
- TENG, H.-J.; APPERSON, C.S. Development and survival of immature *Aedes albopictus* e *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the laboratory: Effects of density, food, and competition on response to temperature. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 40-52, 2000.
- THAIWARE.COM. Software Anti-mosquito. Version 1.10b. Site para download de software. Disponível em: <<http://www.thaiware.com/software/util/UL00608.htm>>. [Acesso em: 12 ago. 2002].
- VYTHILINGAM, I.; PASCUA, B.P.; MAHADEVAN, S. Assessment of a new type of permethrin impregnated mosquito net. **Journal of Bioscience**, v. 7, p. 63-70, 1996.
- WAAGE, J.K. The evolution of insect/ vertebrate associations. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 12, p. 187-224, 1979.
- WORLD Health Organization. **A global strategy for malaria control**. Geneva: World Health Organization, 1993.
- WORLD Health Organization: WHO Expert Committee on Malaria. **World Health Organization Technical Report Series**, v. 892, p. 1-74, 2000.

WISHART, G; RIORDAN, D.F. Flight responses to various sounds by adult males of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Canadian Entomologist**, 91: 181-191, 1959.

WOODWORTH, B.L.; AATIKINSON, C.T.; LAPOINTE, D.A.; HART, P.J., SPIEGEL, C.S.; TWEED, E.J.; HENNEMAN, C.; LEBRUN, J.; DENETTE, T.; DEMOTS, R., KOZAR, K.L.; TRIGLIA, D.; LEASE, D.; GREGOR, A.; SMITH, T.; DUFFY, D. Host population persistence in the face of introduced vector-borne diseases: Hawaii amakihi and avian malaria. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v. 102, n. 5, p. 1531-1536, 2005.

WRIGHT, R.H.; KELLOGG, F.E. Response of *Aedes aegypti* to moist convection currents. **Nature**, London, v. 194, p. 402-403, 1962.

YOUNG, G.D.; EVANS, S. Safety and efficacy of DEET and permethrin in the prevention of arthropod attack. **Military Medicine**, v. 163, n. 5, p. 324-330, 1998.

ZWIEBEL, L.J.; TAKKEN, W. Olfactory regulation of mosquito-host interactions. **Insect Biochemical and Molecular Biology**, v. 34, p. 645-652, 2004.

ANEXO I

Referente ao Capítulo II

Em um artigo publicado na revista *Wing Beats* (Winter - 1994), Dr. Chris Curtis, pesquisador da *London School of Hygiene & Tropical Medicine*, Inglaterra, apresentou diretrizes e discutiu as razões para que os repelentes eletrônicos sejam excluídos do mercado. O pesquisador mencionou que aproximadamente 12 anos antes da data de publicação desse artigo, o público geral na Inglaterra tinha grande interesse pelos repelentes eletrônicos e que alguns médicos estavam indicando esses aparelhos para viajantes como substitutivo às medidas profiláticas contra a malária. No entanto, o pesquisador já sabendo da ineficácia dos repelentes eletrônicos, iniciou um processo contra esse tipo de publicidade, utilizando órgãos de defesa do consumidor. Após alguma resistência, os anunciantes admitiram que as propagandas dos repelentes eletrônicos estavam de fato sendo enganosas. Tais processos foram além, e por meio do órgão responsável pelo registro de produtos na Inglaterra, a então primeira-ministra Margareth Thatcher sancionou uma lei pela qual produtos com propaganda enganosa deveriam ser retirados do mercado. Dessa forma, fabricantes foram processados por continuarem a produzir e propagar novos repelentes eletrônicos naquele país. No presente trabalho ficou claro que esses novos repelentes eletrônicos aqui avaliados, não possuem nenhuma eficácia e que medidas de intervenção na comercialização desses produtos são urgentemente necessárias.

Em função da gravidade das descobertas, optamos por alertar as autoridades, mesmo antes da publicação do presente estudo. Assim, eu pessoalmente fiz contato via e-mail com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que não se manifestou favorável a intervir nesse assunto, alegando, no entanto, que possui um regulamento voltado somente para os repelentes químicos. Fomos orientados a encaminhar o assunto para a Delegacia de Defesa do Consumidor, usando como principal elemento a propaganda enganosa e o desrespeito ao Código de Defesa do Consumidor. Dessa forma, a seguinte mensagem foi enviada ao PROCON de Campinas e a uma Organização Não-Governamental, denominada Instituto de Defesa do Consumidor:

Para: procon@campinas.sp.gov.br; idc@netconsumidor.org

Caros Senhores,

Sou aluno de Pós-graduação pelo Instituto de Biologia, Depto. Parasitologia, UNICAMP, nível Mestrado. Estou enviando essa mensagem no intuito de obter ajuda quanto ao assunto que vou descrever abaixo:

Em meu projeto avaliei alguns aparelhos, conhecidos como repelentes eletrônicos, para mosquitos (espécie utilizada *Aedes aegypti* - vetor da dengue e febre amarela) e constatei que esses aparelhos não possuem nenhuma eficácia conforme propagandeado pelos fabricantes. No Brasil há dois fabricantes desses produtos, e o restante são importados de vários países. De fato esses aparelhos estão diretamente relacionados a epidemias de dengue, febre amarela e malária, pois o consumidor não está protegido quando usa os repelentes eletrônicos.

Há necessidade de normatização ou proibição, urgente, quanto à liberação desses aparelhos no mercado brasileiro, pois os fabricantes estão fazendo propaganda enganosa, quando dizem que os aparelhos funcionam como repelentes.

Gostaria de um parecer de como eu devo proceder quanto a essa questão. Há possibilidade do PROCON e/ou o IDC intervir na comercialização desses aparelhos?

Obrigado,

Isaías Cabrini

Unicamp/IB/Zoologia

Cx.P. 6109

Cep: 13084971

(019) 37886323/6318

(019) 96399344

Resposta do Procon:

Prezado Srº Isaías,

Em atenção ao seu e-mail, cumpre esclarecer que referente ao seu questionamento poderá entrar em contato com o INMETRO, pelo 11- 224-0831.

Att

Atendimento Técnico.

Seguindo a orientação do Atendimento Técnico do Procon, encaminhei a mesma mensagem para o INMETRO e obtive a seguinte resposta:

Informamos que:

Prezado Sr.,

Em resposta a sua consulta, informamos que o INMETRO não testou repelentes de mosquitos eletrônicos e que este produto não é regulamentado pelo Inmetro e não temos estudo sobre o mesmo. Sugerimos que consulte: - Ministério da Saúde, através do site: <http://www.saude.gov.br> ou pelo telefone: 0800611997. - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVS do Ministério da Saúde - MS que é o órgão responsável pela controle dos alimentos, dos produtos saneantes, remédios, cosméticos através do telefone (61) 315-2166/315-2727 ou home page <http://www.anvisa.gov.br> Agradecemos sua visita e em caso de dúvida, continuamos à disposição para esclarecimentos adicionais.

Atenciosamente,

CRISTIANA PEDROSA

OUVIDORIA DO INMETRO

Lamentavelmente, como a ANVISA remeteu ao INMETRO, que por sua vez, retornou a ANVISA, optamos pela tentativa de contato com o Ministério da Saúde, e a resposta foi a seguinte:



MINISTÉRIO DA SAÚDE

SECRETARIA DE GESTÃO PARTICIPATIVA

DEPARTAMENTO DE OUVIDORIA GERAL DO SUS/MS

E-M/SUS nº 965/2005-OUVIDORIA/SGP/MS

Brasília, 11 de abril de 2005.

Prezado Sr. Isaías Cabrini ,

O Departamento de Ouvidoria Geral do SUS/MS foi regulamentado pelo art. 28 do Decreto 4.726 de 09 de junho de 2003, sendo a partir de então, também responsável por resgatar e dar encaminhamento às demandas advindas de vários setores do Ministério da Saúde.

Com esse intuito, entramos em contato com V. S^a. para responder o seu e-mail enviado a este Ministério onde solicita informações sobre a normalização ou proibição dos aparelhos, conhecidos como repelentes eletrônicos, para mosquitos e sobre a possibilidade do Ministério da Saúde intervir na comercialização destes aparelhos.

Por oportuno, informamos que o órgão do Ministério da Saúde responsável pela normalização, proibição e intervenção na comercialização destes aparelhos é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Para o Sr. obter maiores informações poderá entrar em contato com o telefone da ANVISA, (61) 448-1235 e 448-1464.

O Departamento de Ouvidoria Geral do SUS agradece a sua participação para o aprimoramento do Sistema Único de Saúde e coloca à sua disposição, para futuros contatos, nosso telefone 0800-6449000, ligação gratuita em todo o território nacional.

Atenciosamente,

Secretaria de Gestão Participativa

Departamento de Ouvidoria Geral do SUS/MS

Ouvidoria@saude.gov.br

www.saude.gov.br/Ouvidoria

61-448.8900/448.8603

Pela resposta do Depto. de Ouvidoria Geral do Ministério da Saúde, remetendo novamente a ANVISA, pudemos assim constatar, que ao que parece, não estão bem definidas as instâncias no Brasil que devem ou podem regulamentar a questão, e acaba sendo mais fácil para essas instâncias passar o problema adiante. Nesse caso, ANVISA recomenda o PROCON, que indica o INMETRO, que remete ao Ministério da Saúde, que retorna para a ANVISA.

Concluimos adicionalmente que dessa forma o consumidor brasileiro fica a mercê de propagandas enganosas e sujeito a contrair doenças, que sabemos podem levar a gastos na área de saúde ou até mesmo fatalidades.

Nos Estados Unidos há um exemplo que deveria ser seguido pelas organizações governamentais brasileiras. Os atuais donos e sucessores da empresa Lentek International Inc, fabricante do aparelho Mosquito Control® (MCONT) (avaliado no presente trabalho), foram proibidos pela *Federal Trade Commission* (FTC) em 2002 de comercializar seus produtos eletrônicos repelentes por um período de cinco anos, alegando que todos as

afirmações feitas pelo fabricante quanto a eficácia dos seus produtos são enganosas, ou seja, o consumidor está sendo iludido com propagandas que não condizem com a realidade. Além disso, os mesmos terão que dar satisfação de sua vida profissional para a FTC durante um período de 10 anos. A criação de um departamento governamental responsável por essas pendências no Brasil, talvez ajudaria a resolver o problema da comercialização de repelentes eletrônicos nesse país.

ANEXO II

PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE REPELENTES ELETRÔNICOS ALEGADAMENTE EFICIENTES CONTRA INSETOS E/OU MOSQUITOS E/OU MOSQUITOS DO GÊNERO *Aedes* spp. E/OU O MOSQUITO *Aedes aegypti* E/OU O *Aedes albopictus*

Quanto à avaliação de repelentes eletrônicos, seria conveniente a proposição de um protocolo para que dessa forma houvesse a padronização dos testes. Apesar da existência de vários *sites* voltados para a publicação de protocolos de avaliação de diversos produtos (<http://webstore.ansi.org/>, www.document-center.com, www.doceng.com, www.global.ihs.com, www.ili-info.com), não encontramos um protocolo para repelentes eletrônicos.

Para repelentes de uso tópico, vários autores já propuseram protocolos (ver, por exemplo, Andrade & Bueno, 2001b). Assim, temos adotado a seguinte metodologia: 1) aplicação sobre a mão de um produto (creme, loção ou spray) em uma área de 16 cm² das falanges mediais, ficando o restante da superfície da mão coberta; 2) as mãos são expostas a várias (>50) fêmeas de *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus*, em caixas de criação; 3) avalia-se as tentativas de picadas por 15 minutos, para três períodos (logo após a aplicação, 2 horas após e 4 horas após). No caso da avaliação de uma única amostra, compara-se os dedos tratados com os dedos não tratados (amostra-teste e controle negativo), ou ainda, compara-se com os dedos tratados com Deet (controle positivo). Para a maioria das amostras que temos avaliado, que são formuladas com substâncias vegetais de baixo poder repelente, temos usado como controle positivo um produto comercial à base de Deet (fabricante, Greenwood Indústria e Comércio Ltda, São Roque, SP), com 7 a 9 % de ingrediente ativo (segundo informações do SAC do distribuidor, Ceras Johnson Ltda, Jacarepaguá, RJ). Salienta-se no entanto, que no caso da avaliação de um repelente eletrônico para mosquitos, não se tem um controle positivo, ou seja, não há nenhum repelente eletrônico que possa ser utilizado como referência, cujo efeito seja comprovadamente eficiente em repelir as fêmeas de *Ae aegypti*.

Assim sendo, o presente protocolo é proposto de forma a comparar um aparelho já comercializado, ou protótipo, Ligado versus um controle negativo, representado pelo mesmo repelente eletrônico Desligado.

PROTOCOLO

1. Pressuposto. Deve ser considerada a alegação feita pelo proponente, fabricante ou comerciante do repelente eletrônico. Caso não haja alegação alguma, considerar o nome do produto ou eficiência sub-entendida.

2. Aplicar o protocolo para repelentes eletrônicos que alegam clara ou de forma sub-entendida possuir eficiência como:

- a) Repele insetos e/ou
- b) Repele mosquitos e/ou
- c) Repele mosquitos do gênero *Aedes* e/ou
- d) Repele os mosquitos *Aedes aegypti* e/ou *Aedes albopictus*

3. Avaliar o repelente eletrônico utilizando as seguintes condições:

- 3.1. Utilizar a Câmara K&L-Unicamp (seções A, B e C)¹;
- 3.2. Todas as frequências sonoras do repelente eletrônico em questão deverão ser avaliadas nas mesmas condições;
- 3.3. Avaliar cada frequência sonora individualmente;
- 3.4. Desenvolver o experimento em uma sala com temperatura a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 5\%$ de umidade relativa do ar;

¹ Evaluation of a test-chamber modified to study with *Aedes* spp. adult's mosquitoes (em preparação)

4. Avaliar o repelente eletrônico utilizando a seguinte metodologia:

- 4.1. Utilizar, a cada vez, grupos diferentes de 10 fêmeas adultas de *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus*;

- 4.2. As fêmeas utilizadas no experimento deverão ser mantidas à temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 5\%$ de umidade relativa do ar desde o estágio de ovo e os adultos deverão ser alimentados com solução de mel a 10% todos os dias;
- 4.3. As fêmeas deverão ter 7 dias de idade;
- 4.4. As fêmeas deverão acasalar-se, alimentar-se de sangue de camundongo (in vivo) e realizar a ovipostura uma única vez;
- 4.5. Coletar as fêmeas da gaiola de criação com um aspirador elétrico de 6V;
- 4.6. Liberar as fêmeas na seção A da Câmara K&L-Unicamp logo após a coleta com o aspirador; e aguardar cerca de 2 minutos para o início das avaliações;
- 4.7. Durante esse período de 2 minutos o pesquisador deverá inserir a mão na seção C da Câmara K&L-Unicamp e ligar o cooler e a lâmpada. Ao final do período de 2 minutos, o repelente eletrônico deverá ser Ligado e as fêmeas deverão ser liberadas para voarem pela Câmara;
- 4.8. Realizar um período de avaliação de 10 minutos. Nesse tempo,
- 4.9. Contar o número de fêmeas que chegarem até a seção C da Câmara K&L-Unicamp;
- 4.10. Contar o número de tentativas de picadas; movendo lentamente a mão para melhor visualizar;
- 4.11. Espantar as fêmeas que estiver tentando picar, com uma pequena pena leve presa a uma haste fina;
- 4.12. Coletar as fêmeas de cada seção da Câmara K&L-Unicamp, utilizando o aspirador elétrico, ao final do período de 10 minutos;
- 4.13. Liberar na seção A da Câmara K&L-Unicamp outro grupo de 10 fêmeas;
- 4.14. Realizar para cada situação (Ligado e Desligado) 20 repetições, usando 10 fêmeas para cada repetição.

5. Repetir o mesmo procedimento com o mesmo repelente eletrônico Desligado, conforme os itens 3 e 4.

6. Análise Estatística

6.1. Determinar o percentual médio de fêmeas que chegaram até a seção C com aparelho Ligado e Desligado;

- 6.2. Comparar as médias, utilizando o teste de Qui-quadrado com nível de significância de 95% ($\alpha=0,05$);
- 6.3. Para cada repetição, determinar o número total de tentativas de picadas durante os 10 minutos de avaliação, dividir por 600 para obter uma taxa por segundo (equivalente aos 10 minutos) (a divisão em segundos proporcionará um desvio padrão pequeno);
- 6.4. Calcular a média de tentativas de picadas/segundo, relativa a todas as repetições;
- 6.5. Comparar as médias de tentativas de picadas, utilizando o teste Análise de Variância com nível de significância de 95% ($\alpha=0,05$);
- 6.6. Considerar o Produto Aprovado se houver diferença significativa ($\alpha<0,05$), para MENOR quantidade de fêmeas na seção C da Câmara K&L-Unicamp e MENOR número de tentativas de picadas quando o aparelho estiver Ligado;
- 6.7. Considerar o Produto Reprovado se não houver diferença significativa, ou seja, $\alpha\geq 0,05$ para MAIOR número de fêmeas na seção C da Câmara K&L-Unicamp ou MAIOR número de tentativas de picadas;
- 6.8. Dispor os resultados de acordo com as tabelas abaixo.

Chegada das fêmeas à seção C (Percentual Médio \pm D.P.) e o teste de Qui-quadrado ($\alpha=0,05$) de fêmeas de xxxxx para o repelente eletrônico xxxxx em 20 repetições ligado ou desligado. (n=10 e avaliações por 10 minutos)

Repelente Eletrônico	Chegada das fêmeas (% médio \pm D.P.)			Qui-quadrado
	Chave seletora (se houver)	Ligado	Desligado	
XXXXXX	1			
	2			

Frequência de tentativas de picadas de fêmeas de xxxxx (Média \pm D.P.) e o teste de Análise de Variância ($\alpha=0,05$) a cada segundo para o repelente eletrônico xxxxx ligado ou desligado. (n=10 e avaliações por 10 minutos)

Repelentes	Número médio de tentativas de picada \pm D.P. a cada segundo		
	Ligado	Desligado	ANOVA
XXXXX			

6. Comentários e Recomendações Finais

Avaliar os repelentes eletrônicos em laboratório, utilizando uma câmara-teste, é conveniente para demonstrar, em condições padronizadas, se o produto realmente é eficaz como repelente conforme estabelecido pelo fabricante. Porém, essa é uma condição extrema que não condiz com a realidade de uso de um produto para repelir mosquitos, sendo que um ambiente como um quarto de uma casa, locais de *camping* ou pesca, entre outros são mais comuns para tentar evitar as picadas das fêmeas de mosquitos.

Devido a essa situação diferenciada, a partir da comprovação da eficácia do produto, recomenda-se avaliações em condições de semi-laboratório e campo.

ANEXO III

16º Reunião Anual do Instituto Biológico - 3 a 7 de novembro/2003 – São Paulo – SP

Arquivos do Instituto Biológico v70 (supl. 3), 2003 (edição em CDROM)

Disponível em: www.biológico.sp.gov.br/arquivos/v70_suplemento23/index3_raib.htm

**Avaliação de uma câmara para testes comportamentais com *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1752)
(Diptera: Culicidae)**

I. Cabrini e C.F.S. Andrade

Instituto de Biologia, Depto. Zoologia, UNICAMP

Cx.P. 6109 CEP: 13084-971 Campinas, SP, Brasil. E-mail: isca@unicamp.br

RESUMO

Avaliamos respostas de fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1752), em relação ao odor da mão de um pesquisador dentro de um sistema, como parte do desenvolvimento de um modelo para estudos comportamentais de mosquitos culicídeos. Os mosquitos foram orientados a percorrer um tubo dividido em seções até encontrar a mão do pesquisador, em uma caixa de isopor. Como estímulo adicional usou-se uma corrente de ar contrária produzida por um "cooler" e a luz de lâmpada fluorescente. Dez fêmeas foram liberadas no tubo e após 10 minutos, foram contadas em cada seção. Até o momento, para 10 repetições foi encontrada uma atração média de 95,0% (DP=0,7) demonstrando a efetividade do sistema para atração dos mosquitos. A presente câmara de teste deverá ser usada para estudos comportamentais, além de avaliações de aparelhos eletrônicos comerciais emissores de ondas sonoras ditas repelentes, entre outros produtos para controle de mosquitos.

PALAVRAS-CHAVE: mosquito, Repelente Eletrônico, comportamento, atração, câmara teste.

ABSTRACT

EVALUATION OF A TEST CHAMBER TO STUDY *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1752) (DIPTERA: CULICIDAE) BEHAVIOUR. *Aedes aegypti* females flying toward the odour of the hand a human host was evaluated in a test chamber as part of behavioral study. The mosquitoes are lured to cross the along a tunnel until the hand of the human host, in a box, against the air current produced by a cooler and to a fluorescent lamp light. Ten females was released at the tip of the tunnel and 10min

later they were counted in each section of the chamber. For 10 replicates it was found 95% of mean attraction ($SD=0.7$) attesting the efficiency of the system to attract mosquitoes females. The test chamber should be used to study mosquitoes behaviour, the efficacy of commercial electronic devices supposedly repellents among other mosquito control products.

KEY WORDS: mosquito, electronic repellent, behaviour, attraction, test chamber.

INTRODUÇÃO

Estudos comportamentais de mosquitos culicídeos tem sido feito em ambiente de campo e laboratório, sendo que nesse caso a utilização de sistemas fechados tem se mostrado eficaz. Um exemplo de sistema amplamente utilizado são os olfatômetros no qual os indivíduos avaliados são induzidos a responder a um determinado estímulo que pode ser químico como um inseticida ou outra substância que levará a atração ou repelência do organismo estudado. GEIER & BOECKH (1999) desenvolveram um modelo de olfatômetro em 'Y' para medir a atratividade de algumas substâncias químicas emitidas por um hospedeiro humano, entre essas o odor da mão como um atraente natural. Na extremidade única do 'Y' foram liberados os mosquitos, em uma das extremidades duplas foi colocado a mão e a outra ficou como controle. Os resultados obtidos demonstraram uma atração superior a 95% para a mão do pesquisador.

CHAREONVIRIYAPHAP et al. (2002) desenvolveram um modelo de câmara teste para estudar o comportamento de mosquitos culicídeos respondendo a um inseticida residual. Esse sistema foi confeccionado em alumínio consistindo em várias câmaras conectadas umas as outras e nas extremidades um funil por onde os mosquitos poderiam fugir do contato com o inseticida.

Outros exemplos são os sistemas desenvolvidos para avaliação da efetividade de repelentes eletrônicos que, basicamente, possuem o mesmo princípio dos olfatômetros. SINGLETON (1977) desenvolveu uma caixa retangular com três compartimentos, sendo que em um desses era colocado o hospedeiro (porquinho da Índia) e as fêmeas de *Ae. aegypti* tinham que voar contra uma fonte sonora para se alimentar. LEWIS (1982) desenvolveu um túnel de 6m e em uma das extremidades colocou um aparelho eletrônico para analisar a possível influência da ondas sonoras na distribuição dos mosquitos pelo túnel.

Em 1978, KLOWDEN & LEA utilizaram um sistema de olfatômetro para avaliação de atração de fêmeas de *Ae. aegypti* para alimentação sanguínea em hospedeiro humano. Esse sistema, por sua vez, foi utilizado por FOSTER & LUTES (1985) para avaliação de repelentes eletrônicos que emitem ondas sonoras que são propagandeados como repelentes de mosquitos. Esse sistema foi

constituído de quatro câmaras sendo que um compartimento foi utilizado para inserção da mão de um pesquisador sendo acoplado a outro compartimento, denominado armadilha, de papelão, nas medidas de 20cm x 18cm de diâmetro. À armadilha foi acoplado um túnel de 120cm x 30cm² de plástico acrílico transparente, denominado câmara de vôo, e junto a esse foi acoplado um último compartimento, denominado câmara de segurança, de 30cm² também de acrílico. Um cooler foi inserido na câmara de segurança e funcionou para a sucção do odor da mão do pesquisador. Entre a câmara de segurança e à armadilha foram colocadas divisórias para manter as fêmeas presas nesses compartimentos. Na câmara de segurança eram liberadas aproximadamente 50 fêmeas de *Ae. aegypti* que ficavam expostas ao odor da mão do pesquisador durante 10min e após esse período um outro pesquisador abria as divisórias e os mosquitos eram liberados para o restante do sistema durante 5min. Após esse período os mosquitos eram contados em todas as câmaras do sistema.

O objetivo do presente trabalho é desenvolver um sistema de câmaras melhorado daquele utilizado por Foster e Lutes (1985), com modificações para estudos comportamentais de atração e repelência de mosquitos.

MATERIAL E MÉTODOS

O sistema, aqui denominado câmara teste, foi desenvolvido em isopor, sendo que uma caixa comercial de 50 litros medindo 36x36x57cm foi acoplada a um tubo de 8pol de diâmetro e 1,25m de comprimento. Na caixa foi colocado um cooler de 12V (Yate Loon, modelo DC FAN D80SH-12) para produzir uma corrente de ar em direção ao tubo, controlado por um adaptador (Universal AC/DC Adapter CA-44, da marca Coby®) para funcionar em 3V. Também se usou uma lâmpada fluorescente de 24W (marca Ecolume). Além disso foram feitos orifícios para observação e inserção da mão de um pesquisador. O tubo foi dividido em três seções sendo que a menor, denominada de segurança (ou seção A), ficou na extremidade distal do tubo. A parte intermediária (seção B) e a proximal (C) foram denominadas seções de vôo, até a caixa (D). Todas as seções foram fechadas por meio de panos de lycra branco ao final de cada repetição. A seção A e a caixa (D) foram isoladas por divisórias para aprisionar as fêmeas antes e depois das avaliações, respectivamente. Toda a câmara foi revestida internamente por manta acrílica para os testes com os repelentes eletrônicos com o objetivo de diminuir a reverberação das ondas sonoras.

Para os testes de atração aos estímulos colocados no sistema foram utilizadas fêmeas de mosquitos *Ae. aegypti* (linhagem Rockefeller, CDC), mantidos em gaiolas de criação no Laboratório de Entomologia do Instituto de Biologia, Depto. de Zoologia, Unicamp à temperatura de 25±2°C e umidade relativa de 80%, sendo alimentados com solução de mel 10% e camundongo.

Os indivíduos foram mantidos sem alimentação sanguínea durante 5 dias e após esse período foram coletados da gaiola de criação com aspirador-coletor elétrico (1,5V), tomando-se o cuidado de coletar apenas as fêmeas que pousassem na mão do pesquisador para picar. Essas ficaram em repouso no recipiente coletor sem nenhum tipo de alimentação e incômodo antes das avaliações.

Os experimentos foram feitos em condições de temperatura e umidade da sala de criação e, ao iniciar o teste, toda a iluminação da sala foi eliminada. O cooler e a lâmpada sobre a caixa foram ligados e o pesquisador inseriu a mão junto ao cooler durante 5 min. Enquanto isso, 10 fêmeas ficaram aprisionadas na seção A e após o período mencionado essas foram liberadas para voarem até a caixa D. A partir desse momento foram cronometrados entre 10 min de avaliação. As fêmeas que chegavam até a mão do pesquisador para picar eram induzidas a voar com o toque de uma pena de ave em uma haste de metal. Ao final desse período a caixa foi fechada com a divisória, todas as seções foram fechadas com o pano de lycra e o número de indivíduos em cada segmento foi contados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No trabalho realizado por FOSTER & LUTES (1985) foram feitas avaliações de alguns repelentes eletrônicos com várias espécies de mosquitos, entre elas *Ae. aegypti*. Quando esses pesquisadores testaram todos os aparelhos eletrônicos ao mesmo tempo, em quatro repetições houve uma atração de 81,0% com os aparelhos ligados e 83,2% quando desligados. Uma avaliação com os aparelhos individuais também foi feita e em duas repetições houve atração de mais de 90% quando desligados ou ligados. No presente trabalho o sistema modificado foi avaliado em 10 repetições, até o momento, obtendo-se uma atração média de 95% de fêmeas de *Ae. aegypti* para a caixa, enquanto que nas seções A e C ficaram apenas 4 e 1% dos mosquitos respectivamente, e na seção B não foi observado nenhuma fêmea (Tabela 1). Observando-se os resultados com os aparelhos desligados pode-se comparar ao resultado da Unicamp, mostrando semelhança na resposta das fêmeas para atração ao odor da mão do pesquisador e também demonstra que as modificações feitas não interferiram nos resultados.

O cooler, como já descrito, funcionou no nosso sistema em 3V, formando uma leve corrente de ar pelo tubo que auxiliou a atração das fêmeas. Isso demonstra que a emissão de ar com o intuito de espalhar o odor pelo sistema é um procedimento relevante para melhorar a resposta das fêmeas de *Ae. aegypti*. Um fator que se acredita ter interferido na atração adicional das fêmeas, foi a luz produzida pela lâmpada fluorescente. Em experimentos preliminares foi utilizada uma lâmpada

eletrônica compacta flúor "day light" branca de 9W e os resultados não foram satisfatórios, obtendo-se atrações de apenas 60 a 70%.

Tabela 1 -Percentual médio e desvio padrão de fêmeas de *Ae.aegypti* atraídas para as diferentes seções da câmara teste.

Repetição	SEÇÕES			
	A	B	C	D
1	1	0	0	9
2	0	0	0	10
3	0	0	1	9
4	0	0	0	10
5	0	0	0	10
6	2	0	0	8
7	1	0	0	9
8	0	0	0	10
9	0	0	0	10
10	0	0	0	10
Atração %	4,0	0	1,0	95,0
D.P.	0,67	0	0,31	0,7

A partir do momento em que uma lâmpada fluorescente de 24W comum foi utilizada a atração passou a ser maior.

Os pesquisadores citados acima não descrevem o tempo que as fêmeas demoraram a voar da câmara de segurança até a armadilha. Isso foi por nós observado e estimou-se que os indivíduos demoram apenas cerca de 30seg, na média entre as quatro repetições, para perceberem o estímulo e voarem da seção de segurança até a caixa com a mão do pesquisador. Também foi observado que há variação na atividade dos mosquitos após chegarem a caixa, havendo um ataque acentuado nos primeiros seis minutos que diminui logo após. Isso leva a possibilidade de, durante a avaliação, poder contar o número de picadas em diferentes intervalos de tempo e quando da avaliação de algum produto, como repelentes eletrônicos, além da atração pode-se avaliar se esses aparelhos evitam as picadas das fêmeas como um repelente de uso tópico.

CONCLUSÃO

A utilização da presente câmara teste para estudos comportamentais tem se revelado adequada, pois se conseguiu uma homogeneidade de respostas para as repetições. Comparando-se o presente sistema com o de Foster & Lutes, temos como principal vantagem do nosso sistema-Unicamp o material utilizado para confeccioná-lo, sendo mais viável economicamente além de facilitar adaptações.

Foster & Lutes não citam que tipo de iluminação utilizaram durante o experimento. A utilização de uma lâmpada sobre a caixa no presente estudo mostrou-se apropriada como mais um atraente.

A possibilidade de avaliação de repelentes eletrônicos ou outros produtos nesse sistema padronizado, será uma alternativa de grande importância para experimentação científica, levando a resultados que devem auxiliar a defesa de consumidores.

BIBLIOGRAFIA

CHAREONVIRIYAPHAP, T. et al. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral tests. *J. Vec. Ecol.*, 27(2): 250-252, 2002.

FOSTER, W.A. & LUTES, K.I. Tests of ultrasonic emissions on mosquito attraction to hosts in a flight chamber. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.*, 1(2): 199-202, 1985.

GEIER, M. & BOECKH, J. A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. *Ent. Exp. Appl.*, 92 (1): 9-19, 1999.

KLOWDEN, M. J. & LEA, A. O. Blood meal size as a factor affecting continued host-seeking by *Aedes aegypti* (L.). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 27(4): 827-831, 1978.

LEWIS, D. J. et al. Evaluation of an electronic mosquito repeller. *Can. Ent.*, 114: 699-702, 1982.

SINGLETON, R.E. Evaluation of two mosquito-repelling devices. *Mosq. News*, 37(2): 195-199, 1977.

ANEXO IV

XX Congresso Brasileira de Entomologia - Gramado, RS, 5 a 10 de setembro de 2004

EN-505. AVALIAÇÃO DE REPELENTES ELETRONICOS PARA A PROTEÇÃO PESSOAL CONTRA MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) UTILIZANDO-SE UMA CAMARA-TESTE

Isaías Cabrini¹ – iscabi@yahoo.com.br

Carlos Fernando Salgueirosa Andrade² – cfeandra@unicamp.br

1. Depto. Parasitologia; Instituto de Biologia (UNICAMP), Unicamp Depto. Zoologia/IB Cx.P. 6109 CEP 13084971 Campinas/SP

2. Depto. Zoologia; Instituto de Biologia (UNICAMP), Unicamp Depto. Zoologia/IB Cx.P. 6109 CEP 13084971 Campinas/SP

Opções de proteção pessoal para evitar picadas ou doenças transmitidas por mosquitos vetores tem sido um grande desafio. Além dos repelentes tópicos, há algumas décadas tem sido proposto como alternativa o uso de som como repelente. Apesar de algumas avaliações terem comprovado que vários aparelhos eletrônicos de fato não repelem as fêmeas de mosquitos, ainda é freqüente a venda desses aparelhos pela internet ou no comércio. O presente trabalho objetiva avaliar a eficácia em repelir fêmeas de *Aedes aegypti* para seis aparelhos eletrônicos e um software, para os quais não há literatura científica. Foi utilizada a câmara-teste adaptada da utilizada por Klowden & Lea (1978). A câmara possui quatro seções (A, B, C e D). A cada repetição, 10 fêmeas de mosquitos eram liberadas na seção A. Na seção D foram colocados como atrativos luz artificial (lâmpada fluorescente 24W) e a mão do pesquisador. Um cooler de computador (12V) formava uma pluma de odor em direção aos mosquitos e o alto-falante dos aparelhos foi direcionado para a seção A. Os aparelhos comerciais e o software avaliados foram: 1) Mosquito Control™ Pulseira; 2) Kawoa® MK 02; 3) Byeinset; 4) Anti Mosquito Guard; 5) Anti-mosquito 1.10B Software; 6) Repelim® e 7) Travel Clock Mosquito Repeller. Utilizou-se Análise de Variância bi-fatorial para a estatística entre Ligado e Desligado. Nenhum sistema avaliado demonstrou repelência. A porcentagem média de atração com os sistemas ligados (75,0 a 100,0%), não diferiu significativamente para aquela dos sistemas desligados. Condena-se o uso desses aparelhos como proteção pessoal, no sentido de que não repelem mosquitos, ou, se o fazem, não é de forma suficiente para evitar picadas. Estamos utilizando atualmente um sistema em Y de forma a discriminar essa questão.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; som; repelência; atração; doenças