

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Avaliação do efeito dos compostos biológicos
***Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e**
Espinosade na sobrevivência de larvas de *Lutzomyia*
***longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sob**
condições de laboratório.

João Ricardo Pereira Ennser

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado Profissional da Faculdade de
Saúde Pública, para obtenção do título
de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Entomologia em
Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. Fredy Galvis Ovallos

São Paulo
2022

**Avaliação do efeito dos compostos biológicos
Bacillus thuringiensis var. *israelensis* e
Espinosade na sobrevivência de larvas de *Lutzomyia*
longipalpis (Diptera: Psychodidae) sob
condições de laboratório.**

João Ricardo Pereira Ennsler

**Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado Profissional da Faculdade de
Saúde Pública, para obtenção do título
de Mestre em Ciências.**

**Área de Concentração: Entomologia em
Saúde Pública.**

Orientador: Prof. Dr. Fredy Galvis Ovallos

Versão Revisada

São Paulo

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a) Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Ennsner, João Ricardo Pereira

Avaliação do efeito dos compostos biológicos *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e Espinosade na sobrevivência de larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sob condições de laboratório. / João Ricardo Pereira Ennsner; orientador Fredy Galvis Ovallos. -- São Paulo, 2022.

57 p.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2022.

1. Leishmaniose Visceral. 2. Vetor. 3. Flebotomíneo. 4. Controle. 5. Inseticidas biológicos. I. Ovallos, Fredy Galvis, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha amada e companheira Íris Silva, que sempre esteve e está ao meu lado, me apoiando e incentivando desde o primeiro momento em que estivemos juntos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo e ao Programa de Mestrado Profissional que possibilitaram a realização desta tese.

Ao meu orientador Dr. Fredy Galvis Ovallos, exemplo de dedicação à Ciência, que pacientemente me guiou por novos caminhos e a quem sempre guardarei no coração por toda sua colaboração.

À Bióloga Mariana Dantas da Silva, pela ajuda nas atividades de laboratório para a manutenção da colônia e na obtenção das larvas necessárias para os experimentos.

À minha família que me apoiou e possibilitou ser quem sou, em especial à minha mãe, que com seu carinho esteve sempre presente e ao meu pai que, com sua criticidade, me fez crescer.

À minha companheira a quem dedico todo meu amor e tudo de melhor que possa fazer nesta vida. Às minhas filhas queridas Vitória e Helena que são meus raios de Sol e alimentam minha alma. E ao pequeno Pedro, também filho deste trabalho, a quem me derreto mais de amor a cada dia.

Aos meus amigos e colegas de trabalho Thais Buti, Fabiano Zequetto e Rafael Reinoso que permitiram com que eu participasse dessa etapa de minha formação.

Ao Eng. Agrônomo Sr Sílvio Carvalho e à Bióloga Simone da extinta SUCEN que foram importantes à idéia inicial e desenvolvimento deste trabalho.

À Renilda Shimono, secretária deste Programa, que como um anjo, me ajudou por incontáveis vezes.

À Dra. Evelyn Nestori Chiozzotto e à Giselle Cavachini Brandt por possibilitarem a realização de estágio.

RESUMO

ENNSER, J.R.P.. Avaliação do efeito dos compostos biológicos *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e Espinosade na sobrevivência de larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sob condições de laboratório. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2022.

A leishmaniose visceral (LV) continua sendo um grave problema de Saúde Pública principalmente pela expansão a localidades urbanas do Brasil nas últimas décadas. Esta zoonose é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, transmitida principalmente pelo flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* e tem o cão doméstico como principal reservatório vertebrado. As formas de controle preconizadas no Brasil têm mostrado baixa efetividade na redução de casos e de óbitos, com dificuldades tanto no controle de reservatórios (dificuldades para execução da eutanásia) bem como no controle de vetores. Estes fatos trazem à tona a necessidade de estudos de formas alternativas que possam contribuir em um contexto de manejo integrado. O objetivo foi comparar a suscetibilidade e a sobrevivência de formas imaturas de *Lutzomyia longipalpis* aos larvicidas biológicos *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) e Espinosade. Foram realizados experimentos com doses de 10 mg/g e 20 mg/g dos compostos Bti e Espinosade aplicados no alimento oferecido aos frascos contendo larvas de *Lu. longipalpis* de terceiro estágio larval. Para cada concentração/composto, foram expostas 30 larvas em 3 réplicas. Como controle, foram utilizadas 30 larvas com aplicação de água. Nos tratamentos com Bti foi observada mortalidade de 18,8% na concentração de 10 mg/g e de 50,4% na concentração de 20 mg/g. Quanto ao tempo de desenvolvimento larval e de pupas, observou-se que o tempo mediano de emergência dos alados foi 2,35 vezes maior na concentração de 20 mg/g e 1,9 vezes maior na concentração 10 mg/g, comparados ao grupo controle. Para o composto Espinosade nestas concentrações iniciais, a mortalidade foi de 100%. O ensaio foi repetido com o Espinosade em 4 diluições da menor dose testada anteriormente (10 mg/g), na proporção de 1:10, 1:20, 1:50 e 1:100, com

resultados de mortalidade de 71%, 66,5%, 2,1% e 1,4% respectivamente. A DL90 foi estimada em 6,3 mg/g. Os resultados sugerem potencial uso dos dois compostos para o controle de imaturos de *Lu. longipalpis*, aplicado de forma diluída diretamente nos potenciais criadouros destes insetos, como forma complementar às ações de controle integrados em áreas de transmissão de LV.

Palavras chaves: Leishmaniose, vetor, flebotomíneo, controle, imaturos, inseticidas biológicos.

ABSTRACT

ENNSER, J.R.P. Evaluation of the effect of biological compounds *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and Spinosade on the survival of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) larvae under laboratory conditions.[Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2022.

Visceral leishmaniasis (LV) is a serious issue in public health in Brazil mainly by the spread in urban areas in the last decades. This zoonosis is caused by the protozoan *Leishmania infantum*, transmitted mainly by *Lutzomyia longipalpis*. The control measures recommended in Brazil showed low effectiveness in the reduction of cases, with difficulties in the control of domestic reservoirs as well as the vector control. These facts highlight the necessity of studies evaluating alternative methods that can contribute in an integrated management approach. The objective was to compare the susceptibility and the survival of *Lutzomyia longipalpis* immature forms to the biological compounds *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and Spinosade. Experiments with doses of 10 mg/g and 20 mg/g of each compound, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and Spinosade were realized applying in Petri dishes containing larvae third instar. For each stage 30 larvae were exposed to each concentration compound and the observation was realized in triplicate. As control 30 larvae of each instar in which was applied water. The treatments with Bti resulted in mortality of 18.78% at a concentration of 10 mg/g and of 50.42% at a concentration of 20 mg/g and delay in the development of immature forms, with a median time for emergence of adults forms 2.35 times higher in the first group and 1.9 times higher in the second compared to the control group. For the Spinosad compound at these initial concentrations, the mortality was 100%. The assay was repeated with Espinosade in 4 dilutions of the lowest dose tested previously (10 mg/g), in the proportion of 1:10, 1:20, 1:50 and 1:100, with mortality results of 71%, 66.5%, 2.1% and 1.4% respectively. LC90 was estimated at 6.3 mg/g. The results suggest potential use of the two compounds for the control of *Lu. Longipalpis* immatures, applied in a diluted form directly to the potential breeding sites of

these insects, as a complement to integrated control actions in areas of VL transmission.

Key words: Leishmaniasis, vector, sand fly, control, biological insecticides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Medidas de Controle de LV no Brasil	18
1.2 Controle de infecção em reservatórios	19
1.3 Controle de flebotomíneos	19
1.3.1 Alternativas de controle vetorial de flebotomíneos	20
1.3.2 Uso de inseticidas biológicos no controle de vetores	21
2. OBJETIVO GERAL	24
2.1 Objetivos Específicos	24
3. MÉTODO	25
3.1 População de Estudo	25
3.2 Formulações dos bioinseticidas	25
3.3 Técnicas utilizadas	25
3.3.1 Preparação das soluções	28
3.3.2 Tratamento do alimento com os larvicidas	29
3.3.3 Contagem dos imaturos	32
3.4 Organização dos dados	33
3.5 Análise dos dados	33
4. RESULTADOS	34
4.1 Determinação do volume aplicado	34
4.2 Mortalidade e períodos de desenvolvimento (Teste 1)	35
4.3 Mortalidade e períodos de desenvolvimento nos tratamentos com Espinosade (Teste 2)	40
5. DISCUSSÃO	46
6. CONCLUSÕES	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
8. ANEXO	57
9. CURRÍCULO LATTES	58

LISTA DAS ABREVIATÖES:

Bt – *Bacillus thuringiensis*

Bti – *Bacillus thuringiensis var israelensis*

LV – Leishmaniose Visceral

OMS – Organização Mundial da Saúde

WHO – World Health Organization

UE – Unidade Experimental

PA – Princípio Ativo

PC – Produto Comercial

DL – Dose Letal

LISTA DAS TABELAS:

Tabela 1: Números de casos confirmados, óbitos por Leishmaniose Visceral Humana e letalidade estimada, Brasil de 2010 a 2019.	15
Tabela 2: Descrições das Concentrações, Quantidades de Princípio Ativo (PA) e de Produto Comercial (PC) por tratamento. Valores em gramas para o Bti e em mL para Espinosade.	28
Tabela 3: Valores dos volumes (mL) aspergidos por cada borrifador em 10 repetições com 10 aspersões em cada, com seus respectivos valores médios, Desvios Padrão e média por aspersão.	34
Tabela 4: Mortalidade no Teste 1 por Grupos de tratamento, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 28 dias após tratamento.	36
Tabela 5: Mortalidade no Teste 1 por Grupos de tratamento, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 28 dias após tratamento, com a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.	37
Tabela 6: Períodos entre o início do experimento e a emergência de alados (em dias) nos tratamentos com Bti a 10 mg/g, Bti a 20 mg/g e Controle por réplica, suas médias e desvio padrão por Grupo.	38
Tabela 7: Mortalidade no Teste 2 por Grupos de tratamento com Espinosade, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 33 dias após tratamento.	42
Tabela 8: Mortalidade no Teste 2 por Grupos de tratamento com Espinosade, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 33 dias após tratamento, com a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.	42
Tabela 9: Períodos de emergência de alados nos tratamentos com Espinosade e Controle por réplica no Teste 2 do experimento, com as médias e desvios padrão por Grupo de tratamento por dia.	43

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Diagrama do desenho experimental do Teste 1 com as concentrações de 10 mg/g e 20 mg/g de <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> e Espinosade (em miligramas de princípio ativo por grama de alimento)	26
Figura 2: Diagrama do desenho experimental do Teste 2 com as diluições testadas de Espinosade.	27
Figura 3: Modelo de borrifador utilizado para aspergir as soluções no experimento.	27
Figura 4: Pesagem das porções de 20 gramas de alimento em balança analítica.	28
Figura 5: Pesagem das porções do larvicida Bti para o Grupo de 10 mg/g (imagem à esquerda com 2,09 gramas) e Grupo de 20 mg/g (imagem à direita com 4,17 gramas) em balança analítica.	29
Figura 6: Pipeta de vidro graduada de 2 mL (A) e micropipetador ajustável (B).	29
Figura 7: Suporte utilizado para a fixação dos borrifadores.	30
Figura 8: Recipientes utilizados para a deposição do alimento e tratamento com as soluções dos larvicidas testados. À Esquerda a vasilha sem a cobertura. À direita a vasilha com a cobertura de papel alumínio e papel Kraft.	30
Figura 9: Borrifador fixado ao suporte e vasilha disposta para receber tratamento.	31
Figura 10: Colheres dosadoras utilizadas para a disposição do alimento às larvas.	31
Figura 11: Exemplo de UE com a disposição inicial do alimento tratado.	31
Figura 12: Gaiola entomológica para captura de alados (à esquerda), aspirador de Castro (centro) e coletor de alados (à direita).	32
Figura 13: Gráfico de tempo mínimo, máximo e mediano para emersão de alados por tratamento (Bti de 10 mg/g, 20 mg/g e Controle) no Teste 1, em dias.	39
Figura 14: Fotografia com uma larva do grupo controle (A) e uma tratada com Bti (B).	39
Figura 15: Gráfico de tempo mínimo, máximo e mediano para emersão de alados por tratamento com Espinosade e Controle no Teste 2 do experimento, em dias.	44
Figura 16: Gráfico de dose-resposta de Espinosade, nas concentrações de 20 mg/g, 10 mg/g, 1 mg/g, 0,5mg/g, 0,2 mg/g e 0,1 mg/g. Linha preta representa o valor estimado para DL 90.	44
Figura 17: Gráfico de mortalidade por dia após o início do experimento nos tratamentos com diluições de Espinosade.	45

ANEXOS:

Anexo 1: Ficha de Acompanhamento de Mortalidade a serem registradas a quantidade de larvas vivas/mortas e seu estágio de desenvolvimento por tratamento

57

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças zoonóticas transmitidas por vetores, que causam manifestações clínicas dermatológicas, em mucosas ou em órgãos internos, a depender da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção e a resposta imunológica do indivíduo (BRASIL, 2014).

Os agentes etiológicos das leishmanioses são protozoários do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), com ciclo digenético, ou seja, com duas formas ou estágios distintos, uma forma extracelular flagelada ou promastigota, que se desenvolve no tubo digestório do vetor, e outro estágio intracelular aflagelada ou amastigota, que se reproduz em células do sistema mononuclear fagocítico, principalmente macrófagos, nos hospedeiros vertebrados. (OPAS, 2019).

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é causada pelo protozoário da espécie *Leishmania infantum* e se manifesta principalmente causando febre, perda de peso, comprometimento de baço e do fígado. Caso não seja tratada, em geral é fatal em até dois anos (DESJEUX, 2004).

As leishmanioses continuam sendo um grave problema de Saúde Pública em 4 regiões do mundo, incluindo as Américas, o oeste e norte da África, leste e sudeste da Ásia, com um total de 3053 óbitos entre os anos de 2014 a 2018. O Brasil é classificado como um dos 5 países com maior quantidade de casos e óbitos por LV, que junto à Sudão, Sudão do Sul, Índia e Etiópia, respondem por aproximadamente 95% dos casos de óbitos notificados no mundo e com 556 milhões de pessoas expostas a risco de infecção (WHO, 2020).

Nas Américas, no período de 2001 a 2017, foram registrados um total de 59.769 casos de LV, distribuídos em 12 países. Somente no ano de 2017, foram 4.239 casos e destes, 4.114 (97,05%) ocorreram no Brasil (OPAS, 2019).

No Brasil, a LV era considerada uma endemia rural, com urbanização crescente a partir da década de 1980, atingindo inicialmente centros urbanos da região Nordeste, mas a partir de 2008, com casos humanos atingindo até o Estado do Rio Grande do Sul (WERNECK, 2010; RIO GRANDE DO SUL, 2014). No período de 2010 a 2019, foram confirmados 32.645 casos desta doença com 2.357 óbitos o que resulta em uma letalidade média de 7,22%, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Números de casos confirmados, óbitos por Leishmaniose Visceral Humana e letalidade estimada, Brasil de 2010 a 2019.

Ano	Casos	Óbitos	Letalidade
2010	454	31	6,83
2011	4039	267	6,61
2012	3211	208	6,48
2013	3585	243	6,78
2014	3680	261	7,09
2015	3489	274	7,85
2016	3553	266	7,49
2017	4454	343	7,70
2018	3707	280	7,55
2019	2473	184	7,44
Total	32675	2359	7,22

Fonte: Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net, 2021.

No Estado de São Paulo, o primeiro caso humano autóctone de LV detectado foi no ano de 1999, sendo que até o ano de 2020 foram registrados 3031 casos com 274 óbitos (CVE, 2021).

Neste mesmo Estado, entre os anos de 2014 a 2017 foram registrados 526 casos com 44 óbitos (letalidade de 8,4%), porém na faixa etária de 60 anos ou mais, foram 79 casos com 19 óbitos, resultando em uma letalidade de 24,1%.

No ano de 2012, 76 municípios concentrados na região oeste deste Estado apresentavam transmissão humana. Já no ano de 2017 eram 98 municípios, incluindo o Guarujá/SP, no litoral paulista, evidenciando a expansão para região leste. (HIRAMOTO, 2019; BEPA 2019).

As modificações ambientais, ocupação irregular do solo, migrações de pessoas e de animais infectados, além da adaptação do vetor a ambientes

antropomórficos podem estar entre os fatores que favorecem essa expansão da doença (MADEIRA, 2003; AMORA, 2009; XIMENES 2007; SALOMON, 2015; GALVIS-OVALLOS et al, 2020).

Reservatórios:

Os reservatórios dos agentes etiológicos das leishmanias são animais vertebrados que mantêm o parasito na natureza e servem de fontes de infecção a vetores, mantendo o ciclo de transmissão. Embora se reconheçam alguns reservatórios principais para cada espécie de *Leishmania*, outros mamíferos também podem se infectar e serem considerados reservatórios secundários ou acidentais. Animais domésticos (cães e gatos), sinantrópicos (*Rattus spp*), silvestres como roedores (*Proechimys spp*, *Nectomysspp*, *Oryzomysspp*, etc.), marsupiais (*Didelphis sp.*), edentados (*Tamanduatetradactyla*), além de canídeos silvestres (*Dusicyonvetulus e Cerdocyonthous*) são possíveis reservatórios de *Leishmania (L.) infantum*, porém os cães domésticos são reconhecidos como os principais reservatórios em ambiente urbano.(OPAS, 2019; BRASIL, 2014; GALVIS-OVALLOS et al, 2020).

Vetores:

Os vetores de leishmanias são fêmeas de dípteros da família Psychodidae, sub-família Phlebotominae, denominados genericamente por flebotomíneos, e conhecidos popularmente por cangalha, cangalhinha, birigui, tatuquira, mosquito palha ou asa dura que transmitem os parasitos destas doenças para o homem e outros hospedeiros mamíferos através da picada (GALVIS-OVALLOS et al, 2020). São insetos pequenos, medindo de 1 a 3 mm, com corpo piloso, facilmente reconhecido pelo vôo em pequenos saltos e que pousam com as asas entre abertas (BRASIL, 2014).

O ciclo de vida dos flebotomíneos é holometábolo, com oviposição em ambiente terrestre, 4 estágios larvais, pupa e fase alada. A duração média deste ciclo leva 45 dias, mas pode variar conforme espécie, temperatura e fonte de alimentação. Na fase adulta, ambos os sexos se alimentam de seiva de plantas, sendo que fêmeas necessitam de se alimentar de sangue de vertebrados para o desenvolvimento de seus ovos (GALVIS-OVALLOS, 2020).

Os estágios imaturos de flebotomíneos se desenvolvem em micro habitats terrestres sombreados e úmidos, ricos em nutrientes orgânicos, tais como nas folhas ou perto de serrapilheira, bases de árvores, túneis de animais, abrigos de animais e fendas de rocha (FELICIANGELI, 2004).

Nos flebotomíneos neotropicais têm sido isolados mais de 150 microrganismos de diversos grupos, incluindo vírus, bactérias, fungos, nematoides e protozoários. Representam desta forma, potenciais vetores para muitos patógenos entre animais como morcegos, roedores, marsupiais, assim como em humanos (SHAW, 2003).

Todavia, são como vetores de espécies de *Leishmania* (Trypanosomatida, Trypanosomatidae) que representam grande destaque, pois são 15 espécies de *Leishmania* descritas na região Neotropical (Lainson, 2010), sendo que destas, 7 espécies causam leishmaniose tegumentar humana no Brasil (BRASIL, 2017) e a *Leishmania (L.) infantum*, agente etiológico da LV.

As espécies de flebotomíneos do complexo *Lutzomyia longipalpis* estão relacionadas com a transmissão de LV nas Américas. No Brasil a espécie *Lu. cruzi* está incriminada na transmissão do agente da LV nos estados do Mato Grosso do Sul e Mato Grosso (MISSAWA et al., 2011). Entretanto, a ocorrência de casos humanos no litoral Paulista e casos caninos e humanos na região metropolitana de São Paulo, têm sido relatados sem a detecção destes vetores nestas regiões, onde *Pintomyia fischeri* e *Nyssomyia intermedia* são as espécies predominantes, levantando a suspeita de que eles poderiam atuar como vetores (GALVIS-OVALLOS, 2017 e RANGEL, 2018, CASANOVA et al. 2022). No Estado de Pernambuco, a espécie *Migonemyia migonei* tem sido apontada como possível vetor no Município de São Vicente Ferrer, em decorrência da ausência de *Lutzomyia longipalpis* nas capturas realizadas, além da abundância e predominância de *Mi. migonei* nas coletas e do fato de serem encontrados indivíduos naturalmente infectados (SILVA, 2014; CARVALHO et al. 2010). Em Santa Catarina, onde ocorrem casos humanos e caninos na capital Florianópolis, as espécies *Nyssomyia neivai*, *Migonemyia migonei* e *Pintomyia fischeri* são apontadas como possíveis transmissoras e em Porto Alegre/RS, além destas duas últimas espécies, também foi encontrada infecção natural em *Lutzomyia gaminarai* (REGO, 2020; SANTA CATARINA, 2018).

1.1 MEDIDAS DE CONTROLE DE LV NO BRASIL

No Brasil o Ministério da Saúde preconiza como principais medidas de controle as seguintes ações: (1) diagnóstico e tratamento precoces dos casos humanos, (2) redução da população de flebotomíneos, (3) eliminação dos reservatórios e (4) atividades de educação em saúde (BRASIL, 2019). No entanto, estas medidas se provaram insuficientes para evitar a propagação da doença e o aumento do número de casos (AMORA, 2006; WERNECK, 2010). Isto pode estar relacionado à complexidade do ciclo de transmissão da doença, assim como do conhecimento ainda insuficiente sobre vários elementos que compõem a cadeia de transmissão da LV e às diferenças nos focos de transmissão, considerando o tamanho continental do país que podem comprometer a efetividade das medidas.

Embora as diretrizes para o controle de LV sejam de ordem nacional, a execução das ações é uma atividade sob responsabilidade dos municípios. Neste sentido, alguns fatores como a falta de recursos humanos capacitados, a descontinuidade das ações de vigilância e de controle e a alocação das equipes para atender a ocorrência de doenças epidêmicas como as arboviroses, também prejudicam a efetividade das ações de controle dos vetores de LV, especialmente quando estas devem ser feitas de forma ampla.

Somado a isto, dificuldades na capacidade de tomada de decisão baseada em evidências e falta de monitoramento dos impactos das intervenções, constituem um gargalo no controle da LV e podem resultar em intervenções ineficientes, que assim geram desperdício de recursos, sem o devido impacto no controle da transmissão de doenças (WHO, 2012; GALVIS-OVALLOS, 2020).

Segundo a Organização Panamericana da Saúde (OPAS), há necessidade de fortalecer a vigilância em Saúde para conhecer, intervir e desencadear ações e, a partir do conhecimento e análises de dados epidemiológicos (sobre a ocorrência da doença e da população de possíveis vetores, identificando estratos de riscos, a dispersão temporal e geográfica), gerando respostas mais adequadas e oportunas de intervenções de forma integrada e intersetorial (OPAS, 2019).

Os principais desafios no controle da LV estão justamente nas intervenções nos elos da cadeia de transmissão, especialmente naquelas dirigidas ao controle de

vetores e de reservatórios infectados, fatores estes considerados diretamente relacionados ao risco de transmissão aos humanos. Segundo o Ministério da Saúde (2014) cães infectados, mesmo que assintomáticos devem ser eutanasiados. Esta medida, além de ter efetividade discutida, pois teria pouco impacto em controlar a transmissão humana, causa um desgaste crescente com a população, tendo em vista a alteração do papel destes animais na sociedade (COSTA, 2011).

1.2 CONTROLE DE INFECÇÃO EM RESERVATÓRIOS

Estudos recentes sugerem que a utilização de coleiras impregnadas com deltametrina, com coberturas de encoleiramento superiores a 90% podem ser estratégias de maior eficácia quando comparada a eutanásia, podendo reduzir significativamente a prevalência de cães sororreagentes (SEVÁ et al, 2016). Da mesma forma, com a vacinação de cães é possível uma redução de animais infectados. No entanto, não existem evidências de eficácia das vacinas disponíveis como estratégias de controle da transmissão de LV, sendo consideradas somente como medidas complementares de proteção individual e devendo ser custeadas pelos tutores dos animais (SANTA CATARINA, 2018).

1.3 CONTROLE DE FLEBOTOMÍNEOS

As medidas preconizadas para o controle vetorial são, além do levantamento e monitoramento das populações de vetores, a remoção de materiais orgânicos que possam servir de substratos para o desenvolvimento das formas imaturas, (folhas, frutos, fezes de animais, entre outros). A presença de condições ambientais favoráveis, com substratos para a oviposição e o desenvolvimento de formas imaturas é determinante para a existência e a densidade do vetor em determinada área. Em ambientes urbanos, a presença de galinheiros parece exercer condição importante neste aspecto, tendo em vista que estes animais são frequentemente utilizados como fonte de repasto pelas fêmeas e o desenvolvimento das formas larvárias é mais acelerado em substratos formados nestes locais (CASANOVA, 2001; MARTINS, 2021).

Nos locais sem transmissão de LV humana ou com casos esporádicos (média menor que 2,4 casos/ano nos últimos 5 anos), o controle químico e o acompanhamento das populações de vetores não é recomendado, dificultando as ações de controle e de conhecimento dos aspectos epidemiológicos envolvidos (BRASIL, 2014; AMORA, 2009), à despeito do controle vetorial ser considerado uma estratégia que impacta positivamente na diminuição da ocorrência de casos humanos (RIBAS et al, 2013).

Somente na ocorrência do primeiro caso humano autóctone, ou nos municípios com transmissão moderada ou intensa é recomendada a borrifação de inseticidas de efeito residual a base de piretróides, tanto em paredes internas das residências quanto nas externas e de anexos das construções. Esta medida atinge apenas as formas adultas e tem como objetivo evitar ou diminuir o contato entre o inseto infectado e a população humana, e conseqüentemente, reduzir o risco iminente de transmissão da doença (BRASIL, 2014).

Quanto ao controle de imaturos de flebotomíneos, o conhecimento limitado dos locais de reprodução e desenvolvimento de formas imaturas, dificultam medidas direcionadas de controle nestas fases dos vetores (CASANOVA et al, 2013)

Desta forma, o controle de transmissão é focado nas formas adultas, através da aplicação de controle químico de vetor. Como isto depende de escolhas limitadas de inseticidas para intervenções, que no futuro pode constituir um problema pela seleção de populações resistentes a determinadas substâncias, isto poderia impactar negativamente os esforços de controle (WHO, 2012), além de poder resultar em impactos ambientais e toxicológicos indesejados (AMORA, 2009).

As dificuldades e desafios no uso de controle químico têm levado a um aumento no interesse por novos produtos, estimulando e substituindo os produtos sintéticos em favor de métodos de controle biológico ou de outras substâncias menos agressivas ao meio ambiente e que possam melhor atender às necessidades (VIEGAS JÚNIOR, 2003), em um contexto de manejo integrado.

1.3.1 Alternativas de controle vetorial de flebotomíneos:

Outras formas de controle vetorial descritas na literatura abrangem métodos que podem agir sinergicamente no controle da transmissão de LV como possibilidades de manejo integrado. Entre estas, pode-se destacar o uso de telas

impregnadas com inseticidas em portas, janelas ou sobre os locais onde pessoas dormem, utilizadas também no controle de outras enfermidades como Malária. Este método funciona como armadilhas com “iscas”, pois o gás carbônico e odores exalados atraem os vetores facilitam o contato com a superfície tratada, sendo um método barato, relativamente seguro devido à baixa a moderada toxicidade para mamíferos e de alta atividade inseticida, principalmente em comunidades próximas a ambientes silvestres (ALEXANDER, 2003).

Segundo Mondal *et. al.*, (2003), a estimativa de proteção contra a infecção de LV foi de 85% em áreas com uso massivo desta estratégia em Bangladesh. Por outro lado, Chowdhury *et. al.* (2019), não observaram diferenças estatisticamente significantes entre áreas sob intervenção e controle na mesma localidade, indicando esta estratégia como complementar no manejo integrado de vetores.

Outra alternativa descrita é com o uso de coleiras impregnadas com inseticidas a base de deltametrina 4% em cães. Nos Municípios de Montes Claros/SP e Fortaleza/CE, houve uma redução de 14% e 60% respectivamente na população de *L. longipalpis* (SILVA *et. al.*, 2018) e uma redução de 48% na soroprevalência de cães infectados nos locais tratados/controlados de Governador Valadares/MG (COURA-VITAL *et. al.*, 2018). Em estudo de uma coorte de cães em Araçatuba/SP, entre os anos de 2002 a 2006, o uso destas coleiras em larga escala propiciou uma diminuição nos casos humanos e caninos. A incidência de casos humanos na área tratada era de 23,3 casos/100 mil habitantes no início do acompanhamento e, em 2006 foi de 3,6 casos/100 mil habitantes. Neste município como um todo, a incidência foi de 16,8 e 21 casos/100mil habitantes no mesmo período. Para os cães, a efetividade estimada foi de 66% (CAMARGO-NEVES *et. al.* 2021).

1.2.2 Uso de inseticidas biológicos no controle de vetores

O emprego de produtos de origem biológica para controle de insetos vetores e pragas tem sido amplamente usado principalmente na agricultura com o objetivo de aumentar a qualidade do produto agrícola e reduzir a contaminação do meio ambiente, contribuindo para a preservação de recursos naturais e aumentando a sustentabilidade dos ecossistemas (FINKLER, 2012). Todavia, seu uso em saúde

pública só tem sido utilizado nos últimos anos, principalmente no controle de *Aedes aegypti*.

Entre as estratégias de controle de arboviroses, em especial aquelas transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, estudos apontam para a possibilidade de uso larvicidas biológicos com alternativas eficientes, com segurança a seres humanos e outros animais, além do baixo desenvolvimento de resistência. Entre esses larvicidas biológicos, destacam-se o *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e o espinosade. (POLANCZYK, 2003 e CARVALHO, 2007)

O *Bacillus thuringiensis* (Bt) é uma bactéria gram-positiva, anaeróbica facultativa que produzem inclusões de cristais proteicos no endoesporo. Em algumas subespécies estes cristais proteicos possuem toxicidade para larvas de certos invertebrados, como insetos das Ordens Coleóptera, Diptera e Lepidóptera, apresentando assim possibilidade de uso na agricultura e na saúde pública. O mecanismo de ação do Bt é pela formação de cristais proteicos que agem por ingestão pelas larvas, e a eficácia depende da solubilização no intestino, da conversão das prototoxinas em toxinas biologicamente ativas por enzimas proteolíticas, de receptores específicos de membranas e quebra de células epiteliais. Quando os esporos germinam e proliferam, produzem septicemia, contribuindo para a morte do inseto (WHO, 1999). Estudos em mamíferos, avaliaram a possibilidade de infectibilidade e toxicidade a variadas preparações com Bt, incluindo os cristais proteicos, células vegetativas e esporos, se apresentando como não patogênico e não tóxico. (WHO, 1999).

Outro produto biológico de potencial utilidade é o Espinosade, um inseticida produzido pela bactéria actinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* que ocorre naturalmente em solos que produz dois componentes ativos, espinosinas A e espinosinas D. Inicialmente produzido para o controle de lepidópteros e tripses, posteriormente se verificou ação sobre coleópteros, dípteros, homópteros, isópteros, ortópteros, sifonóptero, e thyssanópteros e ácaros. As espinosinas agem primariamente por ingestão, mas também por contato. São neurotóxicas com um modo de ação envolvendo os receptores nicotínicos de acetilcolina e aparentemente de receptores GABA. Primariamente causam movimentos musculares involuntários e tremores pela excitação de neurônios do sistema nervoso central. Após um período desta hiperexcitação, produz a paralisia dos insetos, aparentemente pela fadiga causada e morte. (SALGADO, 1998).

Para Culicídeos, em especial o *Aedes aegypti*, o Espinosade obteve resultados de mortalidade que variaram de 47 a 100% das larvas (SILVA, 2012) e mortalidade de 98,5% em estudo de FONSECA et al, 2019. Em testes de controle de *Culex quinquefasciatus*, CARRARO (2017) observou uma mortalidade média de 97,5% em larvas provenientes do Rio Pinheiros, São Paulo/SP.

Na revisão de avaliação de pesticidas realizada pela Organização Mundial da Saúde em sua 14^a reunião de grupos de trabalho (WHO, 2011), Espinosade EC 20.6% (mesma formulação testada neste presente trabalho), a eficácia deste produto foi testada no controle de *Culex quinquefasciatus* em fossas, canais de drenagem de água e poços em desuso e de *Anopheles gambiae*, com resultados de mortalidade de 80-100% e de 95,5-98%, respectivamente.

No tocante aos efeitos às espécies não alvos pelo Espinosade, Bacci *et. al.* (2016) e Williams (2003) o classificam como de baixo impacto para animais não alvos. Mayes *et. al.* (2003) não encontrou toxicidade significativa para abelhas e Crane *et. AL.* (2021) conclui que a substância é eficaz no controle de *Aedes* em pântanos de Minnessota, EUA, sem apresentar riscos a moluscos e crustáceos nestes ambientes. Já Cisneros (2002), o considera tóxico às tesourinhas e formigas. Adicionalmente, este produto é homologado pela WHO (2017) para tratamento de reservatório de água de consumo humano.

No caso de flebotomíneos, Carvalho *et. al.* (2007) observaram que larvas de *Lu. longipalpis* foram suscetível a protoxinas de *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis*, apresentando mortalidade superior a 50% e exibindo atraso de muda quando comparado a controles. Wermelinger (2000) observou em condições experimentais taxas de mortalidade de até 81,2%.

Considerando a necessidade de desenvolver estratégias de controle integrado de vetores, a avaliação de produtos biológicos para o controle de flebotomíneos contribui para o desenvolvimento de estratégias de baixo custo e de baixo impacto ambiental, que possam fazer parte das demais medidas preconizadas para o controle de LV. Todavia, antes de um potencial uso em campo, são necessários estudos controlados de laboratório para avaliar a sua eficácia e potencial uso.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a suscetibilidade de formas imaturas de *Lutzomyia longipalpis* aos larvicidas biológicos *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e espinosade.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a proporção de mortalidade de formas imaturas de terceiro estágio larval de *Lutzomyia longipalpis* aos inseticidas biológicos;
- Acompanhar o desenvolvimento das larvas expostas aos tratamentos e estimar a sobrevivência diária das formas imaturas.
- Comparar os resultados de Mortalidade e sobrevivência dos tratamentos com Bti e Espinosade.

3. MÉTODO

3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Os testes foram realizados com larvas de terceiro estágio de desenvolvimento da espécie *Lutzomyia longipalpis*. Os imaturos foram obtidos de colônia mantida no Laboratório de Entomologia em Saúde Pública da FSP/USP em Umidade Relativa do Ar acima de 80%, a 25°C (± 1 C), alimentadas com mistura de fezes de coelhos e ração de coelho na proporção de 1:1.

3.2 FORMULAÇÕES DOS BIO INSETICIDAS

Foram utilizados o Bti WDG (formulação de grânulos solúveis em água), cepa BMP144, com concentração de 43% do princípio ativo (Neogen, produto Crystar® 3000 WDG). Para o Espinosade, trata-se da formulação concentrado emulsionável (CE) com concentração de 20,4% de princípio ativo (Clarke, produto Natular® 20 EC). Estas formulações foram utilizadas, pois ambas são solúveis em água. Utilizaram-se produtos comerciais à disposição dos órgãos de controle de vetores, obtidos na forma de doação da Divisão de Vigilância Epidemiológica e Zoonoses, Secretaria de Saúde, Prefeitura Municipal de Sorocaba/SP.

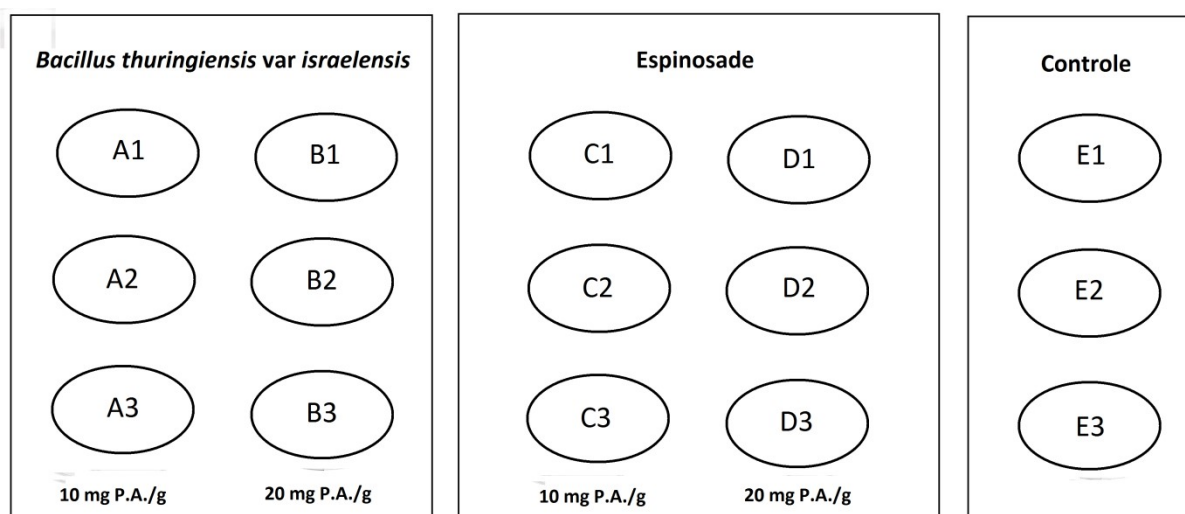
3.3 TÉCNICAS UTILIZADAS

Utilizou-se a técnica descrita para bioensaios com *Bacillus sp.* contra flebotomíneos de Wermelinger (2000) como base. Os experimentos consistiram em aplicações de diferentes concentrações dos larvicidas em grupos de 30 larvas de terceiro instar, distribuídas em frascos plásticos de 80 mm de diâmetro x 60 mm de altura, com 12 mm de gesso em sua base, nas quais foi disposto o alimento normalmente ofertados para a colônia (Mistura de fezes de coelho e ração de coelho) previamente tratados com as soluções dos produtos e acompanhadas até a fase adulta dos sobreviventes.

Os larvicidas foram diluídos em água nas diferentes concentrações para serem aspergidas na ração das larvas, simulando uma aplicação direta sob matéria orgânica em campo.

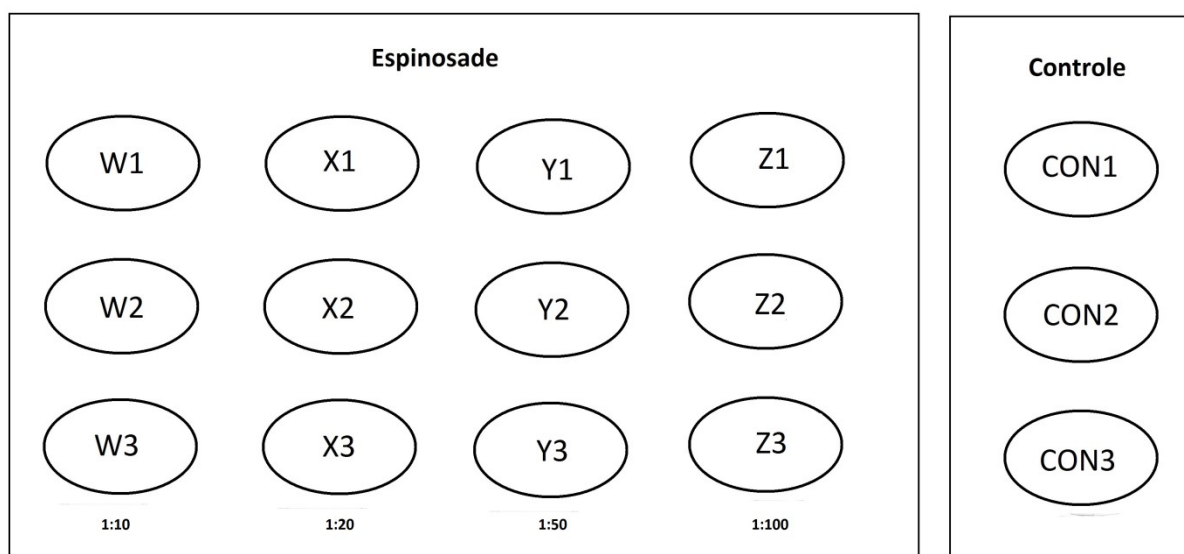
Inicialmente, para cada produto foram testadas as concentrações de 10 e 20 mg de princípio ativo/g de alimento com 3 réplicas para cada produto e concentração, denominado Teste 1 do experimento (Figura 1). Foram ainda realizadas unidades controles nas mesmas condições dos experimentos, com aplicação de água sobre os alimentos ofertados. As condições climáticas de umidade relativa do ar e temperatura foram as mesmas utilizadas para a manutenção da colônia.

Figura 1: Diagrama do desenho experimental do Teste 1 com as concentrações de 10 mg/g e 20 mg/g de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e Espinosade (em miligramas de princípio ativo por grama de alimento)



Para o larvicida apresentando as maiores mortalidades foi realizado um segundo teste para analisar a dose letal de potencial uso, utilizando-se 4 diluições da menor concentração testada anteriormente (10 mg/g) nas proporções de 1:10, 1:20, 1:50 e 1:100 (Figura 2).

Figura 2: Diagrama do desenho experimental do Teste 2 com as diluições testadas de Espinosade.



As aplicações dos larvicidas foram realizadas com aspersão por borrifadores manuais do tipo “spray”, semelhante aos utilizados em jardinagem, individuais para cada produto e concentração para evitar possíveis interferências (Figura 3).

Figura 3: Modelo de borrifador utilizado para aspergir as soluções no experimento.



Para a padronização do volume dispensado pelos borrifadores, cada equipamento foi testado com volume inicial de 100 mL de água, onde foram realizadas 10 aspersões iniciais para o preenchimento do sistema e posteriormente 10 aspersões recolhidas em proveta de 100 mL para pesagem em balança analítica.

Os resultados foram registrados em planilha eletrônica (LibreOfficeCalc), com cálculos dos valores médios dos volumes dispensados por aspersão, mediana, desvio padrão (Tabela 3).

A partir destes valores, foram calculadas as quantidades dos produtos para atingir a quantidade de princípio ativo necessária em cada tratamento, conforme Tabela 2.

Tabela 2: Descrições das Concentrações, Quantidades de Princípio Ativo (PA) e de Produto Comercial (PC) por tratamento. Valores em gramas para o Bti e em mL para Espinosade.

Produto	Grupo de tratamento	Concentração (mg P.A./ g de alimento)	Quantidade de PA	Concentração do PC (%)	Quantidade de PC por tratamento	Quantidade de PC para Vol. inicial
Bti	A	10	0,2	0,43	0,4651	2,09
	B	20	0,4	0,43	0,9302	4,17
	C	10	0,2	0,204	0,9804	4,40
	D	20	0,4	0,204	1,9608	8,80
Espinosade	W	1	0,02	0,204	0,0980	0,44
	X	0,5	0,01	0,204	0,0490	0,22
	Y	0,2	0,004	0,204	0,0196	0,09
	Z	0,1	0,002	0,204	0,0098	0,04

3.3.1 Preparação das soluções

Inicialmente, foram pesadas as porções de 20 gramas de alimento a serem tratados em balança analítica e acondicionados em frascos de coletores universais etiquetados (Figura 4).

Figura 4: Pesagem das porções de 20 gramas de alimento em balança analítica.



Para o Bti, cuja formulação é em grãos solúveis em água, os respectivos valores de produtos comerciais extraídos da Tabela 2, (Grupo A: 2,09 gramas e Grupo B: 4,17 gramas), foram pesados em balança analítica para posterior dissolução no volume inicial de 100 mL de água mineral por tratamento (Figura5).

Figura 5: Pesagem das porções do larvicida Bti para o Grupo de 10 mg/g (imagem à esquerda com 2,09 gramas) e Grupo de 20 mg/g (imagem à direita com 4,17 gramas) em balança analítica.



No caso do Espinosade, cuja formulação é líquida, os volumes foram medidos em pipetas graduadas de vidro, com precisão de 0,1 mL e com micropipetador ajustável para a preparação da solução (Figura 6)

Figura 6: Pipeta de vidro graduada de 2 mL (A) e micropipetador ajustável (B)



3.3.2 Tratamento do alimento com os larvicidas

Após a homogeneização das soluções preparadas anteriormente, os borrifadores foram fixados com o auxílio de suporte com garras, sempre na mesma posição para que todos os borrifadores estivessem instalados à mesma distância dos recipientes com o alimento (Figura 7).

Figura 7: Suporte utilizado para a fixação dos borrifadores.



Os 20 gramas de alimentos de cada Unidade Experimental a serem tratados, foram distribuídos uniformemente em vasilhas plásticas de 5,5 litros, com 22 cm de diâmetro por 14 cm de altura, embaladas externamente com papel alumínio e papel Kraft para evitar a incidência luminosa, posteriormente etiquetadas (Figura 8).

Figura 8: Recipientes utilizados para a deposição do alimento e tratamento com as soluções dos larvicidas testados. À esquerda a vasilha sem a cobertura. À direita a vasilha com a cobertura de papel alumínio e papel Kraft.



Foram aplicadas 30 aspersões com as respectivas soluções. Considerando o valor médio por aspersão de 0,74 mL, cada aplicação foi de 22,2 mL, valor este suficiente para umedecer o substrato, sem encharcá-lo. A cada aspersão, a vasilha foi rotacionada em cerca de 30° para que houvesse uma deposição uniforme por toda a superfície, simulando uma aplicação em campo.

As aplicações das soluções nos alimentos foram realizadas no período da manhã do dia de início do experimento (dia zero - D0) e foram logo em seguida ofertadas às larvas nas respectivas UE. Para o controle, foi aspergida a mesma quantidade de água mineral, para estarem todas com a mesma umidade no início do tratamento (Figura 9).

Figura 9: Borrifador fixado ao suporte e vasilha disposta para receber tratamento



Após a preparação das soluções de Bti, a dissolução dos grãos não foi total até o momento da aplicação, fato este que gerou dificuldades, pois houve entupimento dos borrifadores. As aspersões em que isto ocorreu foram desconsideradas, retomadas somente após o desentupimento do sistema do borrifador. Para o Espinosade, as aplicações ocorreram sem intercorrências.

Inicialmente, foram ofertadas quatro porções dos alimentos tratados com 0,23 gramas cada, medida da colher dosadora utilizada (Figura 10), em cada Unidade Experimental (Figura 11). A reposição dos alimentos foi realizada nas mesmas quantidades conforme o consumo, o que ocorreu somente 1 vez, no 7º dia do experimento, em ambos os testes.

Figura 10: Colheres dosadoras utilizadas para a disposição do alimento às larvas.



Figura 11: Exemplo de UE com a disposição inicial do alimento tratado.



3.3.3 Contagem dos imaturos:

As aferições foram realizadas a cada 12 horas nos primeiros 15 dias. Após este período, dada a estabilização nas quantidades das larvas nos diferentes estágios, as leituras passaram a ser diárias. Foram realizadas com auxílio de lupa estereomicroscópica, com objetivas de 10 x de aumento, além do aumento variável do equipamento com possibilidade de ajuste entre 0,7 e 3 vezes e pincel de ponta fina, individuais para cada grupo do tratamento. A partir do momento que havia pupas nas UE, os frascos foram abertos em gaiola entomológica para a captura de eventuais alados recém emergidos. Estes foram capturados do interior da gaiola entomológica com aspirador de Castro e dispostos em frascos de coleta universal com furo na sua lateral do mesmo diâmetro da mangueira do aspirador de castro (Figura 12) e etiquetados para posterior sacrifício por congelamento.

Figura 12: Gaiola entomológica para captura de alados (à esquerda), aspirador de Castro (centro) e coletor de alados (à direita).



No dia seguinte estes coletores eram abertos para a distinção e quantificação de machos e fêmeas. Uma armadilha do tipo CDC foi colocada continuamente ligada no local das aferições para capturar eventuais fugas de alados e inspecionada diariamente. Caso fosse visualizado algum Díptero suspeito de ser flebotomíneo, o copo coletor foi retirado e levado para congelamento para posterior inspeção sob lupa.

3.4 Organização de dados

As observações e quantificações das larvas vivas e mortas em cada Unidade experimental e de controle foram feitas a cada 12 horas nos primeiros 15 dias após início do experimento e cada 24 horas após este período, com registros da mortalidade em cada unidade experimental em Ficha de Acompanhamento de Mortalidade (Anexo 1). Também foram anotadas as quantidades de larvas em cada fase de desenvolvimento por dia e de emergência dos adultos nos sobreviventes para verificar influência nestes períodos. Para a determinação desta condição de viva/morta, todas as larvas foram estimuladas com pincel de ponta fina nas cerdas da porção terminal e se não houver resposta ao estímulo, foram consideradas mortas.

3.5 Análise de dados

Estatísticas descritivas com apresentação em tabelas e gráficos foram utilizadas para a apresentação dos dados resumidos. Foram estimados o tempo mínimo, mediano e máximo de desenvolvimento no quarto instar, na fase de pupa e tempo entre L3 e adultos. A tabua de vida foi estruturada para estimar a expectativa de vida das formas imaturas em cada tratamento.

Para comparar o tempo médio de desenvolvimento nos tratamentos Bti e Espinosade foi estabelecido como tempo máximo de desenvolvimento de L3 até emersão de alados no grupo controle.

São apresentadas as médias de mortalidade por tratamento e desvio padrão, com mortalidade corrigida com a fórmula de Abbott:

$$M_{Corr} = \frac{(MT - MC)}{(100 - MC)} \cdot 100, \text{ onde:}$$

M_{Corr} : Mortalidade corrigida (%); MT : Mortalidade do tratamento (%); e MC : Mortalidade do controle (%).

4. RESULTADOS

4.1 DETERMINAÇÃO DO VOLUME APLICADO:

Nas aferições dos volumes aspergidos pelos borrifadores para determinação do volume aplicado (valor médio por aspersão), foram observados valores próximos nos diferentes borrifadores utilizados. O volume mínimo aspergido por aplicação (10 borrifadas) foi 6,8 ml e o máximo foi 7,8 ml. Nos testes de aferição, a média das médias aferidas por borrifador foi 0,74 ml, valor este assumido para os cálculos das doses aplicadas nos testes. Os valores obtidos nos testes de aferição por aplicação e borrifador são apresentados na tabela 3.

Tabela 3: Valores dos volumes (mL) aspergidos por cada borrifador em 10 repetições com 10 aspersões em cada, com seus respectivos valores médios, Desvios Padrão e média por aspersão.

Nº da aplicação (10 aspersões cada)	Nº borrifador									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1ª aplicação	7,57	7,35	7,25	7,78	7,53	7,55	7,28	7,35	7,18	7,28
2ª aplicação	7,26	7,23	7,58	7,64	7,32	7,66	7,25	7,51	7,09	7,33
3ª aplicação	7,72	6,91	7,63	7,74	7,31	7,66	7,25	7,63	7,68	7,43
4ª aplicação	7,67	7,19	7,44	7,75	7,22	7,67	7,24	7,64	7,68	7,18
5ª aplicação	7,73	6,99	7,54	7,70	7,47	7,28	7,16	7,71	7,75	7,51
6ª aplicação	7,65	6,94	7,44	7,78	7,38	7,76	7,26	7,79	7,34	7,34
7ª aplicação	7,57	6,94	7,57	7,75	7,24	7,24	7,33	7,83	7,39	7,23
8ª aplicação	7,59	6,82	7,42	7,71	7,07	7,69	7,30	7,74	7,41	7,27
9ª aplicação	7,59	6,85	7,63	7,74	7,43	7,77	7,36	7,32	7,32	7,24
10ª aplicação	7,74	6,96	7,43	7,80	7,26	7,11	7,30	7,30	7,32	7,31
Total	76,10	70,18	74,93	77,40	73,23	75,39	72,71	75,81	74,16	73,13
Média das aplicações	7,61	7,02	7,49	7,74	7,32	7,54	7,27	7,58	7,42	7,31
DP Médias Aplicações	0,09	0,14	0,10	0,03	0,10	0,20	0,04	0,17	0,17	0,07
Média por aspersão	0,76	0,70	0,75	0,77	0,73	0,75	0,73	0,76	0,74	0,73

4.2 MORTALIDADE E PERÍODOS DE DESENVOLVIMENTO (TESTE1)

Mortalidade no grupo Controle

No grupo Controle, 91 larvas foram acompanhadas, das quais 85,7% atingiram a fase alada, com mortalidade de 14,3%. Neste grupo o total dos indivíduos alados emergiu 27 dias após o início do tratamento, período este considerado para a comparação do tempo de desenvolvimento dos imaturos entre os tratamentos.

Ao observar os resultados nas 3 réplicas do controle, os valores de mortalidade foram de 9,68% na placa A1; 19,35% na placa A2 e 13,39% para a placa A3, com um desvio padrão de 4,86.

Mortalidade nos Tratamentos com Bti

Bti 20 mg/g:

Para a concentração de 20 mg/g foram expostas 80 larvas, divididas em 3 placas tratadas. Destas 46 morreram e 34 se mantiveram vivas 28 dias após o tratamento, sendo 50% em L4, 25% em pupa e 25% atingiram a fase alada. A mortalidade neste tratamento foi de 57,5%.

Na réplica B1 foram 21 mortes em um total de 28, ou 75% de mortalidade, sendo que neste momento foram observadas 7 larvas em L4 (100% das sobreviventes), sem a formação de pupas ou alados. Na réplica B2, 10 mortes em um total de 24, com mortalidade de 41,67%. Das sobreviventes, observou-se a presença de duas larvas em L4 (14,3%), 5 pupas (35,7%) e 7 alados (50%) e na réplica B3, 15 mortes em 28 iniciais, com a mortalidade de 53,57%. Das sobreviventes 8 larvas em L4 (61,5%), 3 pupas (23,1%) e 2 alados (15,4%). O desvio padrão das mortalidades em cada réplica em relação à média do grupo foi de 16,89.

Bti 10 mg/g:

Para a concentração 10mg/g foram expostas 79 larvas, das quais 24 morreram. Das 55 que sobreviveram, 37 permaneceram em L4 (67,3%), 9 pupas (16,4%) e 9 atingiram a fase alada (16,5%). A mortalidade foi estimada em 30,4%.

Entre as réplicas deste tratamento, na A1 foram 2 mortes em um total de 28 (7,14% de mortalidade). Das sobreviventes, 11 estavam como larvas L4 (42,3%), 8 pupas (30,8%) e 7 alados (26,9%). Na réplica A2, foram 10 mortes de 26 larvas iniciais (38,5% de mortalidade). Das sobreviventes, 15 estavam como larvas L4 (93,75%) e 1 como alado (6,25%), sem pupas neste momento. Na réplica A3, registraram-se 12 mortes de 25 larvas iniciais (48% de mortalidade) e das sobreviventes, 11 eram larvas em L4 (84,6%), 1 pupa (7,7%) e 1 alado (7,7%). O desvio padrão das mortalidades neste tratamento foi de 21,37.

Mortalidade no Tratamento com Espinosade (Teste 1)

Nos tratamentos com Espinosade a 20 mg/g foram expostas 86 larvas, e para a concentração de 10 mg/g foram expostas 89 larvas. Em ambos os tratamentos a mortalidade foi de 100%.

Entre as réplicas do tratamento com Espinosade a 10 mg/g, a primeira (C1) tinha 31 larvas e tanto na C2 como na C3 eram 29 larvas, todas mortas na primeira aferição.

No tratamento com Espinosade a 20 mg/g, na réplica D1 eram 26 larvas, D2 e D3 continham 30 larvas cada. A mortalidade também foi de 100% na primeira aferição.

Tabela 4: Mortalidade no Teste 1 por Grupos de tratamento, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 28 dias após tratamento.

Tratamento	N inicial	Larvas L3	Larvas L4	Pupas	Alados	Total vivas	% mortalidade
Bti 10 mg	79	0	37	9	9	55	30,38
Bti 20 mg	80	0	17	8	9	34	57,50
Espinosade 10 mg	89	0	0	0	0	0	100
Espinosade 20 mg	86	0	0	0	0	0	100
Controle	91	0	0	0	78	78	14,29

Considerando valores de mortalidade corrigidos pela fórmula de Abbott, foram obtidos os seguintes valores (Tabela 5):

Tabela 5: Mortalidade no Teste 1 por Grupos de tratamento, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 28 dias após tratamento, com a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.

Tratamento	N inicial	Larvas L3	Larvas L4	Pupas	Alados	Total vivas	% mortalidade corrigida
Bti 10 mg	79	0	37	9	9	55	18,78
Bti 20 mg	80	0	17	8	9	34	50,42
Espinosade 10 mg	89	0	0	0	0	0	100
Espinosade 20 mg	86	0	0	0	0	0	100
Controle	91	0	0	0	78	78	14,29

No Grupo Controle a mortalidade foi de 14,29% e nos tratamentos, com valores corrigidos segundo fórmula de Abbott, os valores de mortalidade foram de 18,78% para o tratamento com Bti 10 mg/g e de 50,42% para o tratamento com Bti 20 mg/g.

Nota-se que do início do experimento até a eclosão de todos os alados do grupo controle, para os tratamentos com Bti, houve atraso no desenvolvimento das larvas com 83,6% de imaturos no tratamento com 10 mg/g e 73,5% de imaturos no tratamento de 20 mg/g em relação ao total de indivíduos vivos em cada tratamento.

No 12º dia após o tratamento, no Grupo controle 93,4% já estavam na fase de pupa e houve a emersão do 1º alado neste Grupo. Enquanto no tratado com Bti 10 mg/g, neste mesmo dia, eram 2 pupas (2,5%) e no tratado com Bti 20 mg/g, 4 pupas (5%).

Considerando o período completo de emersão de todos os alados, os períodos (em dias) máximos, mínimos e medianos são apresentados na Tabela 6 e no gráfico da Figura 13:

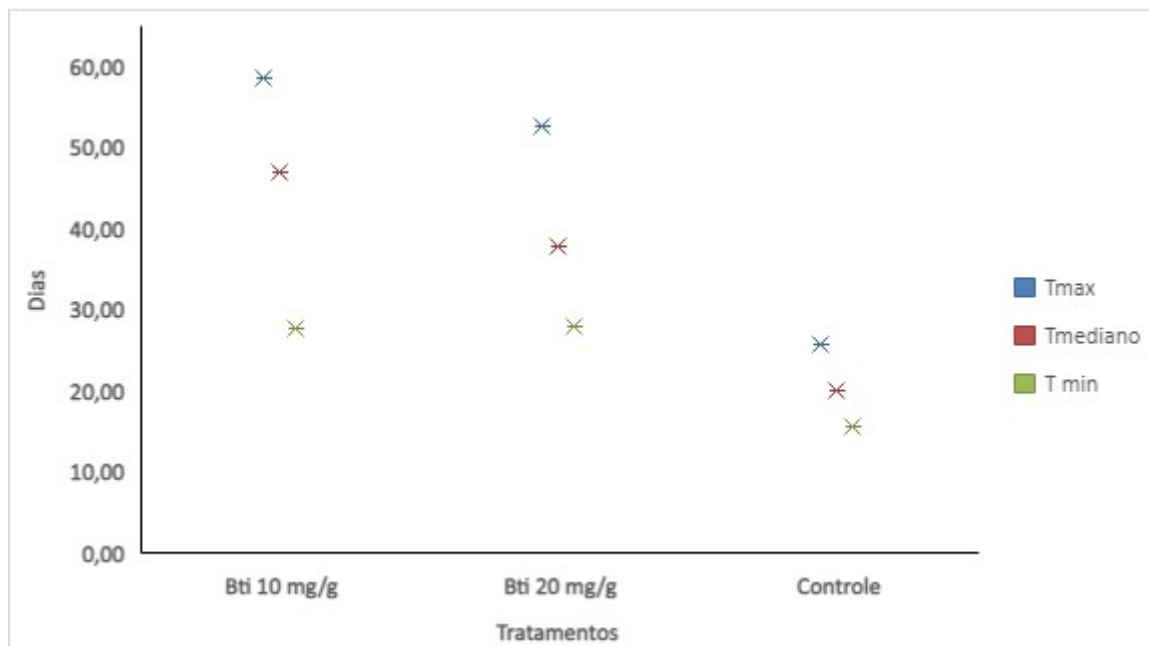
Tabela 6: Períodos entre o início do experimento e a emergência de alados (em dias) nos tratamentos com Bti a 10 mg/g, Bti a 20 mg/g e Controle por réplica, suas médias e desvio padrão por Grupo:

Tratamento	Réplica	T max	T mediano	T min
Bti 10 mg/g (GRUPO A)	A1	54	40	16
	A2	61	52	27
	A3	61	49	40
	Média Grupo A	58,67	47	27,67
	Desv Pad	4,04	6,24	12,01
Bti 20 mg/g (GRUPO B)	B1	56	47	45
	B2	57	29	19
	B3	45	38	20
	Média Grupo B	52,67	38	28
	Desv Pad	6,7	9,0	14,7
Controle (GRUPO E)	E1	23	21	19
	E2	27	20	12
	E3	27	19	16
	Média Grupo C	25,67	20	15,67
	Desv Pad	2,3	1,0	3,5

Desta tabela, observa-se que o tempo mínimo para a formação do primeiro alado foi 12 dias em uma das réplicas do Grupo Controle e intervalo máximo de 61 dias em duas réplicas do tratamento com Bti a 10 mg/g. Considerando os valores médios para cada tratamento, nota-se que o período mediano para o desenvolvimento de alados para aqueles com Bti foram aumentados em 2,35 vezes na dosagem de 10 mg/g e em 1,9 na dose de 20 mg/g em relação ao controle. Da mesma forma, os períodos máximo foi aumentado 2,3 e em 2 vezes respectivamente e os períodos mínimos 1,8 vezes maiores para os dois tratamentos em relação ao controle

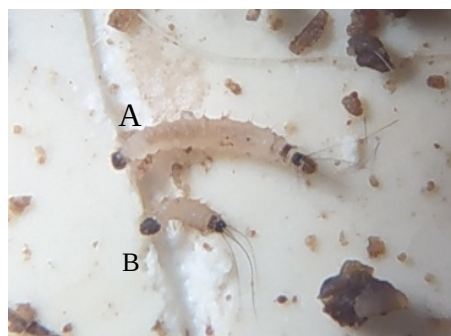
Nota-se também uma homogeneidade maior no grupo controle, com desvios padrão menores, enquanto que nos tratamentos com Bti, em especial na dose de 20 mg/g, houveram as maiores variações para todos os períodos entre as 3 réplicas.

Figura 13: Gráfico de tempo mínimo, máximo e mediano para emergência de alados por tratamento (Bti de 10 mg/g, 20 mg/g e Controle) na Teste 1, em dias:



Observou-se ainda que os indivíduos em fase de larvas considerados contaminados pelo produto, apresentavam tamanho reduzido, com cerca de metade do tamanho das larvas que se mantiveram vivas. Além disto, apresentavam coloração mais escura e movimentos mais lentos até o óbito (Figura 14).

Figura 14: Fotografia com uma larva do grupo controle (A) e uma tratada com Bti (B).



Considerando os resultados obtidos no primeiro teste nos grupos expostos ao composto Espinosade, foi realizado um segundo teste para estimar a concentração mínima para aplicação para produzir pelo menos 50% de mortalidade. Para isto foram realizadas diluições seriadas de 1:10, 1:20, 1:50 e 1:100 da concentração de 10 mg/g.

4.3 MORTALIDADE E PERÍODOS DE DESENVOLVIMENTO NOS TRATAMENTOS COM ESPINOSADE (TESTE 2):

Mortalidade no grupo Controle:

No grupo Controle, 90 larvas foram acompanhadas, das quais 88,3% atingiram a fase alada, com mortalidade de 11,7%. Neste grupo o total dos indivíduos alados emergiu 33 dias após o início do tratamento, período este considerado para a comparação do tempo de desenvolvimento dos imaturos entre os tratamentos.

Ao observar os resultados nas 3 réplicas do controle, os valores de mortalidade foram de 9,37% na placa CON1; 10,34% na placa CON2 e 15,15% para a placa CON3, com um desvio padrão de 3,09

Nos tratamentos, os valores foram os seguintes:

Espinosade diluição 1:10:

Nesta diluição, com concentração de 1,0 mg/g (Grupo W) foram expostas 90 larvas, divididas em 3 placas tratadas. Destas 67 morreram e 23 se mantiveram vivas 33 dias após o tratamento, sendo 34,8% em L4, 26,1% em pupa e 39,1% atingiram a fase alada. A mortalidade neste tratamento foi de 74,4%.

Na réplica W1 foram 22 mortes em um total de 31, ou 71% de mortalidade, sendo que neste momento foram observadas 4 larvas em L4 (44,4%), 2 pupas (22,2%) e 3 alados (33,3%). Na réplica W2, 21 mortes em um total de 29, com mortalidade de 72,4%. Das sobreviventes, observou-se a presença de 3 larvas em L4 (37,5%), 2 pupas (25%) e 3 alados (37,5%) e na réplica W3, 24 mortes em 30 iniciais, com a mortalidade de 80%. Das sobreviventes, estavam 1 larvas em L4

(16,7%), 23 pupas (33,4%) e 3 alados (50%). O desvio padrão das mortalidades em cada placa em relação à média do grupo foi de 4,85.

Espinosade diluição 1:20:

Nesta diluição, com concentração 0,5 mg/g (Grupo X), foram expostas 88 larvas, das quais 62 morreram. Das 26 que sobreviveram, 11 permaneceram em L4 (42,3%), 6 em pupas (23,1%) e 9 atingiram a fase alada (34,6%). A mortalidade foi estimada em 70,45%.

Entre as réplicas deste tratamento, na X1 foram 26 mortes em um total de 30 (62,1% de mortalidade). Das 4 sobreviventes, eram 4 como larvas L4 (36,4%), 4 em pupas (36,4%) e 3 alados (27,3%). Na réplica X2, foram 26 mortes de 30 larvas iniciais (86,7% de mortalidade). Das 4 sobreviventes, todas eram alados, sem pupas ou larvas. Na réplica X3, registraram-se 18 mortes de 29 larvas iniciais (62,1% de mortalidade) e das sobreviventes, 7 eram larvas em L4 (63,7%), 2 pupas (18,2%) e 2 alados (18,2%). O desvio padrão das mortalidades neste tratamento foi de 14,20.

Espinosade diluição 1:50 :

Para esta diluição, com concentração de 0,2 mg/g (Grupo Y), era um total de 96 larvas iniciais, das quais 13 morreram (mortalidade de 13,5%). Das 83 sobreviventes, todas se desenvolveram até atingir a fase alada.

Nas réplicas, a Y1 foram 29 alados de 33 larvas iniciais (12,1% de mortalidade). Na réplica Y2, eram 27 alados de 31 larvas (12,9% de mortalidade) e na Y3, 27 alados de 32 larvas (15,6% de mortalidade) com desvio padrão de 1,84.

Espinosade diluição 1:100:

Neste Grupo W, com concentração de 0,1 mg/g, de um total de 93 larvas iniciais, foram 12 mortes (mortalidade de 12,9%). Entre as sobreviventes, 2 eram pupas (2,5%) e 79 chegaram a fase alada (97,5%).

Entre as réplicas, na Z1 das 30 larvas iniciais, 27 se mantiveram vivas (mortalidade de 10 %), sendo 1 pupa (3,7%) e 26 alados (96,3%). Na Z2, foram 5 mortes de 32 larvas iniciais, sendo 1 pupa (3,7%) e 26 alados (96,3%) e na Z3, de 31 larvas iniciais, foram 27 alados sem a presença de larvas ou pupas (mortalidade de 12,9%).

O resumo das mortalidades por tratamento e das quantidades em diferentes fases do desenvolvimento, estão apresentados da tabela 7:

Tabela 7: Mortalidade no Teste 2 por Grupos de tratamento com Espinosade, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 33 dias após tratamento.

Tratamento	N inicial	Larvas L3	Larvas L4	Pupas	Alados	Total vivas	% mortalidade
1:10	90	0	8	6	9	23	74,44
1:20	88	0	11	6	9	26	70,45
1:50	96	0	0	0	83	83	13,54
1:100	93	0	0	2	79	81	12,90
Controle	94	0	0	0	83	83	11,70

Considerando os valores corrigidos pela fórmula de Abbott, temos os seguintes valores apresentados na Tabela 8

Tabela 8: Mortalidade no Teste 2 por Grupos de tratamento com Espinosade, com as respectivas quantidades por estágio de desenvolvimento 33 dias após tratamento, com a mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott.

Tratamento	N inicial	Larvas L3	Larvas L4	Pupas	Alados	Total vivas	% mortalidade corrigida
1:10	79	0	8	6	9	23	71,06
1:20	80	0	11	6	9	26	66,54
1:50	89	0	0	0	83	83	2,08
1:100	86	0	0	2	79	81	1,36
Controle	91	0	0	0	83	83	-

Tempo de desenvolvimento:

No momento em que emergiu o primeiro alado no grupo Controle, 89,3% dos sobreviventes já se encontravam como pupa neste mesmo grupo e nos 5 dias seguintes, houve a emergência de 55 % dos alados. O tempo mediano para a emergência dos alados foi de 22 dias desde o início do ensaio, evidenciando a característica explosiva na emergência de formas adultas. Na média deste Grupo, o tempo máximo de desenvolvimento foi de 30,67 dias e o mínimo de 18,3 dias.

Por outro lado, nota-se um atraso, em especial nas duas menores diluições desta parte dos ensaios (1:10 e 1:20), com tempo para emergência da mediana de 27 e

29 dias respectivamente. Este valor mediano na diluição de 1:20 corresponde a 1,32 vezes maior que o tempo mediano no controle. Os períodos máximos também foram estendidos para 38 e 36,3 dias e os mínimos para 23,6 e 24 dias, respectivamente.

No entanto, nos 2 tratamentos de maiores diluições, com 1:50 e 1:100, não foram observadas variações significativas nestes períodos, com um intervalo de 23 dias desde o início do experimento para a emergência da mediana dos alados para ambos os tratamentos.

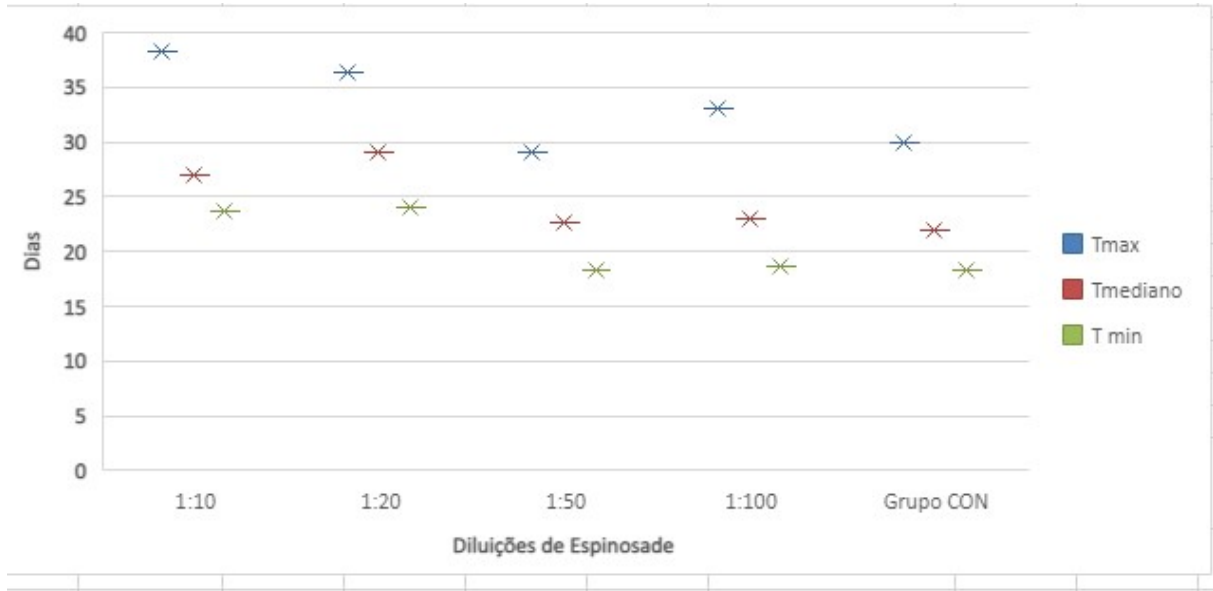
Esses valores dos períodos de desenvolvimento dos sobreviventes estão apresentados na Tabela 9:

Tabela 9: Períodos de emergência de alados nos tratamentos com Espinosade e Controle por réplica no Teste 2 do experimento, com as médias e desvios padrão por Grupo de tratamento por dia:

Diluição	Réplica	T max	T mediano	T min
1:10	W1	38	30	26
	W2	38	28	24
	W3	39	22	21
	Média Grupo W	38,33	27	23,67
	Desv Pad	0,58	4,16	2,52
1:20	X1	38	27	21
	X2	30	26	21
	X3	41	34	30
	Média Grupo X	36,33	29	24
1:50	Desv Pad	5,7	4,4	5,2
	Y1	30	23	17
	Y2	26	21	17
	Y3	31	24	21
1:100	Média Grupo Y	29,00	23	18,33
	Desv Pad	2,6	1,5	2,3
	Z1	36	23	18
	Z2	35	23	19
	Z3	28	22	19
Controle	Média Grupo Z	33,00	23	18,67
	Desv Pad	4,4	0,6	0,6
	CON1	33	22	18
	CON2	30	22	18
	CON3	29	22	19
	Média Grupo CONT	30,67	22	18,33
	Desv Pad	2,1	0,0	0,6

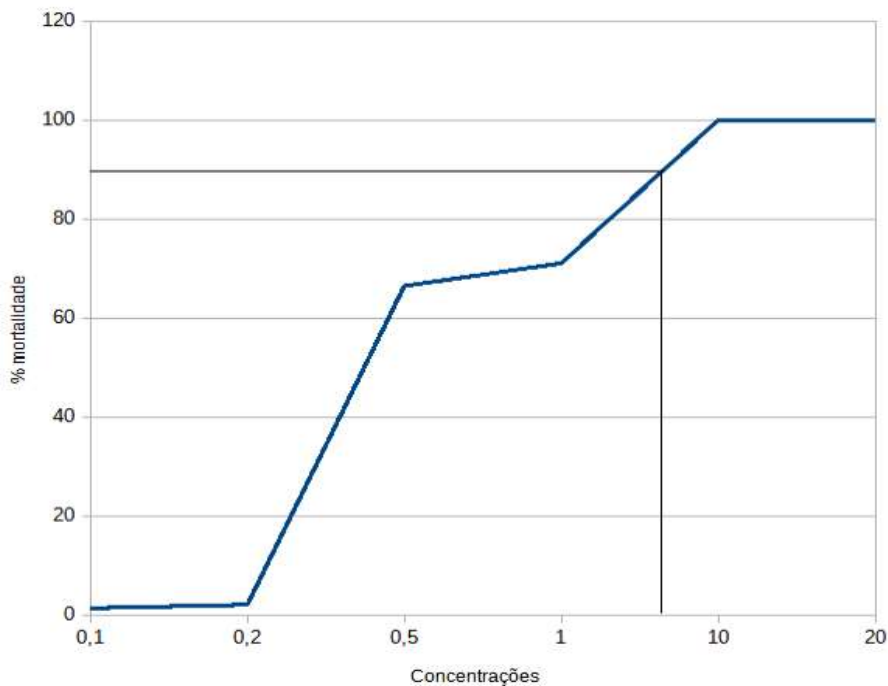
Considerando somente os valores médios dos tratamentos, temos o seguinte gráfico dos intervalos máximos, medianos e mínimos para a eclosão de alados apresentado na Figura 15.

Figura 15: Gráfico de tempo mínimo, máximo e mediano para emergência de alados por tratamento com Espinosade e Controle na parte 2 do experimento, em dias:



Com os resultados do Espinosade nas duas partes no ensaio, temos o gráfico com a curva de dose-resposta apresentado na Figura 16:

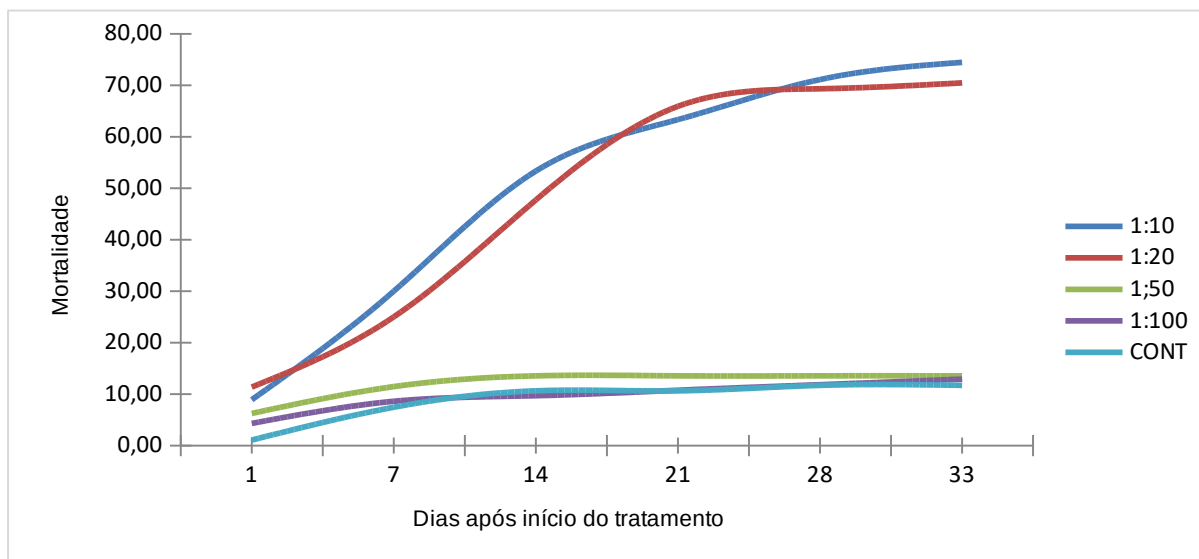
Figura 16: Gráfico de dose-resposta de Espinosade, nas concentrações de 20 mg/g, 10 mg/g, 1 mg/g, 0,5mg/g, 0,2 mg/g e 0,1 mg/g. Linha preta representa o valor estimado para DL 90:



Deste gráfico, pode-se observar que as menores concentrações testadas, de 0,1 mg/g (diluição de 1:100) e 0,2 mg/g (diluição de 1:50), atingiram mortalidades corrigidas (descontadas a mortalidade do controle) próximas à zero, enquanto que as concentrações de 0,5 mg/g (diluição de 1:20) e 1,0 mg/g (diluição de 1:10) obtiveram valores intermediários e nas concentrações de 10 mg/g e 20 mg/g a mortalidade foi de 100%. Gráficamente (linha preta), estima-se que a concentração para alcançar a DL 90, seria um valor entorno de 6,3 mg/g.

Considerando a mortalidade por tratamento no Teste 2, no decorrer dos dias após início do tratamento, temos o seguinte gráfico (Figura 17):

Figura 17: Gráfico de mortalidade por dia após o início do experimento nos tratamentos com diluições de Espinosade:



Deste gráfico, observa-se a inclinação acentuada das curvas nos primeiros dias após o início do experimento para todos os tratamentos, mas que para o Controle e as maiores diluições (1:100 e 1:50) há uma estabilização por volta de 7 dias. Já para as menores diluições (1:20 e 1:10) esta inclinação mantém-se até o 21º dia, apontando uma maior mortalidade final nestes tratamentos.

5. DISCUSSÃO

Nos experimentos realizados observou-se que para o Bti, os resultados de mortalidades foram inferiores ao descritos em estudos anteriores, realizados por Wermelinger (2000) e Carvalho et al. (2007), onde as mortalidades foram de $81,2\% \pm 14,93$ e de $62,5\% \pm 14,2$ respectivamente. No presente estudo, a mortalidade foi de $57,52\% \pm 16,9$ no Grupo B (tratamento com 20 mg/g) até o momento da emergência de alados de todas as pupas formadas no controle. Esta diferença nos resultados de mortalidade com Bti pode estar relacionada à formulação comercial utilizada neste presente estudo, à Cepa de Bti utilizada e ao fato da aplicação deste estudo ter sido sobre o substrato, simulando uma aplicação em campo, e não homogeneizado com o substrato como nos referidos trabalhos.

O atraso no desenvolvimento das larvas destes tratamentos com Bti coincide com o descrito por Wermelinger (2000), porém este autor o cita sem quantificar estes valores. Para Carvalho (2007) este atraso foi descrito, sendo o período no Grupo Controle de $19,9 \pm 1,8$ dias (neste presente trabalho foi de 20 ± 1 dias) e para o Grupo tratado com Bti de $26,1 \pm 2,7$ dias, enquanto nesta análise o valor foi de $47 \pm 6,24$ dias. Este atraso também ocorre com o uso de diferentes subtipos de *Bacillus thuringiensis* para o controle de larvas de Lepidópteros (PEREIRA, 2012) e Coleópteros (CÍCERO, 2009), em que também houve diminuição no desenvolvimento larval. Estes autores atribuem este atraso a possíveis efeitos de doses sub letais dos cristais proteicos do Bt que causam deficiências nutricionais nas larvas expostas e prejudicam seu desenvolvimento.

Outros possíveis efeitos do uso do Bti seriam na incubação dos ovos e de adultos expostos aos tratamentos. Robert et al. (1998) testaram o efeito de *Bacillus sphaericus* na eclosão de ovos de *Phlebotomus dubosqui* e *Sergentomyia schkeitzi* e concluíram que as doses desta substância para inibir a eclosão de 95% dos ovos destas espécies seriam menores que $0,11 \text{ mg/cm}^2$. Para Wahba et al. (1999), em testes de Bti com *Phlebotomus papatasi*, observou-se efeitos não somente sobre a eclosão de ovos, a mortalidade de larvas, a extensão dos períodos de desenvolvimento, mas também que os adultos emergidos dos tratamentos, tiveram uma sobrevivência menor em relação ao controle, além de dificuldades no repasto sanguíneo e na oviposição, podendo interferir na transmissão de *Leishmania*.

Dada a dificuldade de localização precisa dos locais de desenvolvimento de formas imaturas de flebotomíneos, outra possibilidade de controle seria o uso de fontes de carboidratos tratados com Bti. Leon et al (1997) demonstraram o efeito desta técnica, utilizando iscas com soluções açucaradas tratadas com *Bacillus sphaericus*, como fontes energéticas à alados que, em condições laboratoriais, foram colocados nos locais de desenvolvimento de formas imaturas, causando a mortalidade de 38% das larvas.

Para o Espinosade, a mortalidade inicial observada foi de 100% das larvas tratadas nas concentrações de 10 mg e 20 mg por grama de alimento. Isto pode representar uma overdose, principalmente quando comparado aos resultados obtidos em testes realizados com *Culex quinquefasciatus*, cujas doses para alcançar de 80 a 100% de mortalidade foi de 25 mg do princípio ativo por m² e para *Anopheles gambiae* cuja mortalidade de 95,5 a 98% foi alcançada com a dose foi de 2 mg de princípio ativo/m² (WHO, 2011)

Por serem grupos distintos de Dípteros, com desenvolvimento das formas imaturas em ambientes diferentes, sendo para Culicídeos em ambientes aquáticos e de Flebotomíneos em ambiente terrestre, a comparação direta fica prejudicada. Mas indica que a quantidade de Espinosade necessária para atingir a DL 90 pode ser menor. Devido a estes resultados iniciais, o ensaio foi repetido em diluições da menor dose testada anteriormente (10 mg/g) com objetivo de aferir a mortalidade em menores concentrações,

Os resultados apontaram que para as diluições de 1:100 e 1:50, não houveram variações expressivas em relação ao controle. As mortalidades alcançadas foram de 12,9% e 13,5%, respectivamente, e de 11,7% no grupo controle. Para os períodos de desenvolvimento, o tempo mediano para eclosão dos alados foi de 23 dias para ambos os tratamentos e de 22 dias para o controle.

Todavia, para a diluição de 1:10, a mortalidade corrigida (descontada a mortalidade do Grupo Controle) foi de 71,4% e, da mesma forma, na diluição de 1:20, a mortalidade foi de 66,54%. Estes valores indicam que a concentração para atingir a DL90 estaria entre 1 mg/g e 10 mg/g e, graficamente é possível estimar a concentração para atingir esta letalidade em 6,3 mg/g.

Destaca-se também, que em altas concentrações, a rápida ação desta substância com o total de mortalidade alcançado nas primeiras 12 horas após a

oferta dos alimentos tratados. Isto reforça a possibilidade de uso em campo, dado a foto degradação e baixo poder residual da formulação utilizada.

No caso das menores concentrações, a aplicação em campo ficaria prejudicada, pois, segundo informações do fabricante do produto a base de Espinosade, o período de meia vida é de 24 horas em ambientes abertos, período este que provavelmente impeça atingir a dose letal. Outra limitação deste estudo é a forma de aplicação das soluções com as substâncias testadas, feitas com borrifadores que possuem seu leque em forma de cone, com uma maior deposição das soluções nas bordas do recipiente e, com isto, dificultando a deposição uniforme das soluções no substrato.

6. CONCLUSÕES

Considerando os objetivos deste estudo, verifica-se que os produtos testados tiveram efeito na mortalidade de formas imaturas de *Lutzomyia longipalpis*, causando a mortalidade de mais de 50% na maior concentração testada com Bti e de 100% de mortalidade com o Espinosade nas duas maiores concentrações.

Para o Bti, apesar destes valores de mortalidade, o tempo de desenvolvimento das formas imaturas até a fase alada que não atingiram a dose letal, foi estendido em 2,35 vezes. Para o Espinosade, na mesma condição, este valor foi de 1,32 vezes maior comparado às unidades que não foram expostos a nenhuma substância testada. Estes incrementos no tempo de desenvolvimento podem influir negativamente na transmissão de patógenos transmitidos por vetores, dado ao atraso na alimentação, reprodução e, por conseqüência, ao impacto na dinâmica populacional destes agentes transmissores (STRAUSS, 2020).

Assim, conclui-se que os produtos testados, em especial o Espinosade, apresentam resultados satisfatórios no controle de *Lutzomyia longipalpis*, podendo ser utilizado como forma complementar as demais formas de controle já instituídas nos programas de controle das doenças veiculadas por este vetor, como ferramenta adicional ao controle integrado de pragas. Principalmente, considerando que o controle vetorial pode representar soluções preventivas à transmissão de LV e uso de bioinseticidas representam áreas de estudos que devem ser incentivadas e desenvolvidas (AMORA et al, 2009). No mais, estudos futuros ainda devem ser realizados para validação dos testes laboratoriais, avaliação de melhores concentrações, formas de aplicação diretamente em campo e avaliação de seu impacto em populações naturais, dada a dificuldade em se localizar precisamente os locais de desenvolvimento das formas imaturas de flebotomíneos, além de avaliações quanto a possíveis efeitos na longevidade, fecundidade e infectividade à *Leishmania* de indivíduos que chegaram na fase adulta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, B; MAROLI, M. Control of phlebotomine sand flies. *Medical and Veterinary Entomology*; 17, p 1-18, 2003.

AMORA, S. S. A.; SANTOS, M. J. P.; ALVES, N. D.; GONÇALVES DA COSTA, S. C.; CALABRESE, K. S.; MONTEIRO, A. J.; ROCHA, M. F. G. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 1854-1859, 2006.

AMORA, S.S.A; BEVILAQUA, C.M.L; FEIJO, F.M.C; ALVES, N.D; MACIEL, M.V. Control of Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) Leishmaniasis Vectors. *Neotropical Entomology* 38(3). 303-310, 2009.

BACCI, L; LUPI, D; SAVOLDELLI, S; ROSSARO, B. A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. *Journal of Entomological and Acarological Research*; volume 48:5653, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 1. ed., 5. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 120 p.: il. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 189 p. : il., 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde : volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3ª. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019.

CAMARGO-NEVES, V.L.F; CALEMES, E.B; RODAS, L.A.C; GALVIS-OVALLOS, F; SILVA, L.J; Controlo f Canine Visceral Leishmaniasis: a Sucess Case Based on Deltamethrin 4% Collars. *Epidemiologia*, 2, 502–518. <https://doi.org/10.3390/epidemiologia2040035>, 2021.

CARRARO, Avaliação de eficiência do Novaluron e do Spinosad para o controle de larvas de *Culex quinquefasciatus* na água do Rio Pinheiros de São Paulo, 2017.

CARVALHO, R.C.; et al. Comparison between highly toxic *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* and *Bacillus sphaericus* strains against *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva 1912 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) larvae. *Neotrop. Biol. Conserv*; 2:80-83, 2007.

CARVALHO, M.R.; VALENÇA, H.F.; SILVA, F.J.; PITA_PEREIRA, D.; PEREIRA, T.A.; BRITTO, C.; BRAZIL, R.P.; BRANDÃO FILHO, S.P. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil, *Acta Tropica*, v.116, n.1, p.108-110, Oct. 2010.

CASANOVA, C.A soil emergence trap for collections of Phlebotomine Sand Flies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol 96 (2): 273-275, 2001

CASANOVA C; ANDRIGHETTI M.T.M; SAMPAIO S.M.P; MARCORIS M.L.G; COLLA-JAQUES F.E. Larval Breeding Sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Visceral Leishmaniasis Endemic Urban Areas in Southeastern Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 7(9): e2443. doi:10.1371/journal.pntd.0002443, 2013.

CASANOVA, C; MOTOIE, G. DOMINGOS, M.F. SILVA, V.G; SILVA, M.D; GALATI, E.A.B; GALVIS-OVALLOS, F. The transmission of visceral leishmaniasis in the municipality of Guarujá, on the Coast of São Paulo state, Brazil. *Rev. Saúde Pública* 56:1, 2022.

CHOWDHURY, R. et al. Effect of insecticide-treated bed nets on visceral leishmaniasis incidence in Bangladesh. A retrospective cohort analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases* | <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007724> September 16, 2019.

CICERO, E.A.S. Caracterização Molecular e seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* com potencial inseticida para *Sphenophorus levis*. Tese (Doutorado) universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2001

CISNEROS, J; GOULSON, D; DERWENT, L. C; PENAGOS, D. I; HERNADEZ, O; WILLIAMS, T. Toxic effects of Spinosad on predatory insects. *Biological Control* 23,156 –163, 2002.

COSTA, C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 44(2):232-242, mar-abr, 2011.

COURA-VITAL W, LEAL GGdA, MARQUES LA, PINHEIRO AdC, CARNEIRO M, REIS AB. Effectiveness of deltamethrin-impregnated dog collars on the incidence of canine infection by *Leishmaniainfantum*: A large scale intervention study in an endemic area in Brazil. *PLoS ONE* 13 (12): e0208613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208613>, 2018.

CRANE, D.M., LAMERE, C.A., MOON, R.D., MANWEILER, S.A. Efficacy and non-target effects of Sponosad-Based larvicide in Minnesota vernal pools and cattail marshes. *Journl of the American Control Association*, 37(3): 125-131, 2021.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. Alexandre Vranjac - <http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre->

[vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-visceral/dados-estatisticos](#)

<acessado em: 25/08/2021>

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 27 p. 305–318, 2004.

FELINCIANGELI, M.D. Natural breeding places of phlebotomine sand flies. *MedVet Entomol*; 18: 71–80, 2004.

FINKLER, C.L.L. Controle de insetos: uma breve revisão. *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife*, vols. 8 e 9, p.169-189, 2012.

FONSECA, O.L.E.; MACORIS, M.L.G.; SANTOS, R.F.; MORATO, D.G.; ISABEL, M.D.S.S.; CERQUEIRA, N.A.; MONTE-ALEGRE, A.F. Estudo experimental sobre a ação de larvicidas em pop de *Aedes aegypti* do município de itabuna, bahia, em condições simuladas de campo, *Epidemiol. Serv. Saude, Brasília*, 28(1):e2017316, 2019.

GALVIS-OVALLOS F. Estudo da capacidade vetorial de *Migonemyia migonei* e *Pintomyia fischeri* para *Leishmania infantum chagasi*. Tese mestrado FSP/USP, 2011.

GALVIS-OVALLOS, F; DA SILVA, BISPO GBDS, DE OLIVEIRA AG, NETO JRG, MALAFRONTA RDS e GALATI EAB. Leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Paulo: *Pintomyia fischeri* como vetor potencial de *Leishmania infantum* . *Parasita* 24 , 2, 2017.

GALVIS-OVALLOS, F; SILVA, R. A; SILVA, V. G; SABIO, P. B; GALATI, E. A. B; Leishmanioses no Brasil: aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. *Atualidades e, medicina tropical no Brasil: protozoários*, 2020.

HIRAMOTO, R.M; OLIVEIRA, S.S; RANGEL, O; HENRIQUES, L.F; TANIGUCHI, H.H; BARBOSA, J.E.R; CASANOVA, C; VIVIANE JUNIOR, A; SAMPAIO, S.M.P; SPINOLA, R; REHDER, S; LINOSO, J.A.L; TOLEZANO, J.E. Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. *BEPA16(182):11-3*, 2019.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. *Rev Pan-AmazSaude*; 1(2):13-32, 2010.

LEON, L; PERICH, M.J; SCHLEIN, Y; JACOBSON, R.L; WIRTZ, R.A; LAWYER, P.G; GITHURE, J. Phlebotomine sand fly control using bait-fed adults to carry the larvicide *Bacillus sphaericus* to the larval habitat. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(2): 140-144, 1997.

MADEIRA, M.F; LEAL, C.A; SILVA, R.M.M; DUARTE, R; MAGALHAES, C.M; SERRA, C.M.B. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36(5): 551-555, 2003.

MARTINS, K.A; MEIRELLES, M.H.A; MOTA, T.F; ABBASI, I; QUEIROZ, A.T.L; BRODSKYN, C.I; VERAS, P.S.T; FRAGA, D.B.M; WARBURG, A.) Effects of larval rearing substrates on some life-table parameters of *Lutzomyia longipalpis* sand flies. PLoS Negl Trop Dis 15(1): e0009034. [https:// doi.org/10.1371/journal.pntd.0009034](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009034), 2021.

MAYES, M. A; THOMPSON, G. D; HUSBAND, B; MILES, M. M. Spinosad Toxicity to pollinators and associated risk. Rev Environ Contam Toxicol 179:37 – 71, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. Informações de Saúde. Informações epidemiológicas e morbidade. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br>>, acesso em 15/05/2021.

MISSAWA N.A.; VELOSO M.A.E.; MACIEL G.B.M.L.; MICHALSKY E.M.; DIAS E.S. Evidence of transmission of visceral leishmaniasis by *Lutzomyia cruzi* in the municipality of Jaciara, State of Mato Grosso, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 44:76-8, 2011.

MONDAL, D.; HUDA, M. M; KARMOKER, M. K; GHOSH, D; MATLASHEWSKI, G; NABI, S. G; KROEGER, A. Reducing Visceral Leishmaniasis by Insecticide Impregnation of Bed-Nets, Bangladesh. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 19, No. 7, July 2013.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis em las Americas. Washington, D.C.: OPAS; 2019.

PEREIRA, J. Eficácia de *Bacillus thuringiensis* no controle de *Grapholita molesta* (Busck, 1916) e *Bonogata salubricola* (Meyrick, 1937) (LEPIDÓPTERA: TORTRICIDAE) e identificação de biótipo por meio de bioensaio e infravermelho próximo. Tese mestrado UFPR. 2012 Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/27678/R%20-%20D%20-%20PEREIRA%2C%20JONATHAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y> acessado em 12/06/2022

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S. B. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. Rev Saúde Pública. 37(6):813-6, 2003.

RANGEL, O. Reflexões sobre cenários, vigilância epidemiológica e controle da transmissão de leishmaniose visceral no estado de São Paulo. Rev.Inst Adolfo Lutz. São Paulo; 77:e1754, 2018.

REGO, F.D.; SOUZA, G.D.; MIRANDA, J.B.; PEIXOTO, L.V; ANDRADE-FILHO, J.D. Potential vectors of *Leishmania* parasites in a recent focus of Visceral Leishmaniasis in neighborhoods of Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. J Med Entomol. 57(4): 1286-1292, 2020.

RIBAS, L.M.; ZAHER, V.L.; SHIMOZAKO, H.J.; MASSAD, E. Estimating the optimal control of Zoonotic Visceral Leishmaniasis by the use of Mathematical Model. Hindawi Publishing Corporation. The Scientific World Journal. 2013.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Secretaria da Saúde. Nota técnica conjunta Nº 01/2014 – CEVS – IPB-LACEN – SES/RS Leishmaniose Visceral no Estado do Rio Grande do Sul, 2014.

ROBERT, L.L.; PERICH, M.J.; SCHLEIN, Y.; JACOBSON, J.L. *Bacillus sphaericus* inhibits hatching of Phlebotomine sand fly eggs. Journal of the American Mosquito Control Association, 14(3):351-352, 1998

SADANANDANE, C., GUNASEKARAN, K., DOSS, P.S.B., JAMBULINGAN, P. Field evaluation of the Biolarvicide, spinosad 20 per cent suspension concentration formulation against *Culex quinquefasciatus*, vector of Bancroftian filariasis in India. Indian J Med Res, 147, pp 32-40 DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_1369_15, January 2018.

SALGADO, V. L. Studies on the Mode of Action of Spinosad: Insect Symptoms and Physiological Correlates. Pesticide biochemistry and physiology 60, 91-102, 1998.

SALOMON, O.D; FELICIANGELI, M.D; QUINTANA, M.G; AFONSO, M.M.S; RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 110(7): 831-846, November 2015.

SANTA CATARINA. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Vigilância em Saúde. Gerência de Vigilância de Zoonoses e Entomologia. Guia de Orientação. Vigilância da Leishmaniose Visceral Canina (LVC), 2018.

SANTOS, E. F. M.; Bionomia de *Migonomyia migonei* (DIPTERA, PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE) em condições experimentais. Tese de Mestrado. FIOCRUZ, 2019

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde, Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) e Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD). Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo / Coordenação Vera Lucia Fonseca de Camargo-Neves - São Paulo: A Secretaria, 2006.

SEVÁ, OS; GALVIS-OVALLOS, F; AMAKU, M; CARRILLO, E; MORENO, J; GALATI, EAB; LOPES, EG; SOARES, RM; FERREIRA, F. Canine-Based Strategies for Prevention and Control of Visceral Leishmaniasis in Brazil. PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0160058 July 29, 2016.

SHAW, J.; ROSA, A.T.; SOUZA, A. & CRUZ, A.C. Transmissão de outros agentes: os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In: RANGEL, E.F. & LAINSON, R. (Orgs.). Flebotomíneos do Brasil. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. p. 337-351, 2003.

SILVA, E. L. Avaliação da susceptibilidade e resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) ao inseticida Natular™ (Espinodade) e aos inseticidas

Temephos, Malathion e Alfacipermetrina utilizados nos municípios de Maracaju, Dourados e Naviraí, Dourados, MS : UFGD, 54 f., 2012.

SILVA, R. A.; SANTOS, F. K. M.; SOUZA, L. C.; RANGEL, E. F, BEVILAQUA, C. M. L. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in na endemic area for visceral leishmaniasis Braz. J. Vet. Parasitol., Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 320-327, jul.-set. 2014.

SILVA, R. A. et al. Effectiveness of dog collars impregnated with 4% deltamethrin in controlling visceral leishmaniasis in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 113(5): e170377, 2018.

STRAUSS, A.T; HENNING, J.A; PORATH-KRAUSE, A; ASMUS, A.L; SHAW, A.K; BORER, E.T; SEABLOOM, E.W. Vector demography, dispersal and the spread of disease: Experimental epidemics under elevated resource supply. *British Ecological Society. Functional Ecology*, 34:2560–2570, 2020.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle de insetos. *Quim. Nova*, Vol. 26, No. 3, 390-400, 2003.

WAHBA, M.M.; LABIB, I.M.; HAMSHARY, E.M. *Bacillus thuringiensis var israelensis* as a microbial control agent against adult and immature stages of sand fly, *Phlebotomus papatasi* inder laboratory conditions. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, Vol. 29(2), 1999.

WERMELINGER ED, ZANUNCIO JC, RANGEL EF, CECON PR, RABINOVITCH L. Toxicity of *Bacillus* Species to Larvae of *Lutzomyia longipalpis* (L. & N.) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *An. Soc. Entomol. Brasil*29(3): 609-614, 2000.

WERNECK, G. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 26(4):644-645, abr., 2010.

WILLIAMS, T; VALLE, J; VINUELA, E. Is the Naturally Derived Insecticide Spinosad Compatible with Insect Natural Enemies? *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 13, No. 5, 459/475, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Microbial Pest Control Agent. *Bacillus thuringiensis*. Geneva, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION Pesticide Evaluation Scheme. Working Group. Meeting, Geneva, Switzerland, 14th, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Handbook for integrated vector management, 2012.

WORLD HEATH ORGANIZATION. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum. Geneva: World Health Organization; 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Leishmania Report 2013. Geneva, 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Weekly epidemiological report. Global leishmaniasis surveillance, 2017-2018, and first report on 5 additional indicators. N. 25, 2020.

XIMENES, M.F.F.M; SILVA, V.P.M; QUEIROZ, P.V.S; REGO, M.M; CORTEZ, A.M; BATISTA, L.M.M; MEDEIROS, A.S; JERONIMO, S.M.B. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil - Reflexos do Ambiente Antrópico. Neotropical Entomology 36(1): 128-137, 2007.

9. CURRÍCULO LATTES



João Ricardo Pereira Ennser


Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/4148400645053848>

ID Lattes: **4148400645053848**

Última atualização do currículo em 04/02/2021

Possui graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura e Bacharel pela Universidade Estadual Paulista (2005), atuando principalmente nos seguintes temas: Saúde Pública, controle de vetores de doenças, apoio técnico às equipes de campo, vistorias zoonosárias, utilização de pesticidas, Programa de Gerenciamento de Resíduos Sólidos em Saúde, revisão de protocolos de atendimentos, elaboração de material educativo, realização de palestras/eventos e treinamentos. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	João Ricardo Pereira Ennser
Nome em citações bibliográficas	ENNSER, J. R. P.
Lattes ID	 http://lattes.cnpq.br/4148400645053848

Endereço

Endereço Profissional	Prefeitura Municipal de Sorocaba, Divisão de Zoonoses/SES/PMS. Rua Naim, 57 Jardim Betânia 18061000 - Sorocaba, SP - Brasil Telefone: (15) 32297300 Ramal: 7335
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2020	Mestrado profissional em andamento em Entomologia em Saúde Pública (Concurso CAPES 4). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Avaliação do efeito dos compostos biológicos <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> e <i>Spinosad</i> no controle de <i>Lutzomyia longipalpis</i> (Diptera: Psychodidae) sob condições de laboratório. Ano de Obtenção: . Orientador: Fredy Galvis Ovallos.
2001 - 2005	Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista - Rio Claro, UNESP, Brasil. Título: Comparação da anurofauna de um fragmento de Floresta Estacional Semidescidual e áreas abertas alteradas no seu entorno no Município de Rio Claro, Estado de São Paulo.. Orientador: Prof. Dr. Célio Fernando Baptista Haddad.

Formação Complementar

2019 - 2019	Treinamento teórico e prático sobre a atividade de bloqueio nebulização. (Carga horária: 6h). Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN, Brasil.
2019 - 2019	Capacitação em Análise de Sistemas de Informação. (Carga horária: 16h). Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN, Brasil.
2019 - 2019	Treinamento teórico e prático sobre pulverização de inseticidas. (Carga horária: 6h). Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN, Brasil.
2012 - 2012	Identificação de Flebotomíneos - Atividades teóricas e práticas sobre triag. (Carga horária: 80h). Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN, Brasil.
2008 - 2008	Identificação de Identificação de Culicídeos de importância médica. (Carga horária: 40h). Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN, Brasil.

Atuação Profissional



Fredy Galvis Ovallos

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/0162420844956315>

ID Lattes: **0162420844956315**

Última atualização do currículo em 14/09/2022

Graduado em Biologia na Universidade de Pamplona, Colômbia (2007). Mestrado (bolsista PEC-PG do CNPq) e Doutorado (bolsista FAPESP) em Ciências pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP). Realizou estágio de pesquisa na Faculté de Pharmacie/Université de Reims-Champagne Ardene (França). Experiência em Ecologia de vetores e Epidemiologia de doenças transmitidas por vetores. Experiência em taxonomia de Phlebotominae e estudos sobre a capacidade vetorial e estudos eco-epidemiológicos de doenças transmitidas por vetores. Tem participado como assessor temporário da OPAS na formação de recursos humanos na área da Entomologia médica e capacitações de agentes do SUS para a vigilância entomológica das leishmanioses. Tem experiência na condução de estudos e avaliação de tecnologias aplicadas ao controle das leishmanioses. Atua como Professor colaborador nas disciplinas de Bioestatística e Entomologia em Saúde Pública ministradas em cursos de graduação e Pós-graduação da Faculdade de Saúde Pública da USP. Atualmente é vinculado como Pós doutorando e orientador do Programa de Mestrado em Entomologia em Saúde Pública da FSP/USP e Mestrado e Doutorado do programa de Saúde Pública da FSP/USP. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Fredy Galvis Ovallos
Nome em citações bibliográficas	Galvis F. O.;Ovallos, Fredy Galvis;GALVIS OVALLOS, FREDY;OVALLOS, FREDY G.;GALVIS-OVALLOS, FREDY;GALVIS-OVALLOS, F.;GALVIS-OVALLOS, F.;OVALLOS, F. G.;GALVIS'OVALLOS, FREDY
Lattes ID	http://lattes.cnpq.br/0162420844956315
Orcid ID	https://orcid.org/0000-0002-2105-7941

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Faculdade de Saúde Pública Poaçambu 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617788
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2012 - 2016	Doutorado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Leishmanioses visceral americana: Avaliação dos parâmetros da capacidade vetorial de <i>Lutzomyia longipalpis</i> em área urbana no estado de São Paulo, Brasil., Ano de obtenção: 2016. Orientador: Eunice A.B. Galati. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
2009 - 2011	Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Estudo da competência vetorial de <i>Migonemyia migonei</i> (França) e de <i>Pintomyia fischeri</i> (Pinto) (Diptera: Psychodidae) para <i>Leishmania (Leishmania) infantum</i> chagasi Cunha & Chagas, Ano de Obtenção: 2011. Orientador: Eunice Aparecida Bianchi Galati. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Palavras-chave: Phlebotominae; Entomologia Médica. Grande área: Ciências Biológicas Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Ecologia / Subárea: Ecologia Aplicada / Especialidade: Ecologia de Vetores de enfermidades Humanas.