



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
DOUTORADO EM SAÚDE PÚBLICA

ROSÂNGELA MARIA RODRIGUES BARBOSA

Aperfeiçoamento e avaliação da armadilha de
oviposição BR-OVT para *Culex quinquefasciatus*
(Diptera: Culicidae)

RECIFE
2007

ROSÂNGELA MARIA RODRIGUES BARBOSA

**APERFEIÇOAMENTO E AVALIAÇÃO DA ARMADILHA DE OVIPOSIÇÃO
BR-OVT PARA *Culex quinquefasciatus* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
Stricto sensu do Centro de Pesquisa Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para a obtenção
do título de Doutor em Ciências.
Área de Concentração: Saúde Pública.

Orientador: Dra. Lêda Regis

**RECIFE
2007**

ROSÂNGELA MARIA RODRIGUES BARBOSA

**APERFEIÇOAMENTO E AVALIAÇÃO DA ARMADILHA DE OVIPOSIÇÃO
BR-OVT PARA *Culex quinquefasciatus* (DIPTERA: CULICIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
Stricto sensu do Centro de Pesquisa Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para a obtenção
do título de Doutor em Ciências.
Área de Concentração: Saúde Pública.

Aprovado em: 07/05/2007

BANCA EXAMINADORA

Orientador:

Dra. Lêda Regis
(Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ)

Examinadores:

Dr. Delsio Natal
(Universidade de São Paulo-USP)

Dr. Antonio Souto
(Universidade Federal de Pernambuco-UFPE)

Dr. André Freire Furtado
(Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ)

Dra. Maria Helena Neves L. Silva-Filha
(Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-FIOCRUZ)

**Dedico esse trabalho aos meus pais e aos meus
sobrinhos que acreditaram e depositaram
confiança, paciência e compreensão.**

AGRADECIMENTOS

À Dra. Lêda Regis pela orientação, pela credibilidade, pela paciência, pelos ensinamentos, pela amizade, e apoio durante a realização deste trabalho.

A todos os que fazem nossa equipe de campo, pela colaboração árdua em nosso trabalho.

A todos os que fazem parte do Departamento de Entomologia pela colaboração, compreensão durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Doutorado em Saúde Pública, na pessoa dos coordenadores, professores e servidores, pelo apoio à realização deste trabalho.

Ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM/FIOCRUZ, pela infra-estrutura que possibilitou a concretização deste trabalho.

A Sinara Batista, pela amizade, pelo estímulo e colaboração para realização deste trabalho.

Ao Centro de Vigilância Ambiental/ Secretária de Saúde do Recife, pelo apoio e colaboração para realização deste trabalho.

Aos Gestores do Distrito Sanitário V, pela colaboração e apoio ao desenvolvimento deste trabalho.

A todos os ASAs do Distrito Sanitário V que trabalharam diretamente em nossa pesquisa, pela colaboração para realização deste trabalho.

A Esmeralda Malafaia, pela sua colaboração na construção dos mapas.

A Marcelo Henrique, pela sua disponibilidade e compreensão.

A Maria do Carmo, pelos ensinamentos, paciência e compreensão.

Aos meus amigos que compreenderam a minha ausência, pela dedicação à pesquisa.

Aos meus amigos especiais que fizeram acreditar na minha capacidade e no meu caminho que tenho que seguir.

Ao Dr. Marabó que me fez acreditar que a ciência era o meu caminho.

RESUMO

A armadilha de oviposição BR-OVT foi desenvolvida com base na soma de estímulos físicos e químicos para atração de fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), uma espécie de grande importância epidemiológica, envolvida na transmissão da *Wuchereria bancrofti* e de vários arbovirus. O presente estudo teve como objetivo avaliar atraentes e larvicidas para melhorar o desempenho da armadilha, bem como testar a eficiência da armadilha para uso na coleta de dados entomológicos de *Cx. quinquefasciatus*. Para otimizar o uso da BR-OVT e avaliar a sua competitividade frente aos principais tipos de criadouros no Recife, foram realizados testes em laboratório e a campo. Em laboratório, foram realizados bioensaios em câmara de escolha, com *Bacillus sphaericus* (*Bs*), *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) e atraente de oviposição (J1), para verificar se a presença destes produtos interfere na escolha de sítios de oviposição. Estes materiais foram comparados à infusão de gramínea, um atraente comumente utilizado em armadilhas para atrair fêmeas grávidas de mosquitos. Os bioensaios foram conduzidos em gaiola de 100 x 80 x 70 cm, utilizando 50 a 100 fêmeas grávidas por ensaio, com pelo menos 6 repetições. Em campo, armadilhas com diferentes tratamentos foram instaladas no interior ou na área externa de residências localizadas em bairros do Recife, por períodos de 20, 30, 80 ou 348 dias. O número de armadilhas por experimento variou de 11 a 180. Os resultados dos experimentos em laboratório e a campo mostraram que as bactérias entomopatógenas *Bs* e *Bti* são atraentes de oviposição para fêmeas de *Cx. quinquefasciatus*; e quando adicionados à infusão de gramínea não alteram a atratividade da armadilha; que o J1, associado ao *Bti*, é um bom atraente de oviposição para *Culex*, com potencial para substituir a infusão de gramínea em armadilhas; a avaliação a campo demonstrou que a BR-OVT é um instrumento eficiente para coleta de amostras populacionais de *Cx. quinquefasciatus*, com sensibilidade para indicar variações na densidade, além de ser um instrumento de fácil construção e manejo, que dispensa o uso de energia elétrica e tem boa aceitação pelo público.

Palavras-chaves: *Culex quinquefasciatus*; Armadilha; Infusão de gramínea; *Bacillus sphaericus*; BR-OVT.

ABSTRACT

The BR-OVT oviposition trap was developed based on the combination of physical and chemical stimuli for attracting gravid females of *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), a species of great epidemiological importance, involved in the transmission of *Wuchereria bancrofti* and many arboviruses. The present study aimed the evaluation of oviposition attractants and larvicides in order to improve the trap performance, as well as to test the efficacy of the trap in collecting entomological data of *Cx. quinquefasciatus*. To optimize the use of the BR-OVT and evaluate its competitiveness towards the main breeding sites from Recife, laboratory and field, tests were performed. In laboratory, bioassays in alternative chamber, were carried out using *Bacillus sphaericus* (*Bs*), *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) and oviposition attractant (J1) in order to verify if the presence of such products interfere on the choice of oviposition sites. They were compared to grass infusion, an attractive commonly used in traps to attract gravid female mosquitoes. The bioassays were conducted in 100 x 80 x 70 cm cages, using 50 to 100 females per assay, with at least 6 repetitions. In the field, traps with different treatments were installed in the interior or in the external area of houses located at districts of Recife, for periods of 20, 30, 80 or 348 days. The number of traps per assay varied from 11 to 180. The results obtained in laboratory and field showed that entomopathogenic bacteria *Bs* and *Bti* work as oviposition attractant/stimulants for *Cx. quinquefasciatus* females; these bacteria can be used together with grass infusion in ovitraps as they do not modify, under such condition, the trap attractiveness; the J1 associated to *Bti* is a good oviposition attractive for *Culex*, with great potential in replacing the grass infusion in ovitraps. The field evaluation demonstrated that the BR-OVT is an efficient instrument to collect populational samples of *Cx. quinquefasciatus*, with sensibility to indicate variations in density, besides being an instrument easy to handle, with no need of electrical energy and good acceptance by the population.

Key words: *Culex quinquefasciatus*; ovitrap; grass infusion; *Bacillus sphaericus*; BR-OVT.

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Fêmea do <i>Culex quinquefasciatus</i> .	24
Figura 2	Ciclo de desenvolvimento holometabólico do <i>Culex quinquefasciatus</i> .	25
Figura 3	Tipos de criadouros comuns encontrados em alguns bairros do Recife.	26
Figura 4	Fêmea de <i>Culex quinquefasciatus</i> ovipositando.	29
Figura 5	Jangadas de <i>C. quinquefasciatus</i> mostrando a corola no pólo anterior de cada ovo e as gotículas apicais do feromônio de agregação de oviposição. Fotografia em microscópio estereoscópico.	29
Figura 6	Fêmea de <i>Culex quinquefasciatus</i> ovipositando	30
Figura 7	Armadilha miniatura do tipo CDC (à direita) e New Jersey.	43
Figura 8	CDC Gravid Trap (esquerda) e Box Gravid Trap.	45
Figura 9	Desenho esquemático da armadilha de oviposição BR-OVT.	47
Figura 10	Armadilha de oviposição BR-OVT.	47
Figura 11	Armadilha de oviposição BR-OVT	51
Figura 12	Gaiola de alumínio e tela de nylon (100 x 80 x 70 cm) utilizada nos bioensaios em laboratório.	53
Figura 13	Mapa da cidade do Recife, indicando a localização dos bairros Mustardinha e Caçote, localizados na Região Política Administrativa 5 (RPA 5).	56
Figura 14	Mapa legendado do bairro do Caçote.	58
Figura 15	Mapa legendado do bairro da Mustardinha.	59
Figura 16	Aspectos de fossas encontradas em residências onde o experimento foi realizado no bairro do Caçote, Recife-PE.	61
Figura 17	Armadilha BR-OVT instalada na proximidade de uma fossa, em três residências do Caçote, Recife-PE.	61
Figura 18	Armadilha BROVT e a armadilha CDC Gravid Trap.	62
Figura 19	Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> (100 fêmeas grávidas/ réplica) na presença de	68

caldo fermentado de *Bacillus sphaericus* nas concentrações de 2.000ppm ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$) (A) e 3.000ppm ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$) (B) e nos respectivos controles.

- Figura 20 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (100 fêmeas grávidas/ réplica) na presença de sobrenadante de *Bacillus sphaericus* na concentração de 6.000ppm e no controle ($p \leq 0.05$, $n= 6$, $T=0$). 69
- Figura 21 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença de caldo fermentado de *B. sphaericus* na concentração de 2.000ppm versus infusão de gramínea ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$). 70
- Figura 22 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença do sobrenadante de *B. sphaericus* na concentração de 6.000ppm em água versus infusão de gramínea ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$). 71
- Figura 23 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença do caldo fermentado do *B. sphaericus* na concentração de 2.000ppm ($p > 0.05$, $n= 6$, $T= 5$) (A) e 6.000ppm de sobrenadante (B) ($p > 0.05$, $n= 6$, $T= 7$) em infusão versus infusão de gramínea. 73
- Figura 24 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (50 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG[®] 0.45 g/L em água) versus água ($p < 0,05$, $n= 8$, $T= 0$). 75
- Figura 25 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG[®] 0.45 g/L em água) versus infusão de gramínea ($p < 0,05$, $n= 8$, $T= 1$). 75
- Figura 26 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* (50 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG[®] 0.45 g/L em infusão de gramínea) versus infusão de gramínea ($p < 0.05$, $n= 8$, $T= 0$). 76
- Figura 27 Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no 78

intradomicílio (uma armadilha por casa) no bairro do Caçote (Recife/PE) comparado ao número de jangadas coletadas nas fossas (9 conchadas/fossa). Outubro a novembro de 2003 ($p > 0.05$, $n = 20$, $T = 56$).

- Figura 28 Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no peridomicílio (uma armadilha/casa) no bairro do Caçote (Recife/PE) comparado ao número de jangadas coletadas nas fossas (9 conchadas/fossa). Agosto a outubro de 2003 ($p < 0.05$, $n = 20$, $T = 4$). 79
- Figura 29 Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no peridomicílio e em 11 instaladas no intradomicílio (duas armadilhas/casa) no bairro do Caçote (Recife/PE) comparado ao número de jangadas encontradas em fossas (9 conchadas/fossa) localizadas nas mesmas casas. Junho a setembro 2004. 80
- Figura 30 Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Cx quinquefasciatus* nas armadilhas BR-OVT/ J1 + *Bti* versus BR-OVT/ IG + *Bti* versus BR-OVT / água + *Bti*, em um período de 30 dias. 85
- Figura 31 Comparação dos efeitos do atraente J1 e da infusão, considerando o número de jangadas depositadas em 10 pares de armadilhas durante 30 dias. IG= Infusão de gramínea; *Bti* = *Bacillus thuringiensis israelensi*; J1 = atraente químico testado, $p < 0,05$ ($N = 9$, $T = 1$). 86
- Figura 32 Comparação do efeito do atraente J1, considerando o número de jangadas depositadas em 10 pares de armadilhas durante 30 dias. *Bti* = *Bacillus thuringiensis israelensi*; J1 = atraente químico, $p < 0,05$ ($N = 10$, $T = 0$). 87
- Figura 33 Número de jangadas depositadas nos 10 grupos de três armadilhas com diferentes tratamentos, contados em intervalos de três a quatro dias. 87
- Figura 34 Número de jangadas ovipositadas durante 28 dias por fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* nas armadilhas BR-OVT contendo infusão de gramínea (IG) com adição ou não de *Bti*. Uma par de 88

- armadilhas foi instalada por imóvel, no bairro da Mustardinha, Recife, em dezembro de 2006.
- Figura 35 Soma de jangadas depositadas nos 10 pares de armadilhas contendo infusão com adição ou não de *Bti*, em oito leituras realizadas com intervalo de 3 a 4 dias, durante 28 dias, no bairro da Mustardinha/Recife, em dezembro de 2006. 89
- Figura 36 Quantidade de armadilhas BR-OVT utilizadas durante os 12 meses de experimento no bairro da Mustardinha, em 2006. 91
- Figura 37 Mapa da localização das armadilhas BR-OVT instaladas no bairro da Mustardinha/Recife. 92
- Figura 38 Número médio de jangadas ovipositadas por armadilha por dia nas armadilhas BR-OVT instaladas em residências (1 por casa) no bairro da Mustardinha, no período de 19 de janeiro a 28 de dezembro de 2006. Comparado com a precipitação pluviométrica mensal. 94
- Figura 39 Número médio de fêmeas por quarto por noite, com base em capturas de adultos de *Cx. quinquefasciatus* com armadilhas CDC, instaladas em quatro residências no bairro da Mustardinha, 2 localizadas em nossa área de intervenção (A) e 2 em área controle (B), comparadas com a precipitação pluviométrica no ano de 2006. 95

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Número total de jangadas ovipositadas nas 6 réplicas dos bioensaios de oviposição, utilizando 100 fêmeas grávidas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> por réplica, para avaliação da influência do <i>B. sphaericus</i> na escolha do sítio de oviposição.	67
Tabela 2	Número de jangadas ovipositadas em bioensaios de oviposição com 6 réplicas, utilizando 100 fêmeas grávidas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> por réplica na presença de <i>Bs</i> – caldo fermentado (2.000 ppm) ou sobrenadante (6.000 ppm) versus infusão de gramínea (IG).	70
Tabela 3	Número total de jangadas ovipositadas nos 2 bioensaios em 6 réplicas, utilizando 100 fêmeas grávidas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> por réplica, na presença de <i>Bs</i> - caldo fermentado (2.000 ppm) ou sobrenadante (6.000 ppm) em infusão versus infusão de gramínea (IG).	72
Tabela 4	Número total e percentual de jangadas ovipositadas nos bioensaios de oviposição utilizando 50 ou 100 fêmeas grávidas por réplica (8 réplicas por experimentos) para avaliar influencia do <i>Bti</i> na escolha do sítio de oviposição.	74
Tabela 5	Número médio de jangadas coletadas nas armadilhas BR-OVT, segundo sua localização no peri ou no intradomicílio, em 11 residências no bairro do Caçote, Recife (2003-2004).	77
Tabela 6	Soma de jangadas ovipositadas nas armadilhas BR-OVT instaladas simultaneamente no intra e no peridomicílio e nas amostras coletadas nas fossas, no bairro do Caçote, Recife, no período de junho a setembro de 2004.	77
Tabela 7	Número de jangadas e de fêmeas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> coletadas por mês, em armadilhas de oviposição BR-OVT, e em armadilhas de grávidas, em 2 casas localizadas no bairro da Mustardinha, Recife, de julho a dezembro de 2006.	83
Tabela 8	Número total de jangadas ovipositadas durante 30 dias nas 3 BR-OVT (uma para cada tratamento) com 10 réplicas utilizando atraente	85

químico de oviposição (J1), infusão de gramínea (IG) e água, instaladas no bairro da Mustardinha, Recife.

Tabela 9	Número de jangadas ovipositadas durante 30 dias nas BR-OVT e valores do IAO para os tratamentos pareados J1-Água e IG-Água, nas 10 réplicas do experimento realizado no bairro da Mustardinha, Recife.	86
Tabela 10	Frequência de armadilhas, segundo a quantidade de jangadas coletadas no período de janeiro a dezembro de 2006.	93
Tabela 11	Número total de jangadas coletadas no ano pelas armadilhas BR-OVT instaladas no intra ou no peridomício das casas com maior densidade populacional de <i>Cx. quinquefasciatus</i> (> 650 jangadas ao ano), no bairro da Mustardinha, Recife.	93
Tabela 12	Número total de jangadas coletadas em 12 meses pelas armadilhas BR-OVT instaladas (intradomício) das casas com menor densidade populacional de <i>Cx. quinquefasciatus</i> (< 21 jangadas ao ano), no bairro da Mustardinha, Recife.	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Bs – *Bacillus sphaericus*

Bti – *Bacillus thuringiensis israelensis*

CDC - Centro de Controle de Doenças

CF – Caldo fermentado

CFG - Counterflow Geometry

CVA – Centro de Vigilância Ambiental

ENT - Electric nets

IAO – Índice de Atividade de Oviposição

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IG – Infusão de Gramínea

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

PNCD - Programa Nacional de Combate a Dengue

RMR – Região Metropolitana do Recife

RPA – Região Política Administrativa

ABS PRO - Standard Professional

SN – Sobrenadante

UFC – Unidade Formadora de Colônia

VNO – Vírus do Nilo Ocidental

ZEIS - Zonas Especiais de Interesse Social

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 <i>Culex quinquefasciatus</i> Say, 1823 - Biologia e Ecologia	24
2.2 Comportamento de Oviposição	30
2.3 Competência Vetorial	31
2.4 Situação Epidemiológica da Filariose Linfática no Recife	32
2.5 Semioquímicos - Atraentes de Oviposição	33
2.6 Feromônio de Agregação de Oviposição e Feromônio de Oviposição Sintético	34
2.7 Bactérias Entomopatógenas	36
2.8 Infusão de Gramínea, 3-metil-indol (escatol) e 4-metil-fenol (p-cresol)	37
2.9 Métodos de Controle	38
2.10 Tipos de Armadilhas	42
2.10.1 Armadilhas para captura de adultos.....	42
2.10.2 Armadilha para captura de fêmeas grávidas de <i>Culex</i>	44
2.10.3 Armadilha para coleta de jangadas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> BR-OVT.....	45
3 OBJETIVOS	48
4 MATERIAIS E MÉTODOS	50
4.1 Experimentos em laboratório	51
4.1.1 Infusão de gramínea (<i>Eleusine indica</i>) (IG) como atraente de oviposição.....	52
4.1.2 Avaliação de bactérias entomopatógenas para uso na BR-OVT.....	53
4.1.2.1 <i>Bacillus sphaericus</i> (Bs).....	53
4.1.2.2 <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> (Vectobac-CG [®]) (Bti).....	54
4.2 Experimentos a Campo	54
4.2.1 Áreas de Estudo.....	55
4.2.1.1 Área 1: Bairro do Caçote	57
4.2.1.2 Área 2: Bairro da Mustardinha	57
4.2.2 Avaliação do desempenho da BR-OVT segundo a localização no espaço domiciliar.....	60
4.2.3 Avaliação da armadilha por operadores e residentes.....	60

4.2.4 Avaliação da armadilha BR-OVT <i>versus</i> armadilha para fêmeas grávidas (CDC-Gravid Trap).....	62
4.2.5 Avaliação da BR-OVT com atraente químico de oviposição (J1).....	63
4.2.6 Avaliação do larvicida <i>Bti</i> sob condições de campo.....	63
4.2.7 Avaliação em larga escala do potencial da BR-OVT para coleta de ovos.....	64
4.3 Análises Estatísticas	65
5 RESULTADOS	66
5.1 Avaliação de bactérias entomopatógenas para uso na BR-OVT	67
5.1.1 <i>Bacillus sphaericus</i>	67
5.1.2 <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	74
5.2 Desempenho da BR-OVT segundo sua localização no espaço domiciliar	76
5.3 Avaliação da armadilha por operadores e residentes	80
5.4 Eficiência da BR-OVT comparada à armadilha para fêmeas grávidas (CDC-Gravid Trap)	83
5.5 Atratividade do J1 adicionado à armadilha BR-OVT	83
5.6 Atratividade do <i>Bti</i> na armadilha sob condições de campo	88
5.7 Avaliação em larga escala da eficiência da armadilha BR-OVT	89
6 DISCUSSÃO	96
7 CONCLUSÕES	103
REFERÊNCIAS	105
APÊNDICES	117
Apêndice A: Ficha de cadastro das residências.....	118
Apêndice B: Termo de consentimento.....	119
Apêndice C: Boletim de campo utilizado no bairro do Caçote.....	120
Apêndice D: Questionário aplicado aos operadores.....	121
Apêndice E: Questionário aplicado aos moradores.....	123
Apêndice F: Boletim BR-OVT x CDC-Gravid Trap.....	124
Apêndice G: Boletim BR-OVT-J1 + <i>Bti</i> x BR-OVT-IG+ <i>Bti</i> x BR-OVT-Água + <i>Bti</i>	125
Apêndice H: Boletim BR-OVT-IG + <i>Bti</i> x BR-OVT-IG.....	126
Apêndice I: Boletim de monitoramento das BR-OVT no bairro da Mustardinha.....	127
Apêndice J: Artigo aceito pela Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.....	128
ANEXO	149
Anexo A: Registro no Comitê de Ética/CPQAM/FIOCRUZ: 01/03.....	150

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae), mosquito cosmopolita encontrado principalmente em áreas tropicais, é considerado a espécie de mosquito mais amplamente distribuída e possivelmente a mais abundante no mundo (HAYES, 1975). É uma espécie acentuadamente domiciliada, cujas fêmeas adultas são muito endofílicas e fortemente antropofílicas (FORATTINI *et al.*, 2000). Bem estabelecido em aglomerados urbanos, o *Cx. quinquefasciatus* coloniza todos os tipos de habitats aquáticos artificiais, sobretudo aqueles com alto grau de poluição orgânica, beneficiando-se do crescimento de áreas urbanas com problemas sanitários agudos. É, por estas razões, geralmente referido como “mosquito tropical doméstico”, e causa um grande desconforto, comprometendo a qualidade de vida das populações humanas expostas.

Além do incômodo causado pela hematofagia, o *Cx. quinquefasciatus* é um competente vetor de agentes patógenos ao homem. É o principal vetor da filariose linfática bancroftiana na Ásia e na África Oriental, e nas Américas é o único responsável pela transmissão da *Wuchereria bancrofti* (forma periódica noturna), onde a endemia localiza-se, sobretudo em cidades litorâneas, da Costa Rica ao Brasil. O interesse em *Cx. quinquefasciatus* tem aumentado nas últimas décadas, devido ao envolvimento deste mosquito na transmissão de diferentes arbovírus, associado ao rápido e desordenado crescimento das áreas urbanas na zona tropical.

A filariose Bancroftiana é uma doença exclusivamente humana (antropozoonose) causada pelo verme filarial que se instala nos vasos linfáticos das pessoas infectadas. A doença é transmitida pela picada da fêmea de *Cx. quinquefasciatus* infectada com larvas do 3º estágio de *W. bancrofti*. No mundo estima-se em 120 milhões o número de pessoas parasitadas e em 1,2 bilhões os indivíduos que vivem em áreas endêmicas com risco de contrair a doença (OTTESEN; RAMACHANDRAN, 1995; MACIEL; FURTADO; MARZOCHI, 1999; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2000).

No Brasil, a Região Metropolitana do Recife (RMR) é a principal área endêmica da Filariose Bancroftiana, com registros de elevadas taxas de prevalência em focos distribuídos em espaço urbanos da capital do Estado desde a década de 1950 (RACHOU *et al.*, 1957). As condições ambientais presentes na RMR favorecem a manutenção da transmissão da filariose nas áreas mais carentes de infra-estrutura urbana. O clima é quente e úmido, com temperaturas médias mensais entre 25° C e 30° C e a umidade relativa do ar entre 67% e 85%,

que favorecem um rápido desenvolvimento do ciclo biológico do *Cx. quinquefasciatus*. Associados aos fatores biológicos, climáticos e ambientais, aspectos comportamentais da população humana também contribuem para a manutenção de altas densidades populacionais de *Cx. quinquefasciatus*, sobretudo nas áreas urbanas mais pobres. A ausência ou a inadequação do sistema de esgotamento das águas servidas, aliada à necessidade de acondicionar água em reservatórios no intra e peri domicílio, constitui um fator importante para o estabelecimento e manutenção de elevadas densidades desta espécie na RMR (REGIS *et al.*, 1995, 2000; OLIVEIRA, 1996).

O *Culex* também é incriminado como vetor de arboviroses, incluindo o vírus do Nilo ocidental (VNO), causador da febre do Nilo Ocidental comum na África e no Oriente Médio. Tendo como hospedeiro primário aves de várias famílias, o VNO também infecta um grande espectro de mamíferos. Em humanos, pode causar encefalite severa, meningite e paralisia, até a morte. O VNO causou a morte de muitas pessoas nos Estados Unidos em 2002, e a sua notável velocidade de disseminação em apenas três anos, desde a sua introdução na região de Nova Iorque em 1999, tem preocupado as autoridades de saúde no que diz respeito a sua possível introdução no Brasil. O fato de o país possuir a segunda maior avifauna do globo terrestre, além de receber centenas de espécies de aves migratórias do hemisfério norte, além de também possuir uma grande diversidade de espécies de culicídeos potencialmente vetores do VNO, o que pode favorecer a sua manutenção, caso seja introduzido no Brasil (LUNA; PEREIRA; SOUZA, 2003). Em nosso país, a vigilância em aves tem sido feita em locais considerados como rota de aves migratórias, no Amazonas, no Amapá, no Maranhão, no Rio Grande do Norte, no Rio Grande do Sul, no Paraná, no Mato Grosso do Sul e em Pernambuco (Ilha de Itamaracá, litoral norte do Estado).

A presença do *Cx. quinquefasciatus* em espaços urbanos, representando uma ameaça à saúde humana, requer aplicação de ações estruturais para o controle populacional desta espécie.

O uso de larvicidas tem sido o principal pilar dos programas de controle de *Culex*. Enquanto que o uso de larvicidas sintéticos, principalmente os organofosforados, que são os mais utilizados, resulta em problemas decorrentes de sua ação tóxica não seletiva, afetando, além dos insetos-alvo outros invertebrados, assim como os vertebrados, e ainda pode desencadear na espécie-alvo o desenvolvimento de resistência.

Nas últimas décadas tem sido crescente a substituição destes produtos químicos por bactérias entomopatógenas do gênero *Bacillus*, consideradas os melhores agentes para o controle de culicídeos e simulídeos, devido a sua especificidade, pois produzem toxinas com

elevado poder inseticida, além de apresentarem facilidades para a produção em larga escala, armazenamento, transporte e aplicação. O tratamento dos criadouros reais e potenciais com larvicidas biológicos à base de *Bacillus sphaericus* e *B. thuringiensis israelensis*, é considerado uma forma de intervenção mais apropriada, segura e sustentável de controle populacional do *Culex*, devendo ser integrada a outras medidas apropriadas de controle (REGIS *et al.*, 1995, 1996, 2000, 2001).

O método de controle que utiliza pérolas de poliestireno (bolinhas de isopor) como barreira física em fossas, merece ser destacado, por ser de baixo custo, seguro para o operador, contando ainda com a vantagem de ser aplicado manualmente, sem a necessidade de equipamentos. Estima-se que sua permanência no criadouro chegue até cinco anos, sem que haja necessidade de reposição. Experiências em campo realizadas na Tanzânia (MAXWELL *et al.*, 1990) e no Recife (REGIS *et al.*, 1995) produziram bons resultados.

Programas de controle de mosquitos requerem a coleta sistemática de amostras populacionais tanto para orientar as ações de controle, quanto para avaliar o seu impacto sobre a população do inseto-alvo. Amostras de formas aquáticas de *Culex* são obtidas com o uso de conchas, com uma metodologia bem estabelecida e universalmente adotada. Para a captura de adultos são usados aspiradores ou, mais freqüentemente, armadilhas utilizando uma fonte luminosa para atração dos alados. Armadilhas com atraentes de oviposição para captura de fêmeas grávidas tem sido um instrumento facilitador de monitoramento cada vez mais utilizado.

As armadilhas empregadas para captura de fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* são: Gravid Trap (REITER, 1983; 1987; REISEN, 1987), Armadilha luminosa tipo CDC com luz ultravioleta, acrescida de atraentes de oviposição (RITCHIE, 1984) e a armadilha CFG (Counterflow geometry), que também utiliza atraentes de oviposição, como infusão de gramínea (MBOERA *et al.*, 2000). São armadilhas produzidas industrialmente, de custo elevado, o que representa uma limitação para a utilização em áreas de baixo poder econômico. Elas requerem, além disto, o uso de energia elétrica, aumentando ainda mais os custos, para seu uso extensivo.

Uma armadilha de oviposição para *Cx. quinquefasciatus* que seja de fácil construção e que não consuma energia elétrica poderia ser um instrumento de grande utilidade para obtenção de dados entomológicos, com potencial para coleta massiva de ovos como medida complementar de controle integrada a outras ações para reduzir a densidade populacional deste vetor urbano.

A proposta deste projeto é aperfeiçoar e avaliar, em larga escala, a eficiência da armadilha de oviposição BR-OVT (PI 021189903) desenvolvida previamente (BARBOSA, 2001), para o monitoramento populacional de *Cx. quinquefasciatus* em áreas urbanas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 - **Biologia e Ecologia**



Figura 1 - Fêmea do *Culex quinquefasciatus*.
Fonte: Barbosa (2007).

O *Culex quinquefasciatus* é referido como mosquito comum urbano, por seu comportamento altamente endofílico e antropofílico, sendo sua distribuição e abundância fortemente influenciadas pela presença do homem (FORATTINI, 1996). Ocorre em todo o Brasil onde é conhecido, segundo a região, como mosquito, pernilongo, muriçoca ou carapanã. Tem desenvolvimento pós-embriônico do tipo holometabólico, ou seja, apresenta metamorfose completa. As fases de ovo (jangada), larva (L1-L4) e pupa (Figura 2) desenvolvem-se em coleções de água estagnadas ou de pouco movimento, geralmente com alta carga de matéria orgânica e detritos, como fossas, valetas, charcos e caixas de inspeção (Figura 3). São consideradas como temperaturas ideais para o desenvolvimento larval entre 24 e 28° C, para a maioria dos mosquitos que vivem em regiões tropicais (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Outros fatores como densidade larval e qualidade de alimentação podem alterar o ciclo evolutivo dos mosquitos, modificando sua duração, o tamanho das fêmeas e sua fecundidade (LANDRY; De FOLIART; HOGG, 1988; CLEMENTS, 1992).

Seus criadouros estão sempre situados no interior ou próximo às habitações, sendo essa espécie beneficiada pelas alterações antrópicas no ambiente peridomiciliar. Em áreas urbanas com abundante disponibilidade de criadouros, podem ser observadas altas densidades

populacionais, causando forte incômodo. No Recife, cidade com precário sistema de saneamento básico e fornecimento irregular de água tratada, o elevado número de criadouros contribui para altas densidades populacionais de *Cx. quinquefasciatus*. As principais fontes deste mosquito em Recife e Olinda são fossas, caixas de inspeção do sistema do esgotamento sanitário e valetas (REGIS *et al.*, 1995; 2000).

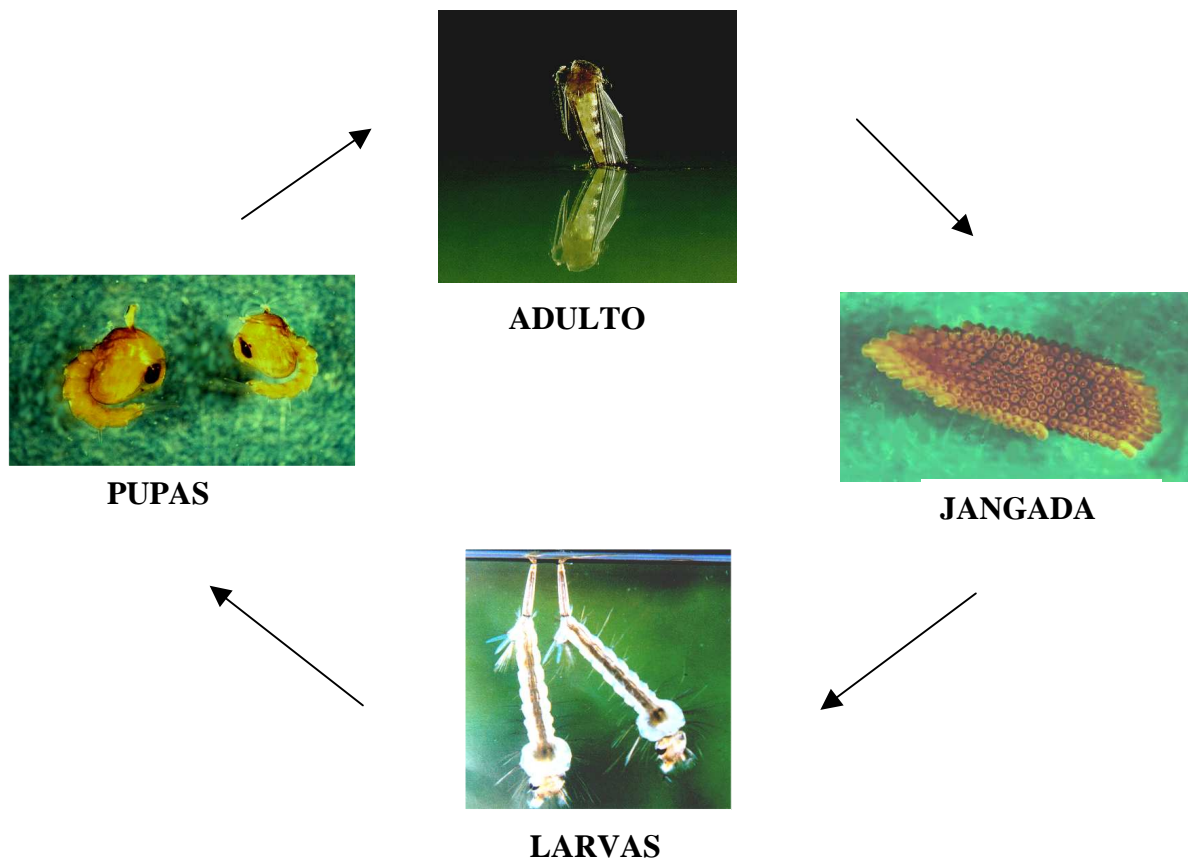
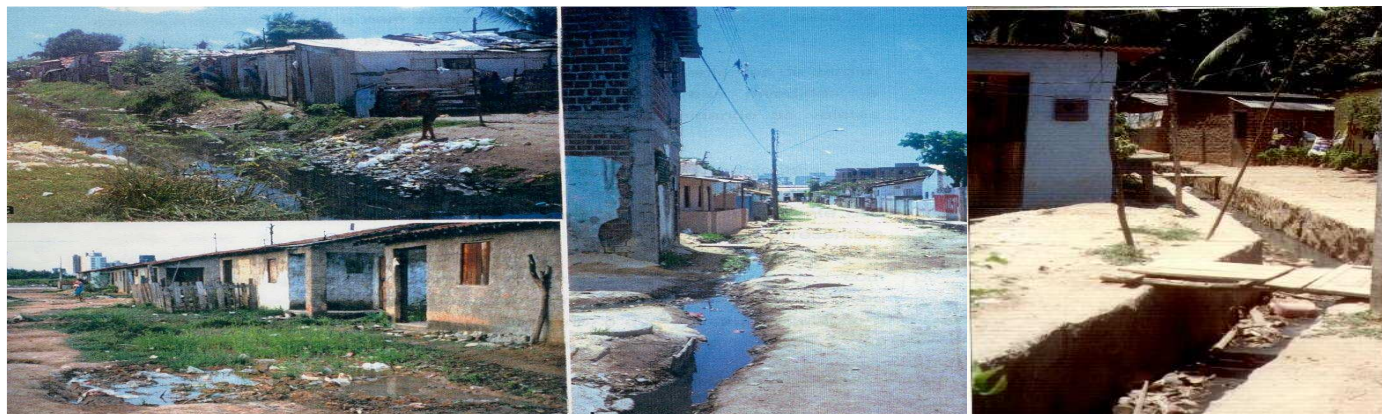


Figura 2 - Ciclo de desenvolvimento holometabólico do *Culex quinquefasciatus*.



Fonte: Oliveira (1996).



Figura 3 - Tipos de criadouros de *Cx. quinquefasciatus* comuns encontrados em alguns bairros do Recife.
Fonte: Barbosa (2007).

As picadas, bem como os ruídos emitidos pelas muriçocas, causam desconforto, comprometendo a qualidade de vida das populações expostas. Em regiões tropicais onde temperatura e umidade relativa variam pouco ao longo do ano, a ocorrência deste mosquito é contínua, embora haja flutuações de tamanho populacional, típicas da espécie. Este é o caso do Recife, área endêmica de filariose, onde foram registradas densidades variando entre 20 e 60 *Culex* por quarto/noite ao longo do ano, com pico de mais de 100 nos meses de chuva intensa (REGIS *et al.*, 1995). Estudos realizados na cidade do Recife (OLIVEIRA, 1996), mostraram acentuadas flutuações diárias da densidade populacional de *Cx. quinquefasciatus* no interior das casas, com diferenças consideráveis entre casas vizinhas, sugerindo que a população adulta de *Cx. quinquefasciatus* em uma habitação é mantida pelos criadouros existentes no seu interior ou na proximidade imediata da habitação. Os mosquitos tendem a permanecer próximo ao criadouro onde ocorreu sua emergência, devido à presença de fonte alimentar e de sítios de oviposição neste local.

A seleção do local de postura por parte das fêmeas é o principal fator responsável pela distribuição dos mosquitos nos criadouros, sendo de grande importância para a distribuição das espécies na natureza (BENTLY; DAY, 1989). Aspectos fundamentais da biologia do *Cx. quinquefasciatus* favorecem a manutenção de elevadas densidades populacionais dessa espécie, tais como: curto ciclo biológico; alta fecundidade e divergência alimentar entre as formas jovens e adultas.

O *Cx. quinquefasciatus* é um mosquito de hábitos noturnos, embora fêmeas e machos se abriguem nas habitações humanas durante o dia e à noite. As fêmeas praticam a hematofagia preferencialmente no crepúsculo vespertino e à noite (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994). Em relação ao acasalamento, são espécies estenógamas. Durante a cópula, que ocorre geralmente em vôo 1 a 2 dias após a muda imaginal, uma grande quantidade de espermatozoides é armazenada nas três espermatecas da fêmea. Os espermatozoides podem manter-se viáveis por muito tempo, e serão utilizados pouco a pouco para fecundar os óvulos durante o processo de oviposição (CLEMENTS, 1992; ANDREADIS; HALL, 1980).

É importante distinguir dois estágios no processo da oviposição: o comportamento de pré-oviposição e a oviposição propriamente dita. Conforme descrito por Clements (1999), o comportamento da pré-oviposição tem duas fases: a primeira é caracterizada por respostas comportamentais das fêmeas grávidas resultando na localização de um sítio potencial de postura (habitat aquático), e a segunda compreende respostas comportamentais que indicam a adequação e aceitabilidade do sítio, geralmente seguindo a seqüência: vôo à distância orientado por pluma de odores, localização e aceitação; em alguns casos ocorrem também pouso e avaliação da superfície por contato. A oviposição é o processo final que consiste na deposição dos ovos em um biótopo apropriado.

Observações comportamentais em laboratório (BARBOSA, 2001) demonstraram que as fêmeas de *Cx. quinquefasciatus*, após localização do corpo hídrico, realizam um processo de identificação da área escolhida para ovipositar. Passo a passo, a fêmea sobrevoa o recipiente com água, tocando algumas vezes a superfície da lâmina d'água com o abdome, podendo realizar pouso rápido na borda do recipiente. Por fim, a fêmea pousa sobre a lâmina d'água e deposita seus ovos um a um, agrupados formando uma jangada, operação que dura, em média, 25 minutos (Figura 5).

Os culicídeos utilizam diferentes métodos de oviposição. A formação de jangadas sobre a superfície da água é característica de certos gêneros como *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Armigeres* e *Coquillettidia*. Durante a oviposição cada ovo é emitido sem

interrupção, primeiro o pólo posterior, com o eixo longitudinal paralelo à superfície d'água. Com um simples movimento do abdome da fêmea, o ovo sofre uma rotação colocando o pólo posterior para cima. A jangada se forma progressivamente, ovo a ovo alinhando-se em fileiras, entre as patas posteriores da fêmea, seguindo um plano extremamente preciso (BEATMENT; CORBET, 1981) (Figura 4).

Os ovos de *Culex spp* têm formas alongadas, simetria bilateral, cor pálida no momento da oviposição, tornando-se escuros após de 1-2 h, sendo que os inférteis geralmente não alcançam a tonalidade escura dos férteis. No pólo anterior, o exocorion é prolongado e flexível, formando uma taça chamada de corola, com 54-64 μm de profundidade. A corola permite que os ovos fiquem na posição vertical sobre a superfície da água (BEATMENT; CORBET, 1981, citado por CLEMENTS, 1992). A maioria do exocorion é hidrófobo, mas o interior da corola está sempre umedecido, evitando desta forma a dessecação dos ovos. O exocorion está ausente no pólo posterior do ovo, onde se forma uma leve depressão (8-10 μm), sobre a qual repousa uma gotícula oleosa de cerca de 50 μm de diâmetro (Figura 5). A gotícula apical, que contém o feromônio de agregação de oviposição, aparece logo após a oviposição e atinge seu volume máximo cerca de 24 h depois (LAURENCE; PICKETT, 1985).

As larvas se alimentam continuamente por filtração, na camada superficial do criadouro. Na fase pupal, que dura cerca de 48 horas, a alimentação é suspensa, mas a pupa se desloca na coluna d'água voluntariamente ou quando perturbada.

Os adultos emergem em maior frequência no crepúsculo vespertino, permanecendo próximos à lâmina d'água até o endurecimento das asas, quando voam e copulam. As fêmeas do *Cx. quinquefasciatus* vivem entre 45 e 50 dias (RAMIAH; DAS, 1992), e potencialmente podem realizar neste período, aproximadamente quatro oviposições, cada uma contendo cerca de 150 a 280 ovos. O número de ovos por jangada é influenciado pelo tipo da fonte alimentar utilizado pelo mosquito para realização da hematofagia. O sangue de ave aumenta significativamente a fecundidade das fêmeas, quando comparado com sangue humano (BRIEGEL; REZZONICO, 1985).

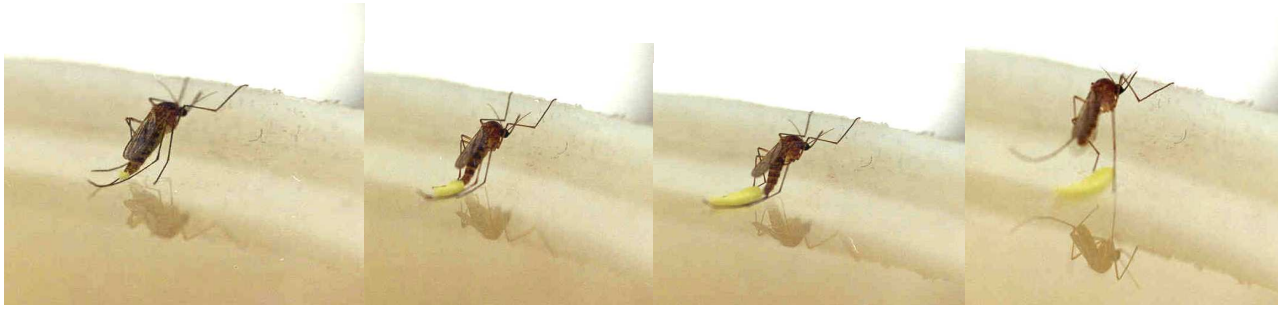


Figura 4 - Fêmea de *Culex quinquefasciatus* ovipositando.
Fonte: Barbosa (2007).



Figura 5 - Jangadas de *Culex quinquefasciatus* mostrando a corola no pólo anterior de cada ovo e as gotículas apicais do feromônio de agregação de oviposição. Fotografia em microscópio estereoscópico.
Fonte: Barbosa (2007).

2.2 Comportamento de Oviposição



Figura 6 - Fêmea de *Cx. quinquefasciatus* ovipositando.
Fonte: Barbosa (2007).

Muitos trabalhos relacionados ao comportamento de pré-oviposição foram realizados utilizando-se aparelhos de olfatometria, metodologia que emprega correntes de ar, onde são transportados os voláteis emanados de uma fonte odorífera através das correntes de vento (CLEMENTS, 1999). Por exemplo, Pile, Simmonds e Blaney (1991) demonstraram através de um aparelho de olfatometria, respostas de pré-oviposição (movimentos de vôos) de fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* em resposta ao feromônio de oviposição sintético. As moléculas emanadas pelos odores são decodificadas pelos mosquitos através de órgãos receptores que são os pêlos cuticulares das antenas, mais conhecidos como pêlos olfativos ou sensilas. Estes pêlos contêm um muco que banha os dendritos dos neurônios sensoriais e reconhecem cada componente de uma mistura de odores. O deutocérebro que processa as informações torna o inseto apto a discriminar um odor do outro (HOMBERG; CHRISTENSEN; HILDEBRAND, 1989).

Segundo Clements (1999) na natureza os mosquitos utilizam-se de quatro estratégias para ovipositar. Algumas espécies dos gêneros *Anopheles*, *Sabethes*, *Toxorhynchites* e *Wyeomyia* depositam seus ovos individualmente na superfície d'água, sem ter o contato direto com a água. As fêmeas das espécies que entram em contato com a água são estimuladas e/ ou atraídas pelos voláteis químicos para ovipositar. Algumas espécies de *Aedes* e *Psorophora* depositam ovos individualmente em substratos acima da lâmina d'água. A 4ª estratégia

envolve uma complexa fixação da jangada de ovos na vegetação, geralmente abaixo da superfície d'água. Este comportamento é exibido pelos membros do subgênero tropical *Mansonioides* e *Mansonia* (LOUNIBOS; LINLEY, 1987), de espécies de *Aedeomya*, e algumas espécies de *Culex*.

Os parâmetros que determinam a escolha de um sítio de oviposição são ainda desconhecidos para muitas espécies de culicídeos. Fatores como a qualidade da água, incidência de luz, pré-existência de ovos, disponibilidades de alimento e vegetação no local são fatores decisivos na escolha de um local para oviposição. Para *Cx. pipiens* é sabido que a quantidade de material orgânico na água é de grande importância na atração das fêmeas grávidas. Aparentemente, gases de substâncias como amônia, metano ou dióxido de carbono, liberados quando o material orgânico entra em decomposição, tem um efeito atraente (BECKER, 2003).

2.3 Competência Vetorial

O *Cx. quinquefasciatus* é o principal vetor da filariose linfática bancroftiana na Ásia e na África Oriental e o único responsável pela transmissão da *Wuchereria bancrofti* nas Américas, onde a endemia localiza-se sobretudo em cidades litorâneas, da Costa Rica ao Brasil (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987). A região metropolitana do Recife é a principal área endêmica da filariose no Brasil (MACIEL *et al.*, 1996).

O interesse no *Cx. quinquefasciatus* tem aumentado nas últimas décadas, com o crescimento das áreas urbanas na zona tropical e o envolvimento deste mosquito na transmissão de arbovírus como os das encefalites St. Louis (Oeste dos E.U.A.) e Venezuelana (Panamá); o Vírus do Nilo Ocidental (VNO), e como vetor secundário do vírus Oropouche (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; ELDRIDGE; EDMAN, 2000; NASCI *et al.*, 2001; WHITE, 2000; ZINSER; RAMBERG; WILLOTT, 2004).

O Vírus do Nilo Ocidental é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, pertencente ao complexo antigênico de encefalite japonesa. Geneticamente o VNO é classificado em duas variantes: o VNO1, associado à encefalite humana, já isolado na África, Índia, Europa, Ásia e América do Norte; e o VNO2, isolado de focos enzoóticos na África, sem registro de casos humanos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL, 1999; PETERSEN; ROEHRIG, 2001). A cadeia de transmissão depende da participação de vetores biológicos. O vírus infecta

principalmente aves, homens e eqüinos (LUNA; PEREIRA; SOUZA, 2003). As aves são os hospedeiros e reservatórios naturais do VNO.

Nas Américas, o VNO apresentou notável velocidade de disseminação. Em apenas dois anos, desde a sua introdução na região de Nova Iorque em 1999, o vírus foi detectado, ao norte, no Canadá, e ao sul, nas Ilhas Cayman, região do Caribe, provavelmente levado por aves migratórias nas rotas que passam por essas ilhas, sendo considerada possível sua rápida dispersão por todo o continente americano.

O Brasil, por suas condições ecológicas, apresenta uma importante avifauna e possui uma diversidade de espécies de culicídeos vetores potenciais que poderão favorecer a manutenção do vírus, se este for introduzido (LUNA; PEREIRA; SOUZA, 2003). O *Cx. quinquefasciatus* tem potencial para desempenhar importante papel na veiculação do VNO no Brasil.

2.4 Situação Epidemiológica da Filariose Linfática no Recife

O mecanismo de transmissão da filariose é considerado complexo e ineficiente, exigindo uma exposição intensa e prolongada ao mosquito infectado. A probabilidade de uma pessoa tornar-se microfilarêmica requer uma seqüência de acontecimentos tais como: sobrevivência e penetração ativa da larva infectante na pele humana; desenvolvimento da L₃ dos dois sexos até a forma adulta e seu alojamento no mesmo vaso linfático, permitindo o acasalamento e produção de microfíliarias.

A filariose bancroftiana continua endêmica no Recife desde os primeiros estudos conduzidos por Azevedo em 1952, através de inquéritos populacionais em residentes do bairro de Afogados, quando se verificou uma prevalência de microfíliarêmia em 9.7 % dos examinados. Entre 1954 e 1955 foram examinadas em toda a cidade 23.065 pessoas residindo em 6.048 domicílios, observando-se uma prevalência de microfíliarêmia de 6.9 % (AZEVEDO; DOBBIN, 1955). Com base nestes resultados, um Programa de Controle da Filariose foi instituído na cidade a partir de 1955. As atividades do programa passaram, então, a ser avaliadas periodicamente através de inquéritos hemoscópicos, cujos resultados, no início da década de 1980, indicavam uma queda da média de prevalência na cidade de 6.9 % (1954) para 1.5 %, em 1983 (BRASIL, 1985).

Em 1985, foi estabelecido no Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/ FIOCRUZ um Programa de investigação sobre a endemia. De 1989 e 1991, como parte deste programa, foi realizado com apoio da OMS, um inquérito parasitológico em 22 das 45 Zonas Especiais de Interesse Social (ZEIS), encontrando uma prevalência média de microfilaremia de 6.5 % (MACIEL *et al.*, 1996).

Entre agosto de 1999 e maio de 2000 a Secretária Municipal de Saúde do Recife realizou uma reavaliação epidemiológica dos focos ativos e extintos de filariose. Um total de 18.279 pessoas se submeteu à pesquisa de microfilária em gota espessa e 245 foram positivas, obtendo-se uma prevalência média para o município de 1.3 % (PERNAMBUCO, 2002).

Um Plano Nacional para Eliminação da Filariose foi estabelecido nos últimos anos, seguindo sugestão da Organização Mundial de Saúde, que prevê como intervenção de controle, o tratamento em massa da população humana com um filaricida, associado ao controle do vetor utilizando como larvicida a bactéria entomopatogena *Bacillus sphaericus*, além de outras medidas de controle (OLIVEIRA, 2002).

2.5 Semioquímicos - Atraentes de Oviposição

A seleção do sítio de oviposição de muitas espécies de mosquitos é fortemente influenciada por estímulos químicos (BENTLEY; DAY, 1989).

As substâncias químicas utilizadas na comunicação entre organismos são denominadas semioquímicos, o que significa sinais químicos. Estes semioquímicos podem mediar comunicação entre indivíduos de espécies diferentes (comunicação interespecífica) e da mesma espécie (comunicação intraespecífica) (JUTSUN; GORDON, 1989). São denominados aleloquímicos ou feromônios, dependendo da ação que provocam.

Os aleloquímicos, substâncias de ação interespecífica, são chamados alomônios quando favorecem ao emissor sendo desvantajosos ao receptor; cariomônios, quando beneficiam o receptor sendo desvantajoso para o emissor e sinomônios, que beneficiam ambos receptor e emissor (DICKE; SABELIS, 1992).

Os feromônios são de ação intraespecífica, podendo agir na fisiologia, no desenvolvimento e no comportamento dos indivíduos. Feromônio pode ser definido como uma substância secretada por um indivíduo e percebido por indivíduos da mesma espécie, provocando uma reação específica, ou um processo de desenvolvimento fisiológico

específico. Neste caso, as substâncias são chamadas de preparadoras. Há feromônios que possuem ação desencadeadora, provocando uma mudança imediata no comportamento do inseto. Os principais são os feromônios sexuais, de agregação, de dispersão, de trilha, de territorialidade, de alarme e de oviposição (VILELLA, 1987).

Clements (1999) define termos relativos a efeitos comportamentais tanto de aleloquímicos quanto de feromônio: atraentes são substâncias capazes de induzir vôo de orientação em direção à fonte de odor; estimulantes são substâncias que estimulam a oviposição e repelentes são voláteis que causam movimentação para longe da fonte odorífera. Estes termos podem ser usados para indicar qual comportamento está sendo modificado pelo semioquímico.

Outros semioquímicos, conhecidos como apneumônios, têm mostrado atratividade para fêmeas grávidas de mosquitos como *Cx. quinquefasciatus* e *Cx. tarsalis* (BLACKWELL; DYER; HANSSON, 1993; MILLAR; CHANEY; MULLA, 1992). O termo apneumônio foi descrito pela primeira vez para designar substâncias químicas emanadas por material inerte e que evocam uma reação favorável ao receptor (NORDLUND; LEWIS, 1976), como excrementos, secreções e outros compostos derivados tanto de hospedeiros quanto de fatores abióticos. Trabalhos têm demonstrado que diferentes apneumônios exercem atratividade para oviposição de várias espécies de mosquitos, como infusão de gramíneas (GJULLIN; JOHNSEN; PLAPP, 1965; HAZARD; MAYER; SAVAGE, 1967; HOLCK; MEEK; HOLCK, 1988; REITER; MANUEL; COLON, 1991; CHADEE *et al.*, 1993; ALLAN; KLINE, 1995), água contendo formas imaturas de mosquito co-específicas (CONSOLI; TEXEIRA, 1988; ZAHIRI, RAU, LEWIS, 1997) e esterco (KRAMER; MULLA, 1979).

2.6 Feromônio de Agregação de Oviposição e Feromônio de Oviposição Sintético

Em 1971, Osgood e Kempster reportaram em estudos comportamentais, que fêmeas grávidas de *Culex tarsalis* Coquillett são atraídas para ovipositar em sítios com jangadas previamente ovipositadas, demonstrando a associação ovo com feromônio que atrai fêmeas para ovipositar. Enquanto que fêmeas grávidas de *Cx. pipiens pipiens*, e *Aedes aegypti* não respondem ao feromônio de *Cx. tarsalis* indicando especificidade do feromônio. Este fato também foi observado com fêmeas grávidas de *Cx. pipiens fatigans* (= *quinquefasciatus*), por

Starratt; Osgood (1972) que isolou uma mistura de diglicerídios proveniente das jangadas do *Cx. tarsalis*.

Em 1979, Bruno e Laurence demonstraram experimentalmente que a resposta significativa das fêmeas grávidas ao sítio de postura que continha densidades variadas de jangadas estava associada à presença da gotícula localizada no ápice dos ovos, observou que um grande número dessas gotículas produzia respostas mais eficazes na escolha do sítio de oviposição.

O feromônio de agregação de oviposição de *Cx. quinquefasciatus* foi identificado por Laurence e Pickett (1982) como sendo o erithro-acetoxy-hexadecanolide, e somente o isômero (5R, 6S)-acetoxy-5-hexadecanolide apresenta atividade, quando comparado aos demais isômeros (HWANG *et al.*, 1987). O feromônio de agregação de oviposição, liberado pelos ovos, tem a função de atrair as fêmeas grávidas para um criadouro já localizado (LAURENCE; PICKETT, 1985).

Gotículas apicais têm sido descritas em espécies de *Culex*, *Culiseta* e *Uranotaenia*, que depositam seus ovos em forma de jangadas. Diferentes autores mostraram que fêmeas grávidas de *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens molestus* e *Cx. quinquefasciatus* são atraídas a ovipositar em sítios onde há jangadas conspecíficas (OSGOOD; KEMPSTER, 1971; STARRATT; OSGOOD, 1972; BRUNO; LAURENCE, 1979; MILLAR; CHANEY; MULLA, 1994).

Numa jangada de *Cx. quinquefasciatus* estima-se que contenha 0,3 µg do 6-acetoxy-5-decanolide, e que 0,02 µg do feromônio de oviposição é suficiente para induzir uma resposta significativa em fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* (LAURENCE; PICKETT, 1985). O Feromônio natural, material encontrado em uma jangada, mantém atividade acima de 21 dias quando conservado em temperatura de 21° C na presença de luz, porém, aos 28 dias o material começa a perder as propriedades ativas. (BRUNO; LAURENCE, 1979).

Vários autores reportam variabilidade considerável na sensibilidade e resposta de diferentes linhagens de *Cx. quinquefasciatus* ao feromônio presente em jangadas conspecíficas e ao feromônio sintético (LAURENCE; PICKETT, 1985; OTIENO; ONYANGO, 1988; DAWSON; YOUSTEN, 1990). Osgood e Kempster (1971) e Bruno e Laurence (1979) observaram que fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* respondem positivamente à presença de uma única jangada no sítio. Barbosa (2001) observou que um número mínimo de 5 jangadas foi necessário para produzir uma resposta significativa nas fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus*, linhagem Recife colônia CqSF, diferindo dos resultados obtidos pelos autores supracitados. Por outro lado, Millar; Chaney; Mulla (1994) demonstraram que fêmeas de *Cx. quinquefasciatus*, linhagem Califórnia, não respondem significativamente à presença

de um número inferior a 15 jangadas. Há várias explicações possíveis para estas diferenças entre populações da mesma espécie: variações na capacidade de percepção do feromônio (sensibilidade), na quantidade ou mesmo qualidade do feromônio produzido ou, talvez, na metodologia dos bioensaios.

Sabendo-se que as fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* não desenvolvem a percepção de super população nos criadouros colonizados (PILE; SIMMONDS; BLANEY, 1991; 1993), observa-se que o feromônio de agregação de oviposição tem a função de agregar um grande número de indivíduos da espécie em criadouros. Uma vez que os habitats colonizados por esta espécie são geralmente instáveis, explorar ao máximo a capacidade dos criadouros seria uma estratégia de sobrevivência da espécie. Com efeito, altíssimas densidades populacionais podem ser encontradas em criadouros de *Cx. quinquefasciatus*, como observado em estudo realizado em áreas urbanas do Recife, onde densidades médias de até 458,1 larvas e pupas por amostra (concha de 150 ml) foram registradas (SILVA-FILHA *et al.*, 2001).

Vários estudos têm demonstrado a eficácia do feromônio de oviposição sintético em aumentar o número de oviposições de fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* em sítios tratados, em laboratório (LAURENCE; PICKETT, 1985; PILE; SIMMONDS; BLANEY, 1991; BLACKWELL; DYER; HANSSON, 1993). Autores demonstraram variabilidade nas respostas ao feromônio. Por exemplo, a quantidade necessária do feromônio para induzir uma resposta positiva significativa em fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* em gaiolas foi 0.02 µg, representando 1/15 da quantidade que é produzida por uma jangada (LAURENCE; PICKETT, 1985). Trabalhos realizados em campo, no Quênia, utilizando uma formulação em comprimidos do feromônio sintético, mostraram que foram necessários 18 dias para que o mesmo apresentasse uma resposta significativa quanto à deposição de jangadas em águas limpas (OTIENO; ONYANGO, 1988).

Estudos comportamentais e eletrofisiológicos confirmaram que as respostas de fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* ao feromônio sintético e aos voláteis de água poluída aumentam significativamente a oviposição, quando as substâncias são combinadas (BLACKWELL; DYER; HANSSON, 1993).

2.7 Bactérias Entomopatógenas

Estudos realizados por Poonam; Paily; Balaraman (2002) confirmam que substâncias voláteis produzidas por bactérias entomopatogênicas do gênero *Bacillus* são atraentes para fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus*. *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis* (*Bti*) e *Bacillus sphaericus* (*Bs*) apresentaram uma atratividade comparável à do 4-metil-fenol (p-cresol) que é comprovadamente um produto atraente de oviposição para o *Cx. quinquefasciatus*.

Uma das vantagens da utilização de bactérias entomopatógenas é a sua capacidade de se reciclar nos criadouros de mosquitos. A reciclagem é caracterizada pela germinação e esporulação da bactéria em cadáveres de larvas de mosquitos, seguida da liberação de novos esporos e produção de cristais tóxicos. Este fenômeno foi, sobretudo, observado no *Bs* (DAVIDSON *et al.*, 1994; BECKER *et al.*, 1995), e pode ser de grande importância no uso desta bactéria em armadilhas de oviposição, por duas razões fundamentais: além de ser um atraente de oviposição, o *Bs* é um excelente biolarvicida para *Cx. quinquefasciatus*, prolongando a eficiência da armadilha em campo.

Outras espécies de bactérias testadas em laboratório, incluindo *Pseudomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, e *Enterobacter aerogenes* demonstraram atividade como atraentes de oviposição para *Cx. pipiens fatigans* (ROCKETT, 1987). Anteriormente, substâncias que estimulam a oviposição de *Cx. pipiens fatigans* produzidas pela cultura de *Pseudomonas receptilivora*, haviam sido isoladas dos sítios de oviposição desta espécie (IKESHOJI; UMINO; HIRAKOSO, 1967).

2.8 Infusão de Gramínea, 3-metil-indol (escatol) e 4-metil-fenol (p-cresol)

Muitas espécies de *Culex* têm preferência por ovipositar em locais que contenham água com detritos orgânicos e com alta carga de atividade microbiana (REITER, 1986). Esta característica tem sido explorada usando infusões de material orgânico fermentado como isca para fêmeas grávidas em armadilhas de oviposição (HOLCK; MEEK; HOLCK, 1988; REISEN; MEYER, 1990; MILLAR; CHANEY; MULLA, 1992).

A infusão é uma mistura complexa de substâncias orgânicas. Testadas em laboratório, infusões de gramíneas e de outros materiais vegetais, bem como excremento de animais, demonstraram ser atraentes para fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* (HAZARD; MAYER; SAVAGE, 1967; REITER; MANUEL; COLON, 1991; MILLAR; CHANEY; MULLA, 1992; DU; MILLAR, 1999). A espécie de gramínea utilizada, a concentração e o tempo de fermentação podem influenciar na sua atuação quanto à atratividade. Harzard; Mayer; Savage (1967) observaram que uma diluição de 10% de infusão de alfafa (espécie leguminosa) foi capaz de aumentar significativamente o número de jangadas quando comparado com água destilada, porém Du; Millar (1999) verificaram efeito repelente quando utilizaram infusão não diluída. Santa'Ana (2006) e colaboradores, avaliaram quatro diferentes tipos de gramíneas para uso em armadilhas de oviposição e verificaram que a atratividade para fêmeas grávidas de *Ae. aegypti* diferiu segundo a espécie de gramínea experimentada.

Infusões de gramíneas têm sido rotineiramente utilizadas em armadilhas de oviposição em programas de controle e monitoramento de mosquitos como *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (REITER; MANUEL; COLON, 1991; ALLAN; KLINE, 1995; TAKKEN; MBOERA, 2000).

Com o intuito de melhorar a atratividade das armadilhas de oviposição, um grande número de compostos químicos da infusão, com efeito no comportamento de oviposição dos mosquitos, tem sido identificado e testado em campo e laboratório (MILLAR; CHANEY; MULLA, 1992; BALCKWELL; DYER; HANSSON, 1993).

Através de cromatografia gasosa, Millar; Chaney e Mulla (1992) isolaram e identificaram compostos ativos da infusão de gramínea Bermuda como o 3-metil-indol (escatol), o 4-metil-fenol (p-cresol), o 4-etil-fenol, o fenol e indol. O 3-metil-indol foi identificado como o mais atraente da mistura dos indoles, fenóis e fenóis alcalóides identificados por Millar; Chaney; Mulla (1992). Utilizando a eletroantenografia, Du e Millar (1999) demonstraram que as antenas de fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* apresentam respostas significativas aos compostos 4-metil-fenol, naftaleno, indol + 2-undecanona e 3-metil-indol e respostas fracas ou intermediárias ao fenol, nonanal, 4-etil-fenol e 2-tridecanona. O 3-metil-indole é um produto natural também encontrado em excretas de animais, originado do aminoácido triptófano, na fermentação de matéria orgânica (BLACKWELL; DYER; HANSSON, 1993).

Testes em campo utilizando o 3-metil-indol e o feromônio de oviposição sintético em combinação, apresentaram um efeito sinérgico, ou seja, atraíram maior número de jangadas

de *Culex* em armadilhas de oviposição, quando comparado com cada um deles separadamente (TAKKEN; MBOERA, 2000).

2.9 Métodos de Controle

A aceitação do princípio de que é possível realizar o controle de insetos de forma racional do ponto de vista ecológico e econômico, resultou no desenvolvimento de pesquisas direcionadas para a busca de estratégias promissoras, ambientalmente seguras, que possam ser empregadas de forma integrada em programas de controle, como a utilização de larvicidas biológicos, de semioquímicos e de armadilhas de diferentes tipos para a redução de populações de espécies vetoras.

O controle de vetores normalmente propicia uma oportunidade para o aumento de adesão da população humana ao controle da doença e tem tido um papel importante no controle da filariose em muitos locais. Além do mais, a diminuição da densidade do vetor tem contribuído também para a manutenção da interrupção da transmissão da filariose em algumas áreas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1994).

Por mais de meio século o uso de pesticidas químicos representou o método de combate aos insetos mais empregados, e acreditou-se que através desta estratégia os insetos poderiam ser definitivamente controlados (MARGALITH; BEM-DOV, 1998). Gastam-se, atualmente, grandes volumes de recursos na tentativa de controlar insetos em todo o mundo, no entanto, o uso prolongado, ou o inadequado uso de inseticidas e defensivos agrícolas colocam em risco o ambiente natural, a fauna associada, a saúde humana e animal (RUPPERT; BARNES, 1996).

Programas de controle utilizando inseticidas organoclorados, organofosforados, piretróides ou outros tóxicos de amplo espectro em aplicações espaciais ou de efeito residual, têm sido questionados nos anos recentes devido principalmente aos gastos exorbitantes gerados pela necessidade de aplicações freqüentes, de acordo com o ciclo biológico dos insetos, assim como pela redução dos efeitos esperados, na população alvo em decorrência do desenvolvimento da resistência (CURTIS, 1994; MELO, 1998). No Brasil e no mundo os inseticidas mais utilizados em programas de Saúde foram o DDT (organoclorado) como adulticida e o Temefós (organofosforado) como larvicida. Outros inseticidas

organofosforados e piretróides têm sido utilizados no Brasil através do método de aplicação espacial a ultrabaixo volume (CONSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

O uso contínuo de inseticidas químicos convencionais tem como resultado uma crescente resistência dos insetos-alvo a estes produtos. Isso fez com que na década de 70, a Organização Mundial da Saúde, recomendasse a busca de medidas alternativas de controle dos insetos vetores e pragas. Assim ressurgiu o interesse pelo uso dos chamados inimigos naturais, ou seja, parasitas, predadores e competidores, como agentes biológicos de controle, em programas integrados (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1970; FEDERICI, 1995).

No grupo dos patógenos, os microorganismos constituem-se nos mais promissores agentes para uso em programas de controle. Entre estes organismos patógenos para insetos, os fungos, os vírus e principalmente as bactérias chamam a atenção de pesquisadores e industriais em todo o mundo (WEISER, 1991).

Os fungos foram os primeiros entomopatógenos a serem utilizados no controle microbiano de insetos. Aproximadamente 80% das doenças em insetos têm como agentes etiológicos fungos, sendo estes pertencentes a 90 diferentes gêneros e mais de 700 espécies (WEISER, 1991; ALVES, 1998). No Brasil já foi relatada a presença dos seguintes fungos entomopatogênicos para dípteros: *Entomophthora* spp., com ocorrência epizoótica em *Musca domestica* e *Metarhizium anisopliae*, ambos com ocorrência enzoótica em diversas espécies de dípteros (ALVES, 1998).

Diferentes tipos de vírus têm sido encontrados causando condições patológicas em insetos. Estes agentes virais podem afetar tanto insetos úteis ao homem como insetos vetores de doenças e pragas. A Família Baculoviridae engloba os principais vírus entomopatogênicos usados como bioinseticidas contra dípteros, himenópteros, tricópteros, tisanuros, homópteros, lepidópteros, crustáceos e aracnídeos (ALVES, 1998).

Entre os microorganismos patógenos para insetos, as bactérias têm merecido o maior destaque devido ao seu modo de ação e sua especificidade para diferentes ordens de insetos (MARGALITH; BEM-DOV, 1998). As principais espécies com atividade larvicida contra mosquito são: *Bacillus sphaericus* (Bs); *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis* (Bti); *B. thuringiensis* sorovar *medellin* (Btm); *B. thuringiensis* *jegathesam* (Btj); *Brevibacillus laterosporus* e *Clostridium bifermentans* sorovar *malaysia*. Destas, Bs e Bti são as mais estudadas e têm sido utilizadas em larga escala. Todas estas bactérias são produtoras de toxinas que agem por ingestão em larvas de algumas espécies de dípteros.

O espectro de ação do *Bs* é restrito a larvas de mosquitos (DAVIDSON, 1990), especialmente espécies do complexo *Cx. pipiens*, que são as mais sensíveis. O *Bs* é ativo contra várias outras espécies de *Culex*, *Anopheles*, *Psorophora*, *Mansonia* e algumas espécies do gênero *Aedes* (KALFON *et al.*, 1984; BAUMANN *et al.*, 1985). Entre os anofelinos, *Anopheles gambiae* e *An. stephensi* são as espécies mais sensíveis. O *Cx. cinereus*, competidor natural do *Cx. quinquefasciatus*, é refratário ao *Bs* (NICOLAS; DOSSOU-YOVO, 1987), assim como o *Ae. aegypti* e os simulídeos (DAVIDSON; YOUSTEN, 1990).

A inocuidade do *Bs* para a fauna não alvo tem sido comprovada em estudos sobre um grande número de organismos, incluindo macroinvertebrados filtradores e não-filtradores, assim como anfíbios e peixes (GARCIA; DES ROCHERS; TOZER, 1980; MULLA *et al.*, 1984). A eficácia do *Bs* como larvicida para controle de *Cx. quinquefasciatus*, e a inocuidade para populações não-alvo, têm sido confirmadas em programas de controle desenvolvidos em diversas partes do mundo (REGIS *et al.*, 2001).

O *Bacillus thuringiensis* apresenta diversas sorovariiedades, as quais podem ser tóxicas para insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera. Na família Culicidae, diversos gêneros são susceptíveis a este patógeno, entre eles *Culex*, *Anopheles*, *Aedes*, *Psorophora* e *Mansonia* (DE BARJAC *et al.*, 1988).

Nas últimas décadas, os larvicidas biológicos *Bs* e *Bti* foram utilizados em amplos programas e em testes de larga escala, em diversas regiões do mundo, apresentando resultados positivos tanto em regiões temperadas, para conter o incômodo causado pelos mosquitos, como em regiões tropicais, para interromper o ciclo de transmissão de doenças.

No final da década de 80, o *Bs* foi utilizado pela primeira vez em um programa de controle de *Cx. pipiens*, no Sul da França (THIERY *et al.*, 1996). Na China, o *Bs* tem sido utilizado para o controle de larvas de *Cx. quinquefasciatus* em mais de 40 cidades e vilas desde a década de 90 (YUAN *et al.*, 2000).

No Brasil, a eficácia de *Bs* foi confirmada através de testes em larga escala, em duas áreas situadas no Grande Recife (Coque e Jardim Brasil). No Coque, o programa de controle do vetor da filariose linfática, *Cx. quinquefasciatus* abrangeu uma área de 1,2 Km², onde cerca de 3000 criadouros foram tratados regularmente durante 27 meses. Nesta área, o uso do *Bs* foi integrado a outras medidas de controle, incluindo o manejo ambiental, vedação de fossas e caixas de inspeção, aplicação de bolinhas de isopor em fossas, com participação comunitária. Em Jardim Brasil, o *Bs* foi aplicado como única medida de controle durante 18 meses, em aproximadamente 2.500 criadouros distribuídos em uma área de 5,7 Km². Os resultados obtidos nas duas áreas foram satisfatórios, sendo o controle integrado considerado mais

adequado, para as condições ambientais encontradas naquelas áreas (REGIS *et al.*, 1995; 1996; 2000).

Não há registros de desenvolvimento de resistência ao *Bti* em populações de culicídeos como *Ae. vexans* e *Cx. pipiens* submetidas a tratamentos consecutivos a este agente de controle por mais de 15 anos. Fatores bióticos e abióticos, como estágio de desenvolvimento, comportamento alimentar da espécie-alvo, densidade populacional nos criadouros, aspectos físico-químicos da água e fatores climáticos exercem um papel relevante na ação larvicida deste entomopatógeno (BECKER, 1993, 2003), portanto muitas vezes o *Bs* se adequa melhor a determinados tipos de criadouros no tratamento dos culicídeos sensíveis a este agente. O uso do *Bti* foi incorporado ao Programa Nacional de Combate a Dengue (PNCD) em 2001, para substituir o temephos nas localidades nas quais foram detectadas populações do *Ae. aegypti* resistentes a este organofosforado (LIMA *et al.*, 2003).

2.10 Tipos de Armadilhas

Armadilhas de diferentes modelos têm sido rotineiramente utilizadas como instrumentos para estimar a densidade populacional de insetos vetores, julgar a necessidade de aplicação de ações de controle e avaliar seu impacto.

2.10.1 Armadilhas para captura de adultos

A armadilha mais utilizada para captura de várias espécies de mosquitos adultos é o modelo CDC com atração luminosa, que se baseia na atração exercida por uma fonte luminosa (luz incandescente ou ultravioleta) (SERVICE, 1993). Esta armadilha foi desenvolvida pelo CDC. (Centers for Disease Control, E.U.A.), com o objetivo de facilitar a coleta de mosquitos com um aparelho portátil. Este instrumento é utilizado à noite, quando equipado com uma fotocélula (LCS-2) opcional disponível, cujo objetivo é acionar a lâmpada e o sistema de ar que está ligado ao mecanismo para abrir a passagem de acesso dos mosquitos capturados a uma sacola coletora de mosquitos. Este aparelho dispõe de uma bateria de 6 Volts, podendo opcionalmente ser ligado à corrente elétrica (Figura 7). Algumas

de suas variantes são CDC com luz incandescente, com luz negra e a com CO₂. A armadilha CDC com luz negra (UV) tem sido utilizada para atrair grande número de espécies de mosquitos, como também culicídeos e flebotomíneos.

A armadilha New Jersey (Agricultural Experiment Station, New Jersey, U.S.A) é outro modelo de armadilha utilizada em programas de monitoramento de populações de mosquitos em várias partes do mundo (SERVICE, 1993). O princípio de atratividade desta armadilha baseia-se na luz, podendo ser também utilizado o CO₂ como atraente. Reisen *et al.* (2000) em estudos a campo, utilizando a armadilha com CO₂ verificaram um aumento significativo na captura de *Cx. tarsalis*, embora poucas fêmeas ingurgitadas de sangue ou grávidas tenham sido coletadas.

Testes comparando as armadilhas de luz New Jersey, CDC-miniatura com luz incandescente e CDC-miniatura com luz negra, para captura de adultos, revelaram que a atratividade ao *Cx. quinquefasciatus* está relacionada à intensidade luminosa e ao tipo de luz emitida, e demonstraram que a armadilha CDC-miniatura com luz negra foi o equipamento mais eficiente e seletivo para capturar adultos de *Cx. quinquefasciatus* (OLIVEIRA, 1996).



Figura 7 - Armadilha miniatura do tipo CDC (à esquerda) e New Jersey.
Fonte: Centers for Disease Control (2007)

Outros novos modelos de armadilhas têm sido desenvolvidos, como a armadilha Counterflow geometry (CFG), Electric nets (ENT) e Standard Professional (ABS PRO) que utilizam atraentes como CO₂ e octenol que aumentam a captura de diferentes espécies de mosquitos. Mboera *et al.* (2000), em teste a campo com armadilhas CDC, CFG e ENT na Tanzânia demonstraram que a armadilha CFG com CO₂ foi responsável por um maior

número de coleta de várias espécies de mosquitos, incluindo *An. gambiae* e *Cx. quinquefasciatus*. O tipo de iluminação acoplada aos vários modelos de armadilhas CDC existentes e as diferentes intensidades de luz emitidas podem resultar numa maior atração para determinar espécie e assim direcionar uma maior captura do inseto-alvo. As armadilhas convencionais de luz são moderadamente eficientes para amostragem de populações de mosquitos, mas com baixa representação para coleta de *Culex* (TSAI *et al.*, 1989).

Para o monitoramento de arboviroses, as armadilhas convencionais com luz não são muito indicado, pelo fato de coletarem maiores percentagens de mosquitos não alimentados do que fêmeas alimentadas ou grávidas que possam estar infectadas (REISEN; MEYER, 1990).

2.10.2 Armadilha para captura de fêmeas grávidas de *Culex*

De Meillon; Sebastian; Khan (1967) foram os primeiros a construir uma armadilha para atrair fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus*. Essa armadilha constava de um local de oviposição artificial e apenas o número de jangadas ovipositadas era observado. Posteriormente foi desenvolvida outra armadilha para captura de mosquitos adultos, que consistia de um tanque plástico (parte inferior) com uma armadilha tipo CDC na parte central superior. No tanque era adicionada água mais atraente para oviposição (SUGENER; HELSON, 1978).

Essas armadilhas foram substituídas pela CDC Gravid Trap (Figura 8) desenvolvida por Reiter (1983), que tem sido rotineiramente utilizada para coletar fêmeas grávidas de *Culex*. A armadilha possui uma parte inferior, um recipiente plástico contendo água ou infusão de gramínea e na parte superior um sensor infravermelho que aciona automaticamente um aspirador, que suga os insetos para dentro de outro recipiente. Este aparelho requer uma bateria de 6 Volts, podendo opcionalmente ser ligado à corrente elétrica. Reiter (1986) demonstrou a eficiência desta armadilha para coleta de fêmeas infectadas, comparando-a com a armadilha luminosa CDC-miniatura.

Em outro modelo desenvolvido por Reiter (1987) a partir do modelo existente para captura de fêmeas grávidas, é colocado um atraente de oviposição, um instrumento de sucção que é acionado na presença do mosquito, uma caixa superior, a caixa de coleção. O orifício da entrada do instrumento da sucção é posicionado uma polegada acima da superfície do atraente

de oviposição. As fêmeas grávidas atraídas para ovipositar no reservatório são sugadas e levadas para a caixa da coleção (Figura 8).

As armadilhas para fêmeas grávidas utilizando infusão como atraente tem provado ser uma ferramenta seletiva para o monitoramento da atividade de oviposição (REITER, 1983; 1986). As armadilhas com atraente podem se tornar espécie-específica, dependendo do tipo da infusão, da característica física da armadilha e do local onde que são instaladas (BENTLEY; DAY, 1989).

Ritchie (1984) demonstrou que quando as armadilhas CDC miniatura com e sem luz foram acrescidas de atraentes de oviposição como infusão de grama e/ ou álcool isopropil, o número de fêmeas grávidas coletadas foi significativamente maior do que nas armadilhas sem atraentes. Mboera *et al.* (1999) demonstraram também, em testes na Tanzânia, que quando se utiliza a armadilha CFG, acrescida de feromônio sintético de oviposição e / ou infusão de gramínea, o número de fêmeas coletadas é maior do que no controle.



Figura 8 - CDC Gravid Trap (esquerda) e Box Gravid Trap (direita).
Fonte: Centers for Disease Control (2007).

2.10.3 Armadilha para coleta de jangadas de *Cx. quinquefasciatus* BR-OVT

Este modelo foi desenvolvido levando-se em considerações estudos prévios sobre a escolha do sítio de oviposição, local com pouca luminosidade e ausência de vento (BARBOSA, 1996). A armadilha de oviposição BR-OVT é formada por uma caixa de

polietileno na cor preta, medindo 13 cm de altura, 35 cm de largura e 24 cm de profundidade, com uma abertura central de 16 x 9 cm na face superior. Em seu interior é utilizado um recipiente preto, com 21 cm de diâmetro e 3,50 cm de altura, com capacidade para 800 ml, no qual é colocado a infusão de gramínea e / ou outros atraentes sintéticos de oviposição, além de larvicida biológico *Bs* ou *Bti*, para que a armadilha não se torne um criadouro (Figuras 9 e 10).

A armadilha reproduz algumas características do ambiente dos sítios preferenciais de oviposição das fêmeas grávidas do *Cx. quinquefasciatus* como fossas: locais escuros, ao abrigo de vento, com água rica em matéria orgânica, com atividade bacteriana produzindo voláteis de odor forte.

Avaliada em escala limitada em três bairros de Olinda, a BR-OVT revelou-se capaz de retirar do ambiente quantidades significativas de ovos de *Culex*. No melhor resultado observado (8,9 jangadas/dia/armadilha) cerca de 1.000 ovos foram coletados por dia por armadilha durante 18 dias, ou seja, dependendo da densidade populacional do mosquito, uma BR-OVT teria um potencial de coletar cerca de 30.000 ovos em um mês, no interior de uma residência. Quando colocada em competição com armadilha CDC-Gravid Trap utilizando a mesma infusão, um número 2,5 vezes maior de jangadas foi coletado na BR-OVT, do que o número de fêmeas grávidas coletadas (BARBOSA *et al.*, 2007). Na hipótese de uma densidade populacional da ordem de 20 a 60 adultos de *Cx. quinquefasciatus* por noite, observado em Recife (REGIS *et al.*, 1995, 2000) a coleta de 9 jangadas por dia em uma armadilha, poderá ser considerada uma quantidade significativa.

A BR-OVT mostrou-se eficiente como sítio atrativo para oviposição de fêmeas de *Cx. quinquefasciatus*, tanto nos testes em laboratório como em condições de campo (BARBOSA, 2001). Esta armadilha apresenta, além disto, a vantagem de dispensar o uso de energia elétrica e de ser um instrumento extremamente simples, de fácil construção e manejo. Lima (2005) em teste a campo com armadilha para captura de fêmeas grávidas, utilizou a BR-OVT como um instrumento para detectar a presença de *Cx. quinquefasciatus*, em casas indicadas como negativas pela armadilha testada, e constatou a grande sensibilidade da armadilha BR-OVT.

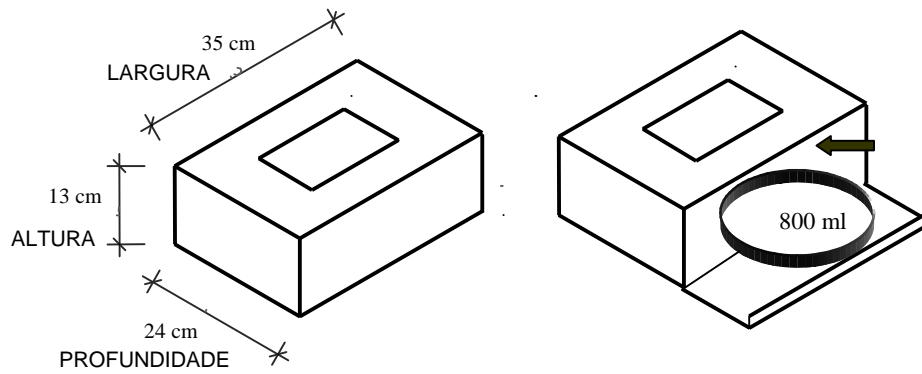


Figura 9 - Desenho esquemático da armadilha de oviposição BR-OVT



Figura 10 - Armadilha de oviposição BR-OVT.
Fonte: Barbosa (2007).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

GERAL:

Aperfeiçoar e avaliar a eficiência de um instrumento de amostragem populacional (armadilha de oviposição) para uso no monitoramento e controle da densidade populacional de *Culex quinquefasciatus*.

ESPECÍFICOS:

- Comparar a eficácia da armadilha de oviposição BR-OVT para coleta de jangadas com a eficácia de uma armadilha para fêmeas grávidas.
- Analisar, em larga escala, o potencial desta armadilha, para monitoramento da densidade populacional de *Culex quinquefasciatus*.
- Averiguar efeitos de larvicidas biológicos a base de *Bacillus sphaericus* e de *Bacillus thuringiensis israelensis* sobre a escolha do sítio de oviposição em laboratório, visando avaliar seu potencial para uso na armadilha de oviposição BR-OVT.
- Determinar a campo a atividade de um novo atraente químico (J1) para uso na armadilha BR-OVT.
- Avaliar a melhor localização, no espaço domiciliar, para instalação da BR-OVT.
- Avaliar a aceitação da armadilha pela população, bem como as facilidades e limitações operacionais para seu uso em larga escala.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A armadilha de oviposição BR-OVT (Figura 11) foi avaliada quanto a sua eficiência para coleta de ovos de *Cx. quinquefasciatus* e quanto à factibilidade operacional de seu uso, em áreas urbanas com alto risco ambiental para transmissão da filariose. Esta avaliação em campo foi precedida de testes em laboratório, visando selecionar produtos atraentes bem como larvicida biológico para uso na armadilha.



Figura 11 - Armadilha de oviposição BR-OVT.
Fonte: Barbosa (2007).

4.1 Experimentos em laboratório

Colônia de *Culex quinquefasciatus* (linhagem Recife) e bioensaios

Testes prévios para avaliação de atraentes de oviposição foram realizados no laboratório do Departamento de Entomologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, tendo como objetivo identificar os melhores produtos e doses adequadas para uso em campo.

Para os testes em laboratório, jangadas do *Cx. quinquefasciatus* foram obtidas da colônia mantida no insetário do Deptº de Entomologia do Centro da Pesquisa Aggeu Magalhães - FIOCRUZ em Recife, com fotoperíodo de 12: 12 h, temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2$ e

umidade relativa de 70-89 %. As larvas foram alimentadas com ração para gato Whiskas®. Pupas machos e fêmeas foram separadas e colocadas em gaiolas (30 x 22 x 20 cm). Após a emergência os adultos eram alimentados com solução de açúcar a 10 % e três dias depois, as fêmeas eram alimentadas com sangue de *Gallus, sp.* Cinco a seis dias depois eram introduzidas nas gaiolas, para realização dos bioensaios.

Os bioensaios foram realizados em câmara de escolha, utilizando uma gaiola com dimensões de 100 x 80 x 70 cm (Figura 12). No interior da gaiola foram colocados duas armadilhas BR-OVT (teste e controle) ou dois recipientes pretos com capacidade para 800 ml (teste e controle) distando 80 cm. Cem ou cinquenta fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* foram introduzidas na gaiola ao entardecer e na manhã seguinte eram contadas as jangadas postas nos dois recipientes e as fêmeas retiradas. Seis ou oito repetições foram realizadas por experimento. A cada repetição era colocado um novo lote de fêmeas grávidas.

4.1.1 Infusão de gramínea (*Eleusine indica*) (IG) como atraente de oviposição

Nos bioensaios em laboratório e nos experimentos a campo utilizou-se a infusão da gramínea *Eleusine indica* (Poaceae) não diluída como atraente de oviposição, seguindo a metodologia utilizada por Barbosa (2001).

A infusão foi preparada em botijões (10 L) adicionando 150 g de grama fresca em 10 litros de água de torneira, permanecendo em repouso por sete dias à temperatura ambiente. Nas armadilhas instaladas em campo a infusão era trocada a cada 15 dias. Em estudo anterior foi observado que as infusões de 5, 10, 15 e 20 dias funcionam como potente atraente para fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus*, e que a infusão de 15 dias apresentava um efeito maior na atratividade e/ou estímulo à oviposição (BARBOSA, 2001).



Figura 12 - Gaiola de alumínio e tela de nylon (100 x 80 x 70 cm) utilizada nos bioensaios em laboratório.

Fonte: Barbosa (2007).

4.1.2 Avaliação de bactérias entomopatógenas para uso na BR-OVT

O uso de larvicidas à base de bactérias entomopatógenas em armadilhas de oviposição deve ser precedido de experimentos visando verificar se a presença destes entomopatógenos interfere na escolha do sítio de oviposição. Para isto, o *Bacillus sphaericus* (*Bs*) e o *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) aplicados em água, infusão de gramínea ou em associação com outros atraentes de oviposição foram testados em bioensaios em câmara de escolha.

4.1.2.1 *Bacillus sphaericus* (*Bs*)

O *Bs* cepa 2362, sob a forma de cultura total ou de sobrenadante, preparado pela BIOTICOM, foi testado em uma gaiola (100 x 80 x 70 cm), contendo 2 recipientes pretos (800 ml cada) como opções para oviposição, utilizando um lote de 100 fêmeas grávidas em cada experimento, com 6 repetições:

Experimento 1:

- Recipiente a: caldo fermentado de *Bs* ou sobrenadante (1.000, 2.000, 3.000 ou 6.000 ppm) em água declorada.
- Recipiente b: água declorada.

Experimento 2:

- Recipiente a: caldo fermentado de *Bs* (2.000 ou 6.000 ppm em água declorada).
- Recipiente b: IG.

Experimento 3:

- Recipiente a: caldo fermentado de *Bs* (2.000 ou 6.000 ppm em IG).
- Recipiente b: IG.

4.1.2.2 *Bacillus thuringiensis israelensis* (VectoBac-CG[®]) (*Bti*)

Para este teste foram realizados bioensaios em câmara de escolha, com 8 repetições, utilizando um lote de 50 ou 100 fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* por repetição:

Experimento 1:

- Recipiente a: 0,45 mg/l do Vectobac CG[®] em 800 ml de água declorada.
- Recipiente b: 800 ml de água declorada.

Experimento 2:

- Recipiente a: 0,45 mg/l do Vectobac CG[®] em 800 ml de água declorada.
- Recipiente b: 800 ml de IG.

Experimento 3:

- Recipiente a: 0,45 mg/l do Vectobac CG[®] em 800 ml de IG.
- Recipiente b: 800 ml de IG.

4.2 Experimentos a Campo

Para a execução dos experimentos a campo, foi estabelecido contato com os gestores do Plano de Controle Integrado do Vetor da Filariose na Cidade do Recife. Pelo acordo de

cooperação, os testes foram realizados em áreas selecionadas no Distrito Sanitário V. O projeto foi submetido e aprovado pelo Conselho de Ética do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (Registro no CEP/CPQAM/FIOCRUZ: 01/03) (Anexo A).

Parâmetros definidos para a avaliação da armadilha BR-OVT a campo:

- Quantidade de jangadas coletadas/armadilha/dia.
- Otimização funcional pelo uso de atraentes.
- Competitividade com sítios de oviposição existentes no ambiente.
- Tempo investido para instalação da armadilha e recuperação das coletas a campo.
- Facilidade e limitações operacionais
- Aceitação pelo público.
- Eficiência da armadilha no intra e no peridomicílio.

4.2.1 Áreas de Estudo:

Como áreas de estudo foram escolhidas os bairros Mustardinha e Caçote (Figura 13) que apresentam ocorrência de *Cx. quinquefasciatus* o ano inteiro (Fonte: CVA/ Secretária de Saúde do Recife). Estas áreas apresentam precárias condições sanitárias, onde é possível observar sistema de canalização de esgotamento do tipo valetas e canaletas, bem como fossas em condições inadequadas.

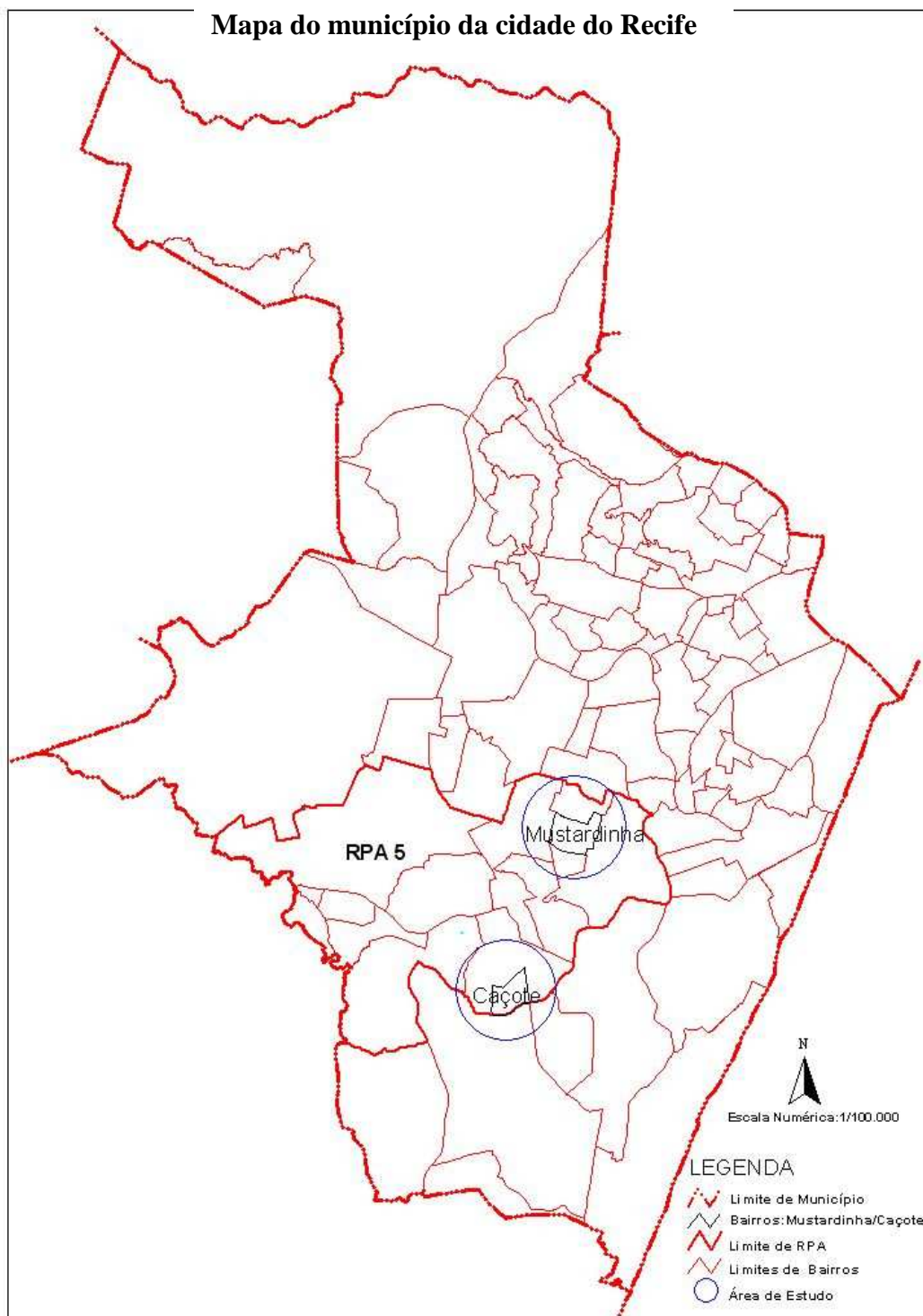


Figura 13 - Mapa do município da cidade do Recife, indicando a localização dos bairros Mustardinha e Caçote, localizados na Região Política Administrativa 5 (RPA 5).

Fonte: Atlas Municipal - Desenvolvimento Humano no Recife (2005).

4.2.1.1 Área 1: Bairro do Caçote (Figura 14)

O bairro do Caçote integra a 5ª Região Político-Administrativa do Recife (RPA-5.1) que tem um total de 16 bairros. Está situado próximo aos bairros de Areias, Ipsep e Ibura. Segundo o Censo 2000 (IBGE). O bairro possui as seguintes características:

- Renda média: R\$ 304,15;
- Área Territorial: 45,9 hectares;
- População Residente (2000): 8.427 habitantes
- Domicílios Particulares Permanentes: 2.173;
- Densidade: Demográfica (Habitação/Hectare): 183,70;
- Domiciliar (Habitação/Domicílio): 3,88 ;
- Quantitativo de Imóveis por Uso: Imóveis Residenciais: 659;
Imóveis não Residenciais: 42;
Terrenos: 406.

4.2.1.2 Área 2: Bairro da Mustardinha (Figura 15)

O bairro da Mustardinha integra a 5ª Região Político-Administrativa do Recife (RPA-5.2), a Sudoeste da cidade. Está localizado entre San Martin, Bongí, Afogados e Mangueira. Conforme dados do Censo IBGE, em 2000. O bairro possui as seguintes características:

- Renda média: R\$ 407,43;
- Área Territorial: 62,0 hectares
- População Residente (2000): 11.693 habitantes
- Densidade: Demográfica (Habitação/Hectare): 188,48
Domiciliar (Habitação/Domicílio): 3,88
- Quantitativo de Imóveis por Uso: Imóveis Residenciais: 2.197
Imóveis não Residenciais: 204
Terrenos: 2.076

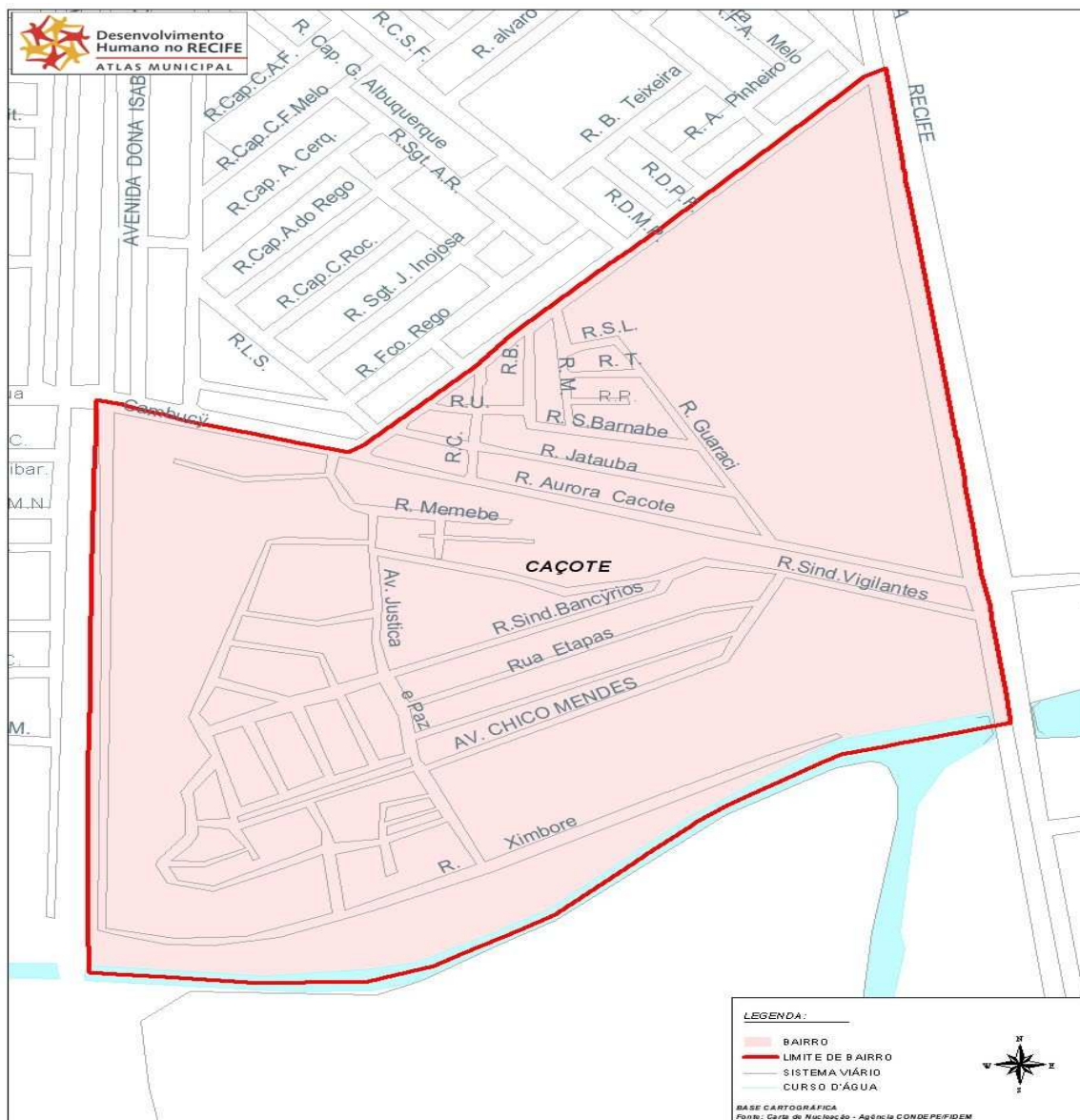


Figura 14 - Mapa legendado do bairro do Caçote.

Fonte: Atlas Municipal - Desenvolvimento Humano no Recife (2005).

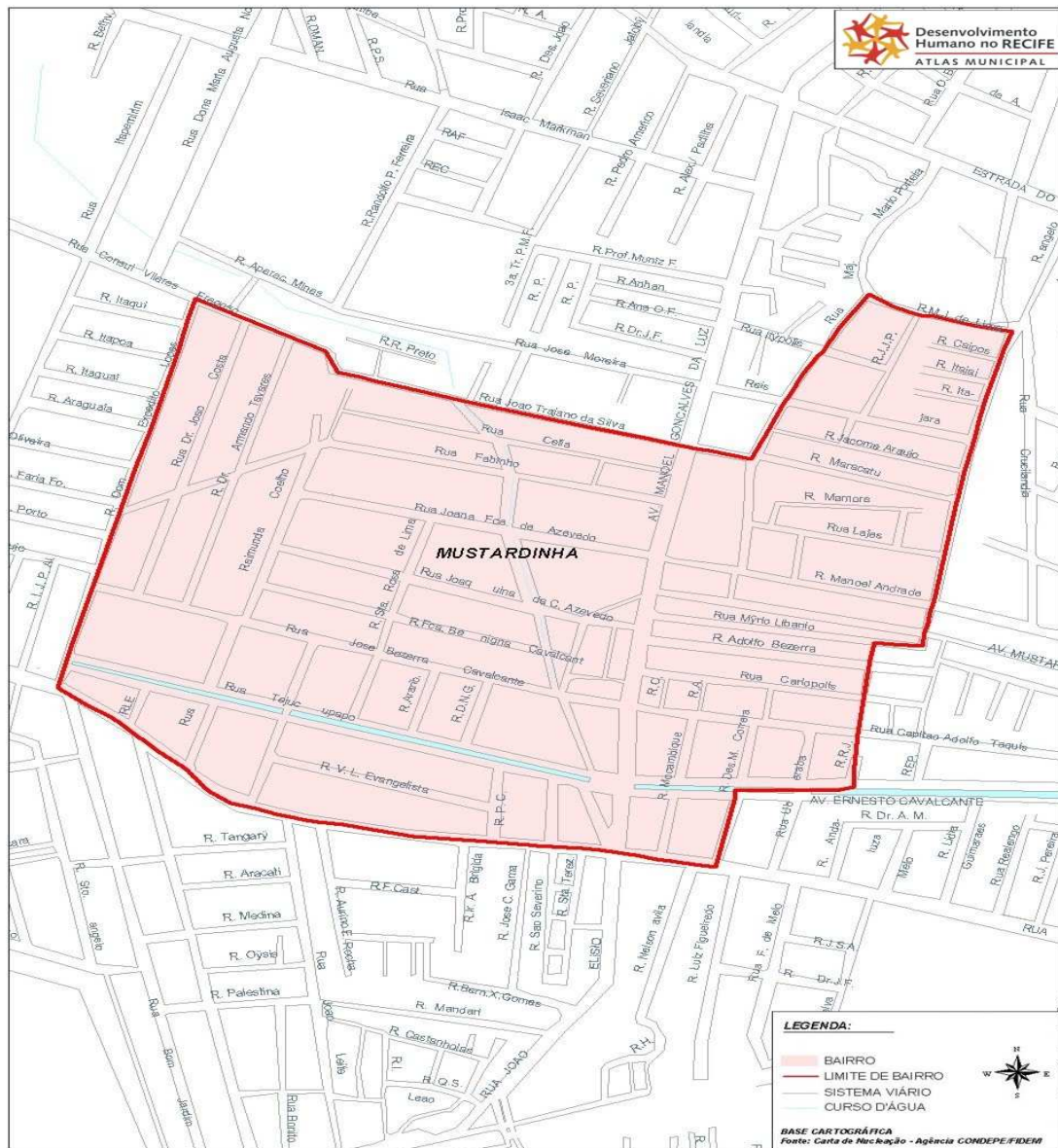


Figura 15 - Mapa legendado do bairro da Mustardinha.
 Fonte: Atlas Municipal - Desenvolvimento Humano no Recife (2005).

4.2.2 Avaliação do desempenho da BR-OVT segundo a localização no espaço domiciliar

Um teste piloto foi realizado no bairro do Caçote para avaliar o desempenho da BR-OVT no intra e no peridomicílio, comparando com a atividade de oviposição em sítios naturais de oviposição. Foram selecionados e cadastrados 11 imóveis residenciais, todos com fossa no quintal (Figura 16, Apêndice A). Após assinatura do termo de consentimento pelos moradores (Apêndice B), os testes foram realizados nos períodos de agosto a novembro de 2003, e de junho a setembro de 2004. As armadilhas foram instaladas no intradomicílio e/ ou no peridomicílio, de forma alternada ou simultaneamente.

As armadilhas BR-OVT contendo infusão não diluída e *Bs* foram instaladas próximo à fossa, no quintal de 11 residências (1 armadilha/casa) (Figura 17). Ao final de 40 dias, as armadilhas foram transferidas para o intradomicílio, permanecendo por mais 40 dias. Em um terceiro momento 2 armadilhas foram instaladas simultaneamente, uma no intradomicílio e outra no peridomicílio das 11 residências.

O larvicida biológico Vectolex® à base de *Bs* foi aplicado nas armadilhas na concentração de 0,5 mg/L. A cada três dias, as jangadas de *Cx. quinquefasciatus* ovipositadas nas armadilhas de cada imóvel eram contadas e descartadas, durante os 80 dias do experimento.

Para a contagem de jangadas depositadas nas fossas foram coletadas, a cada 2 dias, nove amostras com conchas de 300 ml por fossa, nos momentos de avaliação das armadilhas. Os dados coletados a cada visita eram registrados em um boletim de campo (modelo em apêndice C).

4.2.3 Avaliação da armadilha por operadores e residentes

Ao término dos testes a campo descritos em 4.2.2, foi aplicado um questionário para avaliação das armadilhas BR-OVT pelos moradores e pelos agentes que trabalharam na pesquisa.

As perguntas dirigidas aos operadores (apêndice D) visaram avaliar aspectos práticos operacionais, como tempo necessário para instalação da armadilha e para recuperação das coletas, bem como identificar facilidades e dificuldades na utilização da BR-OVT. O objetivo

das questões dirigidas aos residentes foi avaliar a aceitação da armadilha e a opinião dos moradores sobre este instrumento (modelo em apêndice E).



Figura 16 - Aspectos de fossas encontradas em residências onde o experimento foi realizado no bairro do Caçote, Recife-PE.

Fonte: Barbosa (2007).



Figura 17 - Armadilha BR-OVT instalada na proximidade de uma fossa, em três residências do Caçote, Recife-PE.

Fonte: Barbosa (2007).

4.2.4 Avaliação da armadilha BR-OVT versus armadilha para fêmeas grávidas (CDC-Gravid Trap)

A eficiência da armadilha de oviposição BR-OVT para atrair fêmeas grávidas foi avaliada por comparação do número de jangadas depositadas, com o número de fêmeas capturadas na armadilha para fêmeas grávidas CDC Gravid Trap, modelo 1712, John Hock Company (Figura 18). A mesma infusão de gramínea, tratada com a mesma concentração de *Bti* foi utilizada nos dois tipos de armadilhas, que foram instaladas, distando aproximadamente 2 m uma da outra no peridomicílio, e a proximadamente 1,50 m no intradomicílio (1 par/imóvel). O experimento foi conduzido em 2 casas do bairro da Mustardinha, Recife, durante 5 meses (julho a dezembro de 2006). A cada dois dias, jangadas ovipositadas nas BR-OVT eram coletadas e descartadas. Os sacos de coleta das Gravid Trap eram substituídos diariamente, para contagem das fêmeas capturadas. Os dados coletados a cada visita eram registrados em um boletim de campo (modelo em apêndice F).

Casa I: Localizada na Rua Jácome de Araújo, nº. 56.

Armadilhas instaladas no peridomicílio:

- 1 BR-OVT x 1 Gravid Trap

Casa II: Localizada na Rua Lajes, nº. 192.

Armadilhas instaladas no intradomicílio:

- 1 BR-OVT x 1 Gravid Trap



Figura 18 - Armadilha BROVT (à esquerda) e armadilha CDC Gravid Trap.
Fonte: Barbosa (2007).

4.2.5 Avaliação da BR-OVT com atraente químico de oviposição (J1)

Um atraente químico de oviposição para fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* desenvolvido pelo Dr. Walter Leal (Universidade da Califórnia, Davis, USA) foi avaliado a campo, na BR-OVT. O produto identificado pela sigla J1, foi selecionado entre outros candidatos testados previamente (em fase de elaboração)¹. O desempenho do produto-teste, identificado pela sigla J1, foi comparado com infusão (referência) e com água (controle).

Para este experimento foram selecionadas 10 residências já cadastradas no bairro da Mustardinha. Um conjunto de 3 armadilhas BR-OVT com os 3 tratamentos foi instalado no peridomicílio de cada casa, à distância aproximadamente de 1,50 m entre elas. As armadilhas foram tratadas com *Bti* como larvicida, na mesma concentração utilizada nos experimentos anteriores. A cada dois dias era feita a leitura e retirada das jangadas ovipositadas nas 3 armadilhas. Os testes foram realizados durante 30 dias, entre os meses de agosto e setembro de 2006. A metodologia de aplicação do produto usada foi à mesma empregada pelo Dr. Walter Leal e colaboradores em testes utilizando armadilhas para captura de fêmeas grávidas (Box Gravid Trap). O atraente foi aplicado utilizando um tubo microcapilar (100 µl) diretamente na água do recipiente. Todos os dados coletados a cada visita eram registrados em um boletim de campo (modelo em apêndice G).

Desenho experimental:

Armadilha 1: 100 µl do atraente (J1) em 800 ml de água de torneira + *Bti* (0,45 mg/L do Vectobac CG[®])

Armadilha 2: 800 ml de IG + *Bti* (0,45 mg/L do Vectobac CG[®])

Armadilha 3: 800 ml de água torneira + *Bti* (0,45 mg/L do Vectobac CG[®])

4.2.6 Avaliação do larvicida *Bti* sob condições de campo

Para avaliar a atratividade do larvicida à base de *Bti* nas armadilhas em campo, foram selecionadas 10 residências no bairro da Mustardinha. Foram instaladas 2 armadilhas BR-OVT simultaneamente distando entre si aproximadamente 1,50 m, no peridomicílio (duas

¹ (Leal, W., Barbosa, R.M.R. e colaboradores, dados não publicados)

armadilhas/casa). Os testes foram realizados em um período de 45 dias (dezembro de 2006 a janeiro de 2007) A cada dois dias era feita à leitura e descarte das jangadas ovipositadas nas armadilhas. Todos os dados coletados a cada visita eram registrados em um boletim de campo (modelo em apêndice H).

Desenho experimental

Armadilha 1: 0,45 mg/l de Vectobac CG[®] em 800 ml de IG

Armadilha 2: 800 ml de IG.

4.2.7 Avaliação em larga escala do potencial da BR-OVT para coleta de ovos

Um experimento em larga escala, com duração de 12 meses, foi desenvolvido em uma área do bairro da Mustardinha, abrangendo 3 quarteirões que somam 287 imóveis. Foram cadastradas 225 residências e um termo de consentimento foi assinado pelos moradores, permitindo livre acesso a suas residências. Em cada residência foi instalada uma BR-OVT contendo infusão de gramínea adicionada de larvicida à base de *Bs* (Vectolex[®] na concentração de 0,5 mg/L). As armadilhas foram colocadas preferencialmente no intradomicílio quando obtida a concordância do morador, ou alternativamente no peridomicílio.

O experimento foi conduzido de 19 de janeiro a 31 de dezembro de 2006. A cada 2 dias as jangadas de *Cx. quinquefasciatus* depositadas nas armadilhas eram contadas e retiradas, e os dados registrados em boletins (modelo em apêndice I).

Para analisar a densidade populacional do *Cx. quinquefasciatus* na área de intervenção e controle, foram obtidos índices entomológicos pelo CVA/ Secretária de Saúde do Recife. Em cada uma destas áreas (intervenção e controle) o CVA mantém 2 estações de coleta mensal de adultos de *Cx. quinquefasciatus* utilizando armadilhas luminosas CDC-miniatura (luz incandescente). Em cada estação-residência uma armadilha luminosa é instalada durante uma semana cada mês. A distância entre estações de coleta de adultos é de aproximadamente 200 m.

Para verificar se existiria outra espécie de *Culex* colonizando as armadilhas, foram realizados testes através da técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase). Estes testes foram realizados no Departamento de Entomologia da Universidade da Califórnia em colaboração com o Dr. Walter Leal. Foram enviadas 3 amostras em tubos de epemdof

contendo 300 mosquitos adultos coletados pela armadilha CDC-Gravid Trap, no mês de agosto de 2006.

4.3 Análises Estatísticas

As diferenças entre o tratamento e o controle em todos os experimentos foram analisadas usando o teste bilateral de Wilcoxon (comparação entre os pares). Valores de $p \leq 0.05$ foram considerados significantes (SIEGEL, CASTELLAN, 1988).

O índice de Atividade de Oviposição (IAO) foi estimado, de acordo com Kramer; Mulla (1979). No IAO, que vai de -1 a $+1$, os valores positivos indicam uma atração ou uma estimulação à oviposição, enquanto os valores negativos indicam uma repelência ou ação deterrente à oviposição. De acordo com Hwang *et al.* (1982), os valores positivos iguais ou superior a 0.3 indicam que o material é atraente, os valores negativos ou inferiores a $0,3$ indicam uma repelência.

$$\text{IAO} = \frac{N_T - N_C}{N_T + N_C}$$

N_T = n°. de jangadas ovipositadas no recipiente teste

N_C = n°. de jangadas ovipositadas no recipiente controle

RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação de bactérias entomopatógenas para uso na BR-OVT.

5.1.1 *Bacillus sphaericus*

Na série de bioensaios para investigar influência do *Bs* na escolha do sítio de oviposição foram testadas inicialmente diferentes concentrações de caldo fermentado e de sobrenadante em água, contra água não tratada (controle). Nos 8 bioensaios com 6 réplicas foram utilizadas 4.800 fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus*, que depositaram 3.223 jangadas. Os resultados (Tabela 1) revelaram que o caldo fermentado, nas concentrações de 2.000 e 3.000 ppm atraiu significativamente mais fêmeas grávidas, que ovipositaram uma quantidade maior de jangadas do que no controle (Figura 19 A e B), produzindo valores de IAO superiores a + 0.3 (+ 0.5 e + 0.4 respectivamente). Nas outras concentrações testadas não houve diferença entre teste e controle. Quanto ao sobrenadante, apenas na maior concentração o IAO (+ 0.3) indicou atratividade atraente para fêmeas grávidas, quando comparado com água (Tabela 1 e Figura 20).

Tabela 1 - Número total de jangadas ovipositadas nas 6 réplicas dos bioensaios de oviposição, utilizando 100 fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* por réplica, para avaliação da influência do *Bacillus sphaericus* na escolha do sítio de oviposição.

Concentração (ppm)	Número e (%) de jangadas ovipositadas					
	Caldo Fermentado			Sobrenadante		
	CF	Água	IAO	SN	Água	IAO
1.000	220 (57,7)	161 (42,3)	0.1	179 (50,8)	173 (49,2)	0.01
2.000	309 (79,8)	78 (20,2)	0.5	305 (63,6)	174 (36,7)	0.2
3.000	317 (72,0)	123 (28)	0.4	228 (54,9)	187 (45,1)	0.09
6.000	268 (58,9)	187 (41,1)	0.1	212 (67,5)	102 (32,5)	0.3

Nota: CF: Caldo fermentado; SN: Sobrenadante; IAO: Índice de Atividade de Oviposição

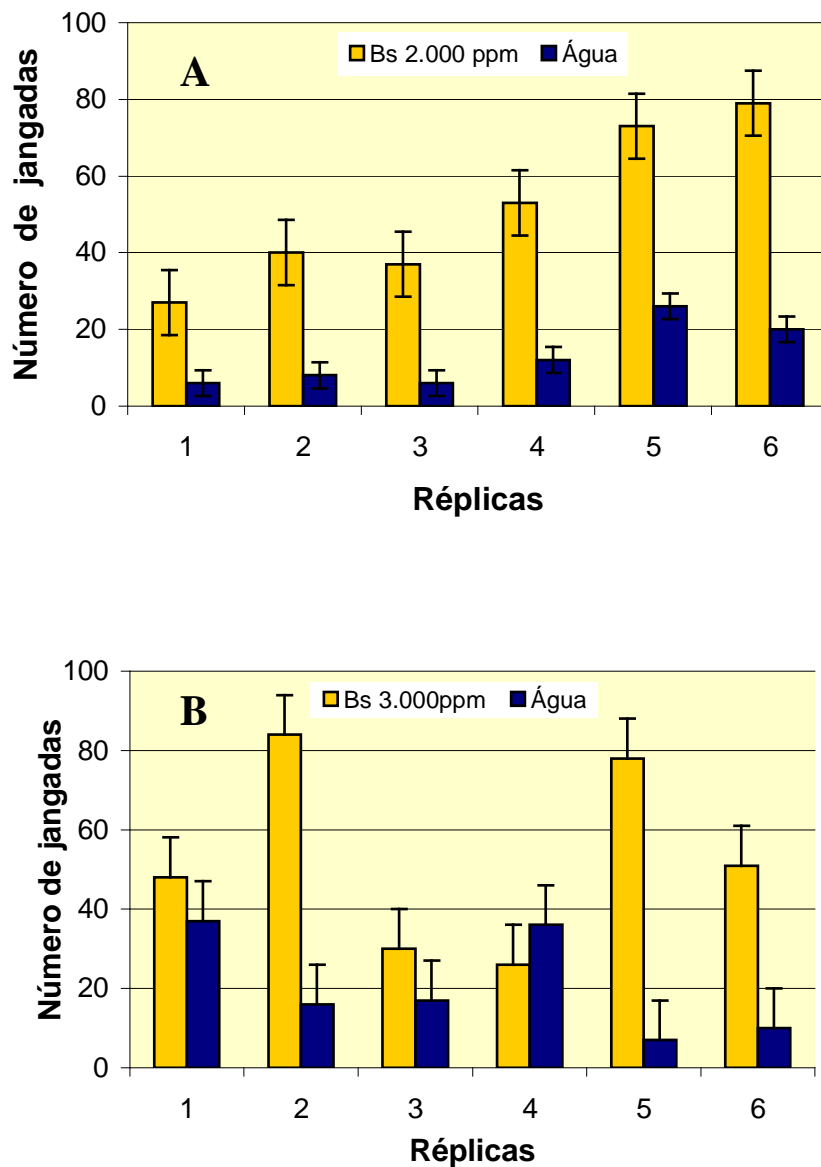


Figura 19 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas grávidas/ réplica) na presença de caldo fermentado de *Bacillus sphaericus* (Bs) nas concentrações de 2.000 ppm ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$) (A) e 3.000 ppm ($p < 0.05$, $n= 6$, $T=0$) (B) e nos respectivos controles.

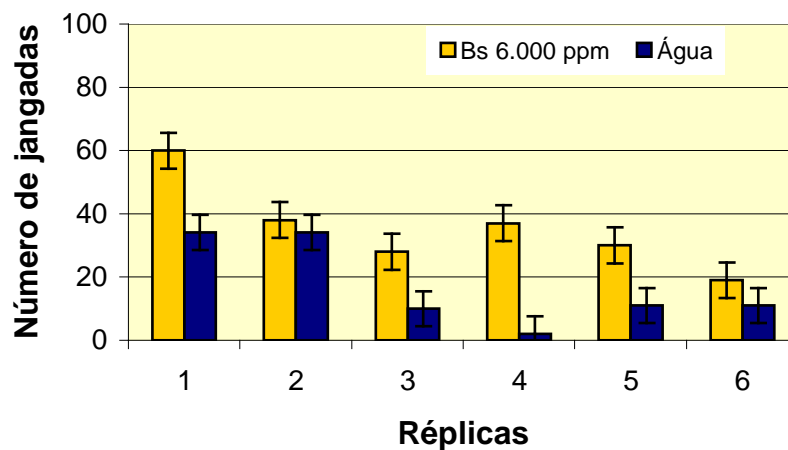


Figura 20 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas grávidas/ réplica) na presença de sobrenadante de *Bacillus sphaericus* (Bs) na concentração de 6.000 ppm e no controle ($p \leq 0.05$, $n = 6$, $T=0$).

Na série seguinte de bioensaios de oviposição foram oferecidas como opções: Bs nas formas de caldo fermentado (2.000 ppm) ou sobrenadante (6.000 ppm) versus infusão de gramínea não diluída. Nas 6 réplicas de cada ensaio, utilizando um total de 1.200 fêmeas grávidas (100 fêmeas/réplica), foram ovipositadas 1.068 jangadas. Os resultados obtidos mostram que em todas as réplicas dos 2 bioensaios, os números de jangadas depositadas foram significativamente maiores nos recipientes com IG representado 87 % das jangadas no teste com caldo fermentado e 84,1 % no teste com sobrenadante de Bs (Tabela 2, Figuras 21 e 22). Os valores do IAO variaram entre + 0.5 e + 1.0 (valor máximo do IAO, observado na réplica 5-caldo fermentado, tabela 2).

Tabela 2 - Número de jangadas ovipositadas em bioensaios de oviposição com 6 réplicas, utilizando 100 fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* por réplica na presença de *Bs* – caldo fermentado (2.000 ppm) em água ou sobrenadante (6.000 ppm) versus infusão de gramínea (IG).

Réplicas	Número e (%) de jangadas ovipositadas					
	<i>Bs</i> -CF	IG	IAO	<i>Bs</i> -SN	IG	IAO
1	24 (25,0)	72 (75,0)	+ 0.5	21 (21,9)	75 (78,1)	+ 0.5
2	20 (21,6)	80 (78,4)	+ 0.5	11 (14,3)	66 (85,7)	+ 0.7
3	08 (8,7)	84 (91,3)	+ 0.8	18 (18,4)	80 (81,6)	+ 0.6
4	14 (14,9)	80 (85,1)	+ 0.7	09 (11,0)	73 (89,0)	+ 0.7
5	0	80 (100)	+ 1.0	14 (18,2)	63 (81,8)	+ 0.6
6	04 (4,3)	90 (95,7)	+ 0.9	08 (10,0)	72 (90,0)	+ 0.8
TOTAL	70 (12,6)	486 (87,4)	+ 0.7	81 (15,9)	429 (84,1)	+ 0.7

CF: caldo fermentado; SN: sobrenadante; IAO: Índice de Atividade de Oviposição.

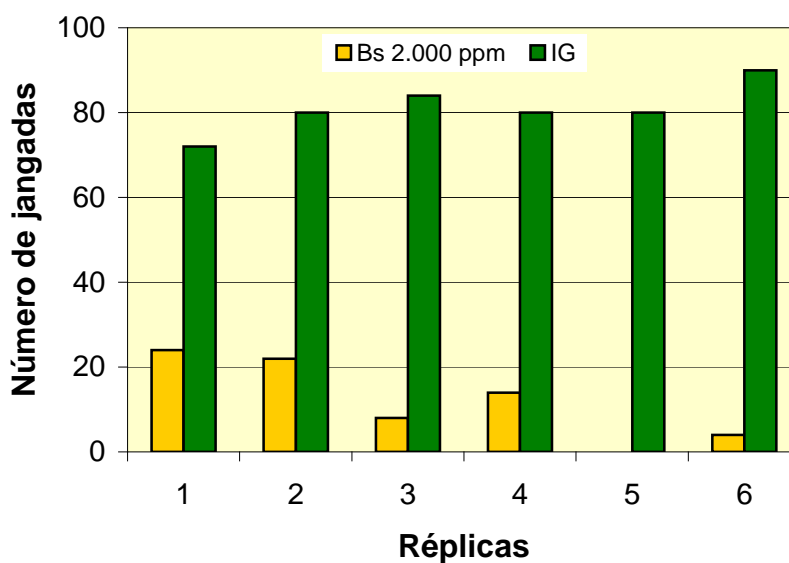


Figura 21 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença de caldo fermentado de *Bacillus sphaericus* (*Bs*) na concentração de 2.000 ppm em água versus infusão de gramínea (IG) ($p < 0.05$, $n = 6$, $T = 0$).

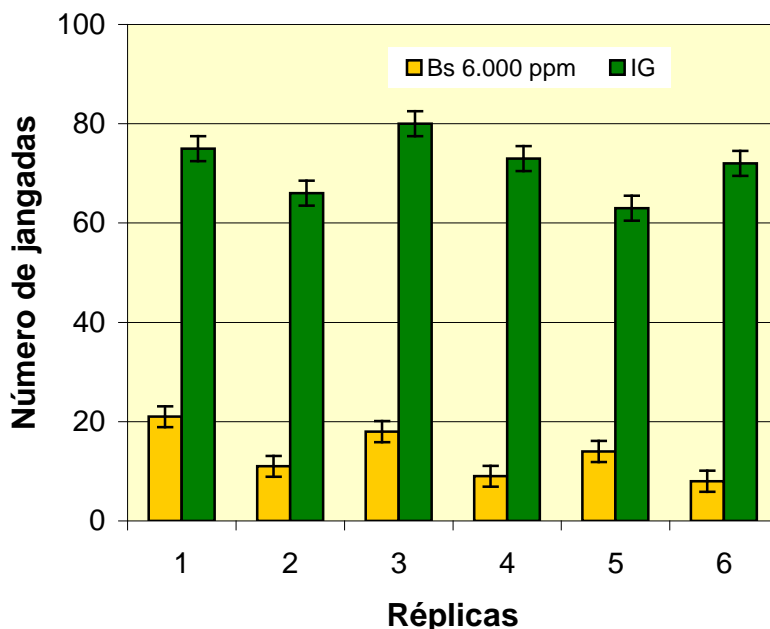


Figura 22 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas/ réplica) na presença do sobrenadante de *Bacillus sphaericus* (*Bs*) na concentração de 6.000 ppm em água versus infusão de gramínea ($p < 0.05$, $n = 6$, $T = 0$).

Nos testes utilizando *Bs* adicionado à IG versus IG, os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre o número de jangadas ovipositadas nos recipientes com *Bs* + IG e com infusão apenas (Figura 23 A e B). Nos 2 bioensaios com 6 réplicas foram utilizadas 1.200 fêmeas grávidas que depositaram 889 jangadas. Os valores do IAO para o conjunto das 6 réplicas revelam que o *Bs* adicionado à infusão de gramínea não influencia negativamente nem positivamente a escolha do sítio de oviposição (Tabela 3).

Tabela 3 - Número total de jangadas ovipositadas nos 2 bioensaios em 6 réplicas, utilizando 100 fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* por réplica, na presença de *Bs* - caldo fermentado (2.000 ppm) ou sobrenadante (6.000 ppm) em infusão versus infusão de gramínea (IG).

Réplicas	Número e (%) de jangadas ovipositadas					
	<i>Bs</i> -CF			<i>Bs</i> -SN		
	<i>Bs</i> + IG	IG	IAO	<i>Bs</i> + IG	IG	IAO
1	37 (51,3)	35 (48,7)	- 0.02	27 (38,6)	43 (61,4)	- 0.2
2	38 (55,8)	30 (44,2)	- 0.1	50 (70,4)	21 (29,6)	+ 0.4
3	33 (46,5)	38 (53,5)	+ 0.07	30 (32,3)	63 (67,7)	- 0.3
4	17 (35,8)	36 (64,2)	+ 0.3	25 (28,8)	62 (71,2)	- 0.4
5	5 (14,3)	30 (85,7)	+ 0.8	41 (50,0)	41 (50,0)	0
6	48 (48,0)	52 (52,0)	+ 0.04	74 (85,0)	13 (13,0)	+ 0.7
TOTAL	178 (44,7)	221 (55,3)	+ 0.1	247 (55,7)	243 (44,3)	+ 0.008

CF: caldo fermentado; SN: sobrenadante

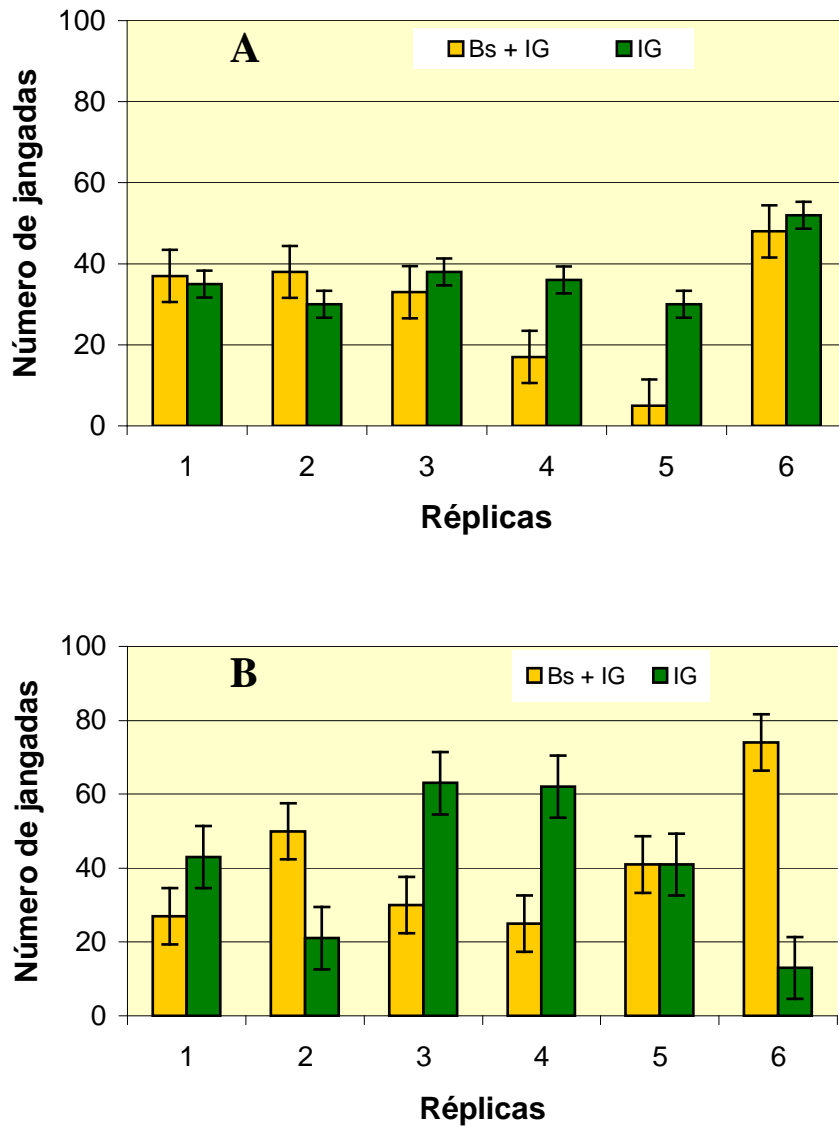


Figura 23 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença do caldo fermentado do *Bacillus sphaericus* na concentração de 2.000ppm ($p > 0.05$, $n = 6$, $T = 5$) (A) e 6.000 ppm de sobrenadante (B) ($p > 0.05$, $n = 6$, $T = 7$) em infusão versus infusão de gramínea (IG).

5.1.2 *Bacillus thuringiensis israelensis* (VectoBac-CG[®])

Na série de bioensaios para investigar a influência do *Bti* na escolha do sítio de oviposição foram realizados 3 experimentos utilizando o *Bti* (VectoBac-CG[®] 0.45 g/L) aplicado em água ou em IG contra água ou IG respectivamente. Nos 3 bioensaios com 8 réplicas foram utilizadas 1.600 fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* que depositaram 1.246 jangadas. Os resultados demonstraram que o *Bti* atraiu significativamente mais fêmeas grávidas do que a água não tratada (Tabela 4 e Figura 24), produzindo um IAO = + 0.6 (Tabela 4). Porém quando o larvicida aplicado em água foi avaliado versus IG, as fêmeas mostraram preferência em ovipositar no sítio contendo apenas IG (86,8 %) (Tabela 4 e Figura 25). Quando o *Bti* adicionado à IG foi testado contra IG pura, um número maior de jangadas foi depositado no recipiente com apenas IG (78,9 %) (Tabela 4 e Figura 26).

Tabela 4 - Número total e percentual de jangadas ovipositadas nos bioensaios de oviposição utilizando 50 ou 100 fêmeas grávidas por réplica (8 réplicas por experimentos) para avaliar influência do *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) na escolha do sítio de oviposição.

Experimento	Tratamentos	Nº de jangadas	%	IAO
1	<i>Bti</i> + Água	258	83,4	+ 0.6
	Água	51	16,6	
2	<i>Bti</i> + água	78	13,4	+ 0.7
	IG	517	86,8	
3	<i>Bti</i> + IG	72	21,1	+ 0.5
	IG	270	78,9	

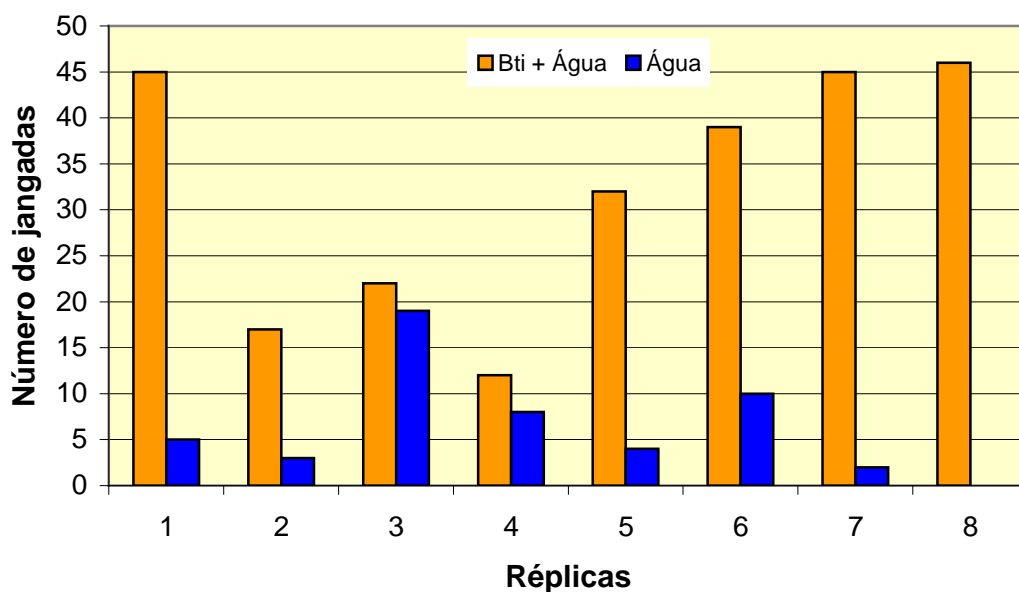


Figura 24 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (50 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG® 0.45 g/L em água) versus água ($p < 0,05$, $n = 8$, $T = 0$).

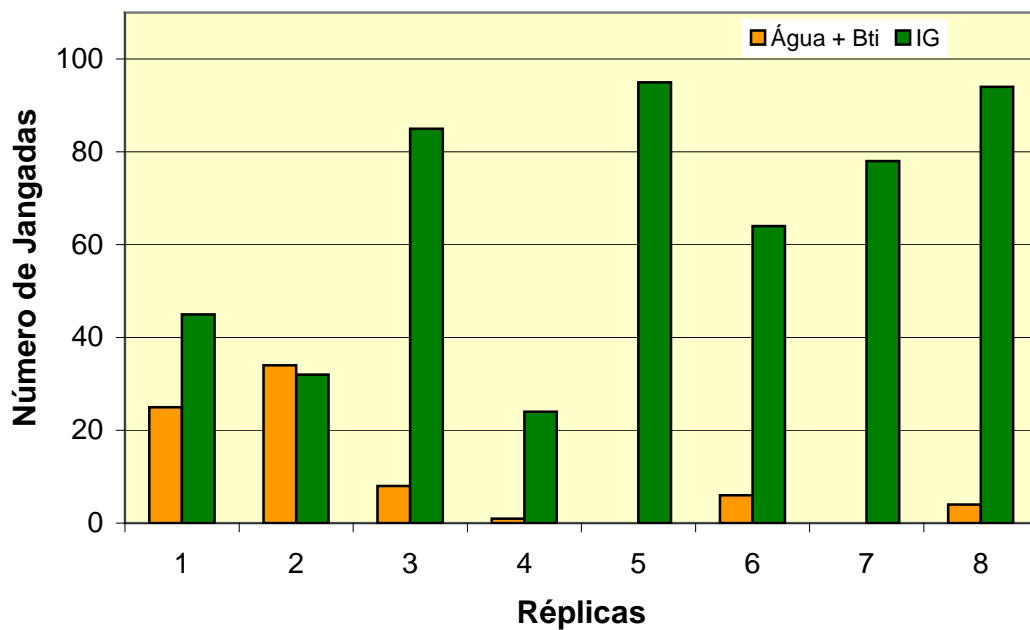


Figura 25 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (100 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG® 0.45 g/L em água) versus infusão de gramínea ($p < 0,05$, $n = 8$, $T = 1$).

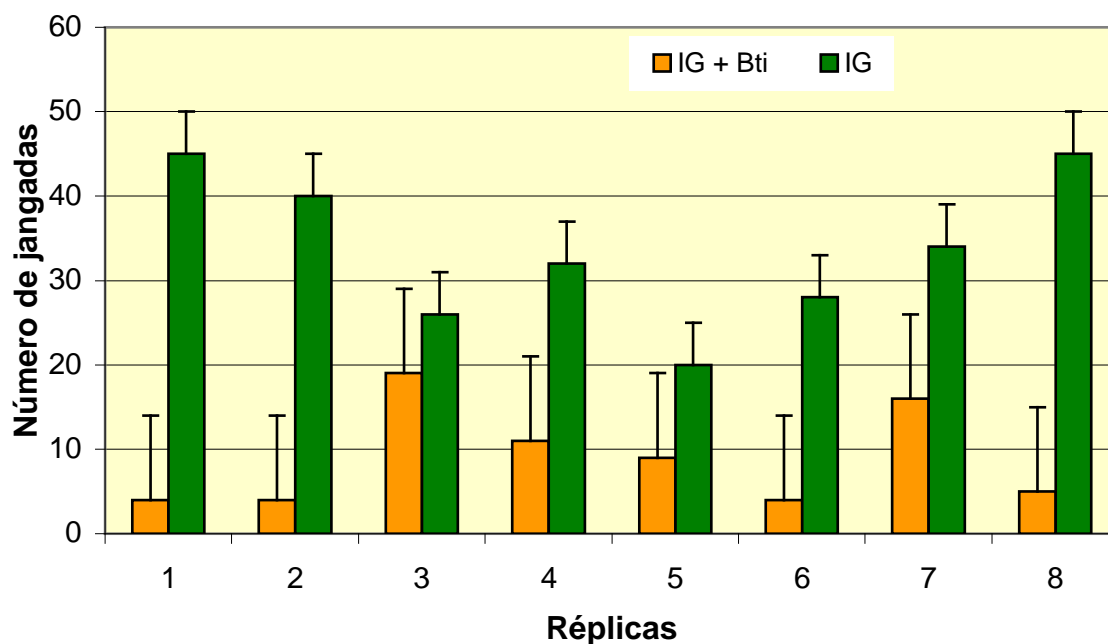


Figura 26 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* (50 fêmeas/réplica) na presença do *Bti* (VectoBac-CG® 0.45 g/L em infusão de gramínea) versus infusão de gramínea ($p < 0.05$, $n = 8$, $T = 0$).

5.2 Desempenho da BR-OVT segundo sua localização no espaço domiciliar

Quando o desempenho da armadilha BR-OVT foi avaliado no peridomicílio de 11 residências (agosto-outubro/2003) e, posteriormente, no interior das casas (outubro-novembro/2003), significativamente mais jangadas foram depositadas nas armadilhas localizadas no intradomicílio (760) do que no peridomicílio (186), respectivamente 69 e 16,9 jangadas/armadilha (Tabela 5). Quando duas armadilhas foram usadas simultaneamente na mesma casa, um total de 1.144 jangadas foram ovipositadas nas armadilhas, sendo 61,1 jangadas/armadilha no intradomicílio e 42,8 no peridomicílio, porém não há diferença estatística entre estes valores ($p > 0.05$) (Tabela 5).

A comparação entre a quantidade de jangadas nas armadilhas e nas amostras coletadas em fossas localizadas nas mesmas casas, revela que, no experimento utilizando uma armadilha por casa não houve diferença estatística entre o número de jangadas ovipositadas nas armadilhas instaladas no intradomicílio e o número de jangadas encontrado nas amostras coletadas nas fossas ($p > 0,05$) (Figura 27). Porém, as armadilhas instaladas no peridomicílio, ao lado das fossas, receberam menos jangadas do que as encontradas nas amostras das fossas

(Figura 28). Quando duas BR-OVT foram instaladas por casa (intra e peridomicílio) a soma das jangadas depositadas (1.144) durante 81 dias de permanência no campo, foi similar ao observado nas amostras das fossas (1.373) ($p > 0,05$) (Tabela 6, Figura 29).

Tabela 5 - Número médio de jangadas coletadas nas armadilhas BR-OVT, segundo sua localização no peri ou no intradomicílio, em 11 residências no bairro do Caçote, Recife (2003-2004).

Período	Duração (dias)	Número de jangadas por armadilha	
		Peridomicílio	Intradomicílio
Agosto-outubro/03	45	16,9	-
Outubro-setembro/03	47	-	69,0
Junho-setembro/04	81	42,8	61,1

Tabela 6 - Jangadas ovipositadas nas armadilhas BR-OVT instaladas simultaneamente no intra e no peridomicílio e nas amostras coletadas nas fossas, no bairro do Caçote, Recife, no período de junho a setembro de 2004.

Leitura*	Número de jangadas ovipositadas		
	BR-OVT(peri)	BR-OVT (intra)	FOSSA
1	26	63	398
2	4	6	37
3	0	5	83
4	0	79	121
5	1	78	157
6	1	2	7
7	61	95	61
8	3	15	32
9	0	6	0
10	53	13	136
11	0	29	13
12	83	38	108
13	31	15	23
14	31	56	24
15	6	12	15
16	22	12	80
17	1	40	20
18	36	44	7
19	15	7	2
20	113	59	49
Total	471 (41,2 %)	673 (58,8 %)	1373

*Feitas em intervalos de 3 a 4 dias.

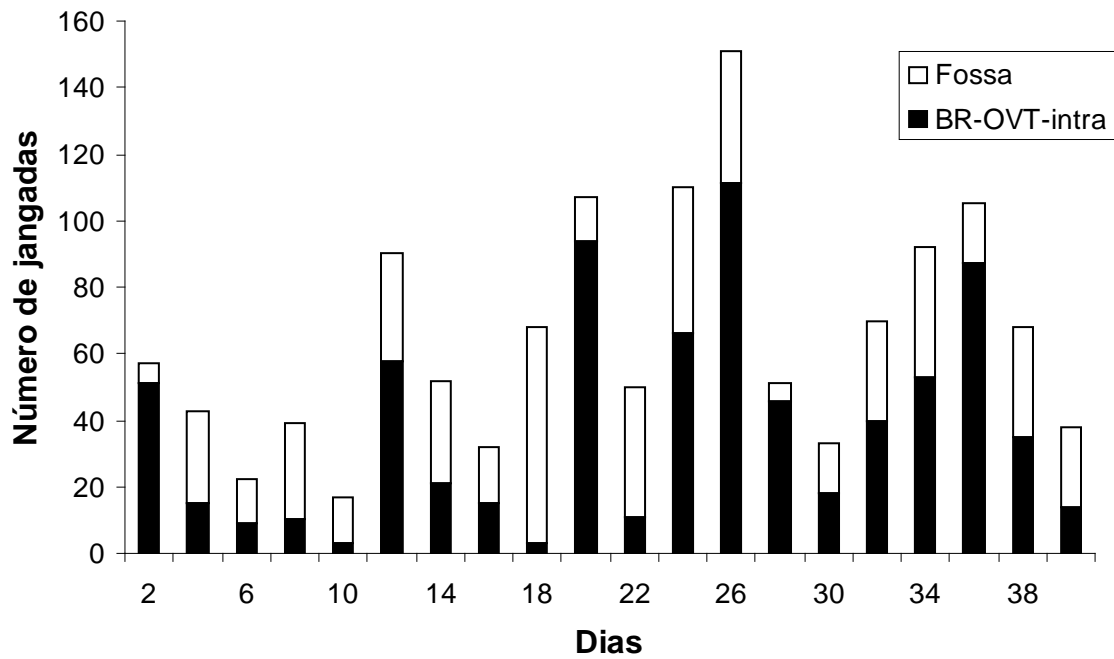


Figura 27 - Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no intradomicílio (uma armadilha por casa) no bairro do Caçote (Recife/PE), comparado ao número de jangadas coletadas nas fossas (9 conchadas/fossa). Outubro a novembro de 2003 ($p > 0.05$, $n = 20$, $T = 56$).

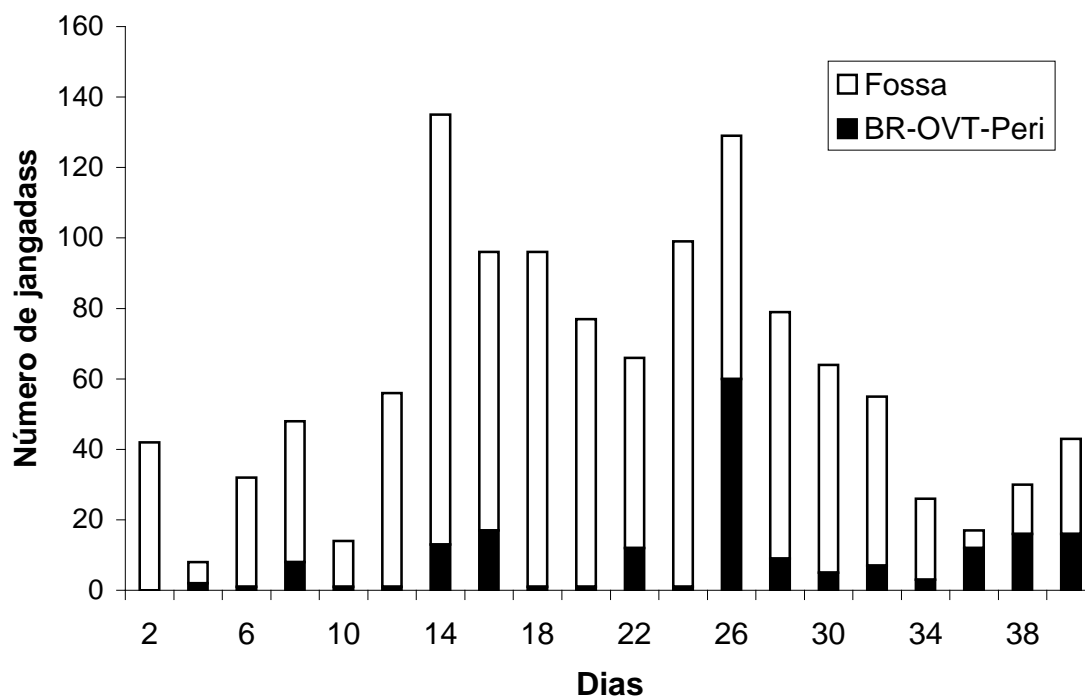


Figure 28 - Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no peridomicílio (uma armadilha/casa) no bairro do Caçote (Recife/PE), comparado ao número de jangadas coletadas nas fossas (9 conchadas/fossa). Agosto a outubro de 2003 ($p < 0.05$, $n = 20$, $T = 4$).

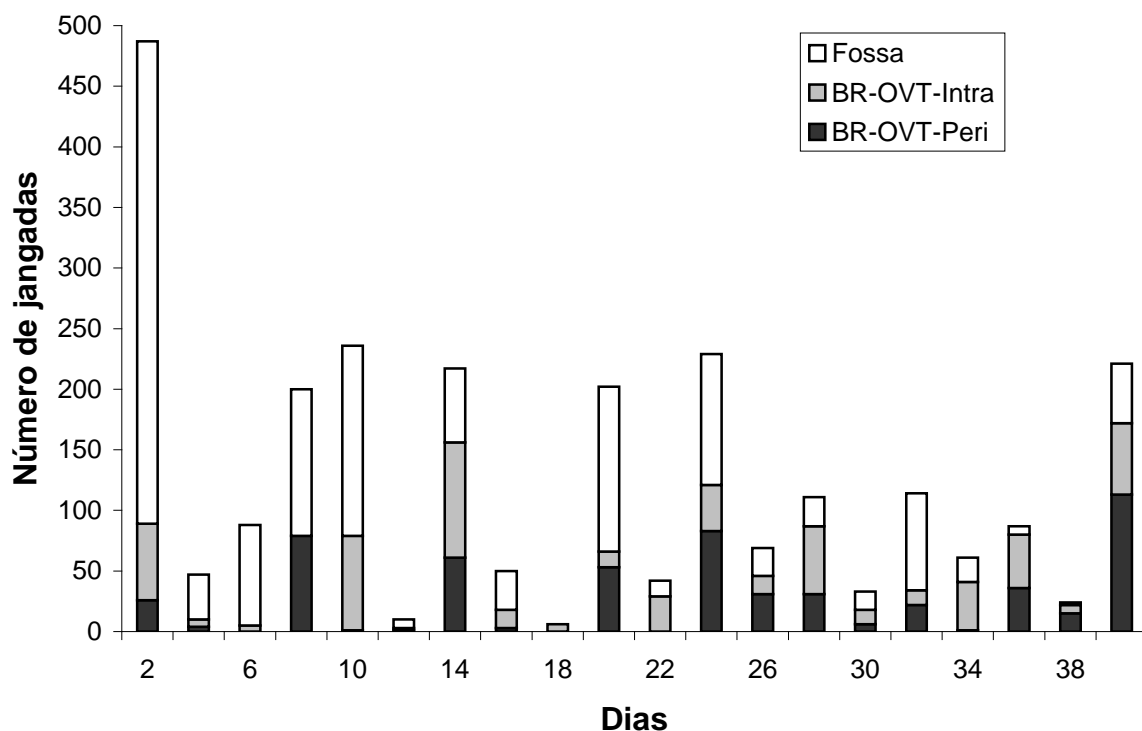


Figura 29 - Número de jangadas coletadas em 11 BR-OVT instaladas no peridomicílio e em 11 instaladas no intradomicílio (duas armadilhas/casa) no bairro do Caçote (Recife/PE), comparado ao número de jangadas encontradas em fossas (9 conchadas/fossa) localizadas nas mesmas casas. Junho a setembro 2004.

5.3 Avaliação da armadilha por operadores e residentes

A avaliação da armadilha pelos operadores e pelos moradores é mostrada nos quadros 01 e 02.

<i>Questão</i>	<i>Opções</i>	<i>Opinião dos operadores (4)</i>	<i>Observações feitas</i>
1-Atitude geral dos moradores com relação à instalação da armadilha	Aceitação	3	
	Aceitação com entusiasmo	0	
	Aceitação com restrições	1	
	Recusa	0	
2-Quantos moradores recusaram a instalação da armadilha	Mais da metade	0	
	Menos de 50%	0	
	Menos de 10%	1	
	Menos de 1%	3	
3-Algum morador fez restrições posteriores, após aceitar a instalação da armadilha?	Sim	0	
	Não	4	
4-Encontrou dificuldade em identificar local apropriado para a armadilha, no peridomicílio?	Sim	3	falta de opção ao abrigo da chuva e sol
	Não	1	
5-Encontrou dificuldade em instalar a armadilha no intradomicílio?	Sim	0	
	Não	4	
6-Houve mudança de atitude dos moradores após instalação no intradomicílio?	Sim	4	Causas: odor desagradável; local incômodo
	Não	0	
7-Acha prática a preparação da BR-OVT para instalação?	Sim	4	
	Não	0	
8-Encontrou dificuldades em trabalhar com a BR-OVT?	Sim	0	
	Não	4	
9-Tempo para preparar e instalar a armadilha	Entre 10 e 25 minutos	4	Depende das condições no domicílio
10-Quantas armadilhas um operador pode instalar por dia?	Cerca de 15 armadilhas	4	
11-Quantas armadilhas um operador pode inspecionar por dia?	30 armadilhas		
12-Encontrou dificuldades na contagem das jangadas na armadilha?	Sim	0	
	Não	4	
Outras observações / opiniões	<ul style="list-style-type: none"> - Instrumento promissor para estudos de comportamento de <i>Culex</i>; - Ferramenta promissora para controle do <i>Culex</i>; - Necessário aprimorar boletim de campo; - Aconselhável substituir infusão por atraente sem odor. 		

Quadro 1 - Avaliação, dos testes de campo realizado no bairro do Caçote no período de agosto a novembro de 2004, obtida através da aplicação de questionário aos operadores.

<i>Questão</i>	<i>Opções</i>	<i>Opinião dos moradores (8)</i>	<i>Observações feitas</i>
1-A presença da BR-OVT no peridomicílio causou incômodo ?	Sim	0	
	Não	8	
2-A presença da BR-OVT no intradomicílio causou incômodo?	Sim	6	-Mau cheiro -Entrada de pessoas na casa
	Não	2	
3-A presença da BR-OVT trouxe algum benefício ?	Sim	5	
	Não	3	
4-Observou aumento de muriçoca na residência	Sim	6	
	Não	2	
5-A presença do agente de saúde causou incomodo ?	Sim	0	
	Não	8	
6-Achou interessante participar da pesquisa ?	Sim-	8	-Dará solução no controle da muriçoca. -Trará benefícios à comunidade.
	Não	0	

Quadro 2 - Respostas ao questionário de avaliação aplicado aos residentes das casas incluídas nos testes a campo realizados no bairro do Caçote no período de agosto a novembro de 2003 e junho a setembro de 2004.

Na opinião dos 4 agentes que operaram as armadilhas em 11 residências durante 80 dias no bairro do Caçote, a BR-OVT teve boa aceitação, com pouca recusa por parte dos residentes (Quadro 01, questões 1-3). Entretanto, todos registraram mudanças posteriores de atitude dos moradores, após instalação das armadilhas no interior das casas, devido ao odor desagradável da infusão, considerando incômoda a presença da armadilha no intradomicílio. Todos consideraram prática e fácil a preparação da armadilha, porém 3/4 registraram dificuldade em encontrar local apropriado para sua instalação no peridomicílio (Quadro 01, questão 4). Estimam que um operador pode preparar e instalar 15 BR-OVT ou inspenionar 30 unidades por jornada de trabalho (8 horas). Todos consideraram a contagem de jangadas depositadas na BR-OVT uma operação sem dificuldade (Quadro 01, questão 12). Foi registrado, como observações espontâneas, avaliações positivas com sugestões de substituição da infusão e aprimoramento do instrumento para registro dos resultados (última linha do quadro 01).

Na avaliação dos residentes de 8 das 11 casas onde os experimentos foram realizados, a presença da BR-OVT na área externa não é incômoda, mas a maioria fez restrições à presença da armadilha no interior da casa, devido ao odor da infusão. Todos

acharam interessante participar da pesquisa, aceitam a visita dos agentes e consideram que a armadilha lhes trouxe benefícios, porém 6/8 referiram aumento das muriçocas na residência.

5.4 Eficiência da BR-OVT comparada à armadilha para fêmeas grávidas (CDC-Gravid Trap)

Em um período de seis meses, duas armadilhas de oviposição BR-OVT instaladas no peri e no intradomicílio coletaram um total de 1.028 jangadas (cerca de 154.000 ovos). No mesmo período e mesmos locais, 1.931 fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* foram coletadas em 2 Gravid Traps (Tabela 7).

Tabela 7 - Número de jangadas e de fêmeas de *Culex quinquefasciatus* coletadas por mês, em armadilhas de oviposição BR-OVT, e em armadilhas de grávidas, em 2 casas localizadas no bairro da Mustardinha, Recife, de julho a dezembro de 2006.

Mês (2006)	Número de jangadas e de fêmeas coletados por mês			
	Casa 1 (peridomicílio)		Casa 2 (intradomicílio)	
	BR-OVT	Armadilha de Grávidas	BR-OVT	Armadilha de Grávidas
Julho	133	369	21	101
Ago	132	123	16	81
Set	135	161	20	119
Out	131	93	34	84
Nov	194	145	62	217
Dez	109	194	41	244
Total	834	1.085	194	846

5.5 Atratividade do J1 adicionado à armadilha BR-OVT

A atratividade do J1 na armadilha BR-OVT foi comparada à da infusão, utilizando água como controle, em grupos de 3 armadilhas (uma para cada tratamento), todas tratadas com *Bti*. Os experimentos, em 10 réplicas, teve duração de 30 dias. No período, 1.475 jangadas foram depositadas nos 10 grupos de 3 armadilhas BR-OVT, 52,2 % das quais nas armadilhas com IG, 36,5 % nas armadilhas com J1 e 11,3 % no controle (Tabela 8). A relação $IG > J1 > \text{água}$ foi observada em 8 das 10 réplicas (Figura 30). A comparação entre tratamentos pareados mostra que o J1 coletou 76,4 % das jangadas do par J1-água (IAO = + 0.5) (Tabela 9 e Figura 31). Os resultados são analisados no tempo e observa-se que a maior diferença, em termos de número de jangadas, entre as armadilhas com IG e com J1 ocorreu na 1ª leitura, feita 3 dias após instalação do experimento (Figura 32). A diferença decresce progressivamente até o dia 15. Neste momento, o conteúdo das 3 armadilhas foi renovado, após contagem das jangadas. No 2º período de observação (18 a 30), o mesmo fenômeno se repete. Na última contagem, o número de jangadas depositadas na armadilha com J1 foi levemente superior. Embora o J1 tenha atraído menor número de jangadas do que a IG ($p > 0,05$), o IAO para IG x J1 foi baixo (+ 0.1) (Figura 33). Os resultados permitem também observar um alto valor do IAO (+ 0.6) para o tratamento IG + *Bti*, comparado à água + *Bti* (Tabela 7). Neste experimento, o número de jangadas coletadas por casa (3 BR-OVT) por dia variou de 2,5 a 9,9.

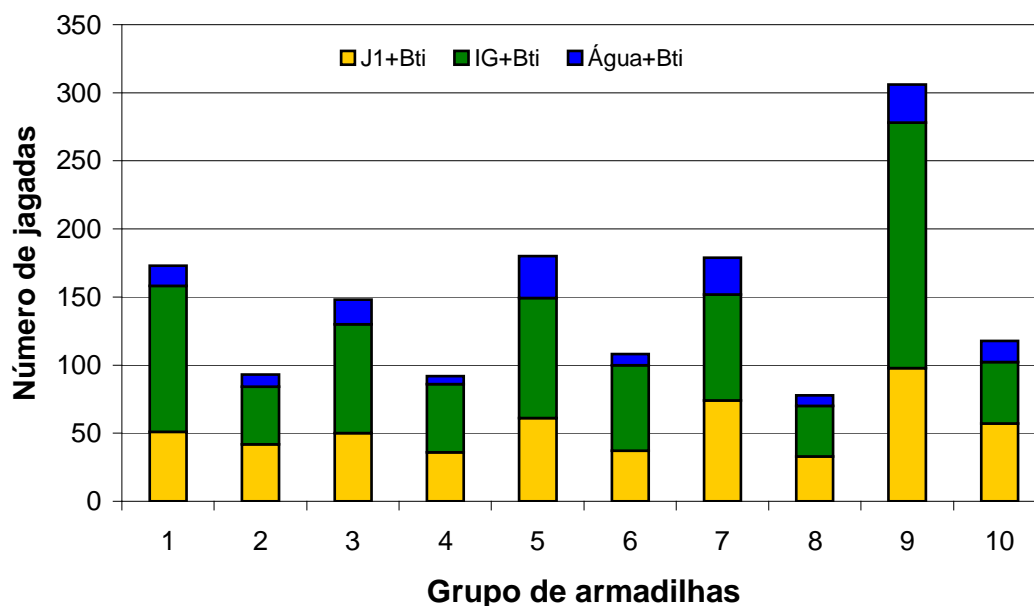


Figura 30 - Número de jangadas ovipositadas por fêmeas de *Culex quinquefasciatus*, durante 30 dias nos 10 grupos de três armadilhas contendo J1 + *Bti*, infusão de gramínea (IG) + *Bti*.

Tabela 8 - Número total, por réplica de jangadas ovipositadas durante 30 dias nas 3 BR-OVT (uma para cada tratamento) utilizando atraente químico de oviposição (J1), infusão de gramínea (IG) e água, instaladas no bairro da Mustardinha, Recife.

Réplicas	Número de jangadas ovipositadas		
	J1 + <i>Bti</i>	IG + <i>Bti</i>	Água + <i>Bti</i>
01	51	107	15
02	42	42	9
03	50	80	18
04	36	50	6
05	61	88	31
06	37	63	8
07	74	78	27
08	33	37	8
09	98	180	28
10	57	45	16
Total	539 (36,5%)	770 (52,2%)	166 (11,3%)

Tabela 9 - Número de jangadas ovipositadas durante 30 dias nas BR-OVT e valores do IAO para os tratamentos pareados J1-Água e IG-Água, nas 10 réplicas do experimento realizado no bairro da Mustardinha, Recife.

Réplicas	Número de jangadas ovipositadas					
	J1 + <i>Bti</i>	Água + <i>Bti</i>	IAO	IG + <i>Bti</i>	Água + <i>Bti</i>	IAO
01	51	15	+ 0.5	107	15	+0.7
02	42	9	+ 0.6	42	9	+ 0.6
03	50	18	+ 0.4	80	18	+ 0.6
04	36	6	+ 0.7	50	6	+ 0.7
05	61	31	+ 0.3	88	31	+ 0.4
06	37	8	+ 0.6	63	8	+ 0.7
07	74	27	+ 0.4	78	27	+ 0.4
08	33	8	+ 0.6	37	8	+ 0.6
09	98	28	+ 0.5	180	28	+ 0.7
10	57	16	+ 0.5	45	16	+ 0.4
Total	539	166	+ 0.5	770	166	+ 0.6
	(76,4%)	(23,6%)		(82,2%)	(18,8%)	

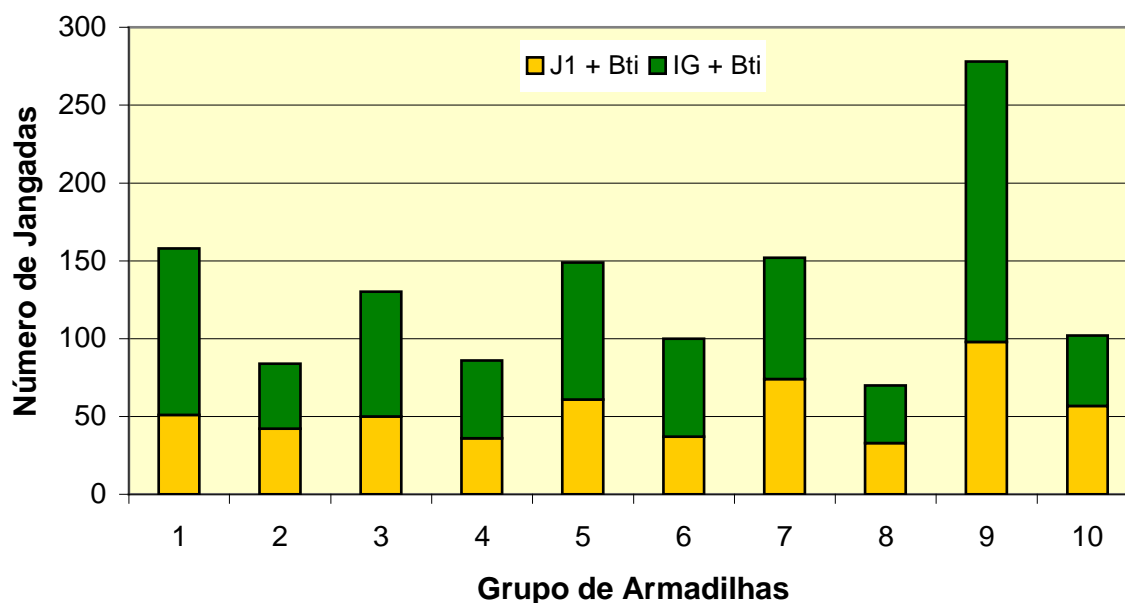


Figura 31 - Comparação dos efeitos do atraente J1 e da infusão, considerando o número de jangadas depositadas em 10 pares de armadilhas durante 30 dias. IG= Infusão de gramínea; *Bti* = *Bacillus thuringiensis israelensi*; J1 = atraente químico testado, $p < 0,05$ (N = 9, T = 1).

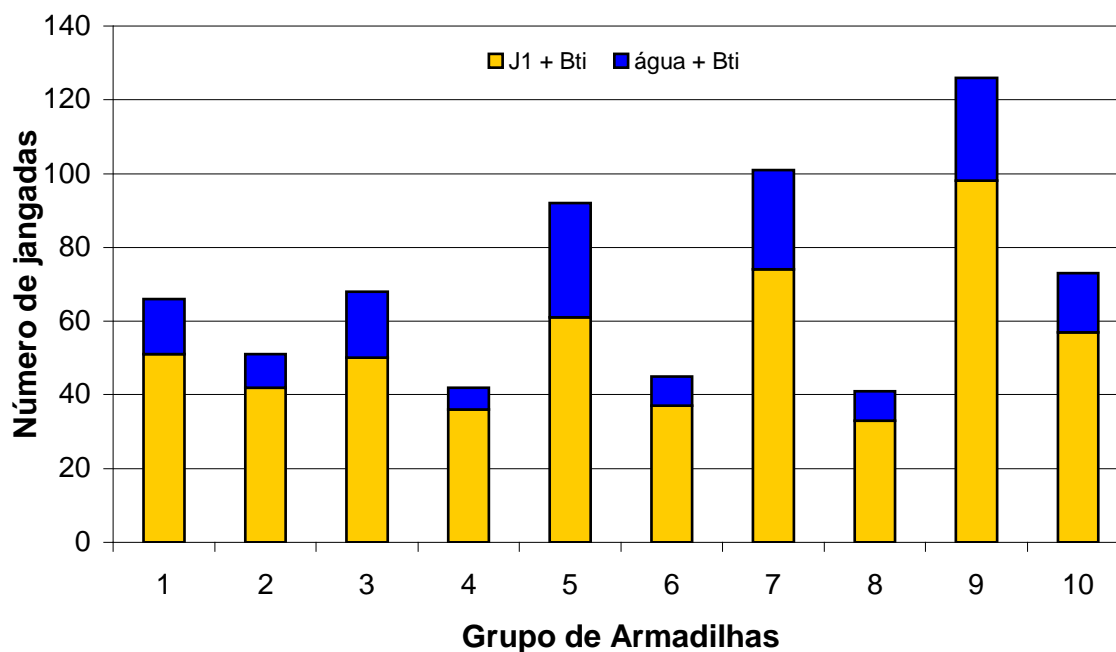


FIGURA 32 - Comparação do efeito do atraente J1, considerando o número de jangadas depositadas em 10 pares de armadilhas durante 30 dias. *Bti* = *Bacillus thuringiensis israelensis*; J1 = atraente químico, $p < 0,05$ ($N = 10$, $T = 0$).

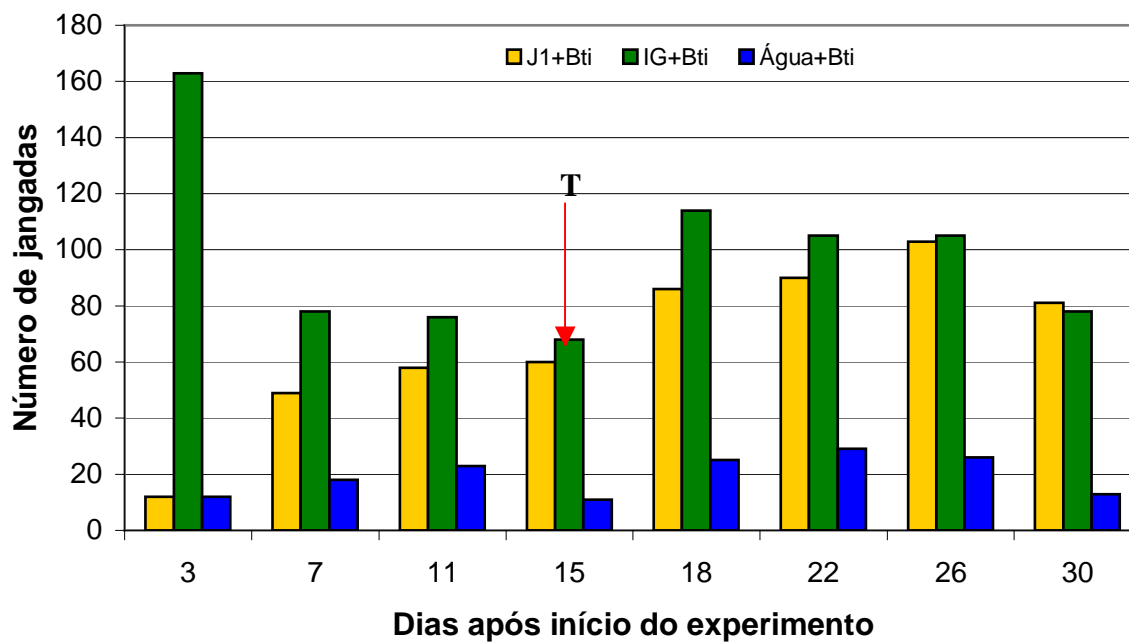


FIGURA 33 - Número de jangadas depositadas nos 10 grupos de três armadilhas com diferentes tratamentos, contados em intervalos de três a quatro dias. T: Troca de infusão e do atraente J1.

5.6 Atratividade do *Bti* na armadilha sob condições de campo.

Os testes a campo para avaliar possíveis efeitos do *Bti*, adicionado à IG, sobre a atratividade da BR-OVT foram realizados em 10 casas, instalando um par de armadilhas por casa. Os resultados com relação à presença do *Bti* foram diferentes dos observados em laboratório. Em um total 614 jangadas contadas nas 20 armadilhas durante 28 dias, 59,1% (363 jangadas) foram depositadas na BR-OVT tratada com *Bti* e 40,9% na BR-OVT sem *Bti* ($p < 0.05$) (Figura 34 e 35).

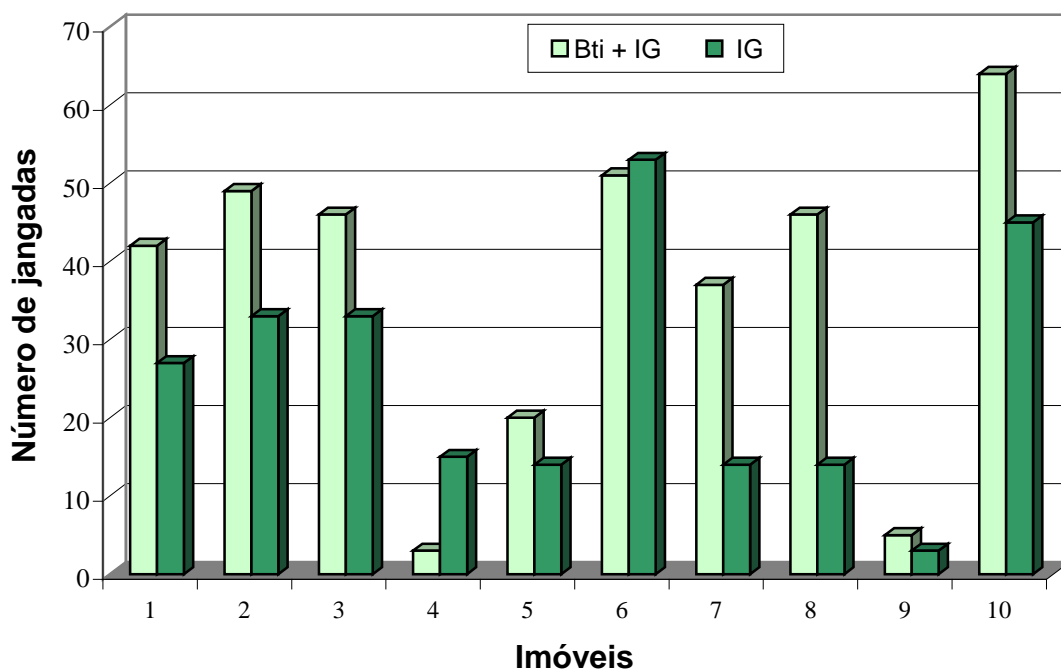


FIGURA 34 - Número de jangadas ovipositadas durante 28 dias por fêmeas de *Culex quinquefasciatus* nas armadilhas BR-OVT contendo infusão de gramínea (IG) com adição ou não de *Bti*. Um par de armadilhas foi instalada por imóvel, no bairro da Mustardinha, Recife, em dezembro de 2006.

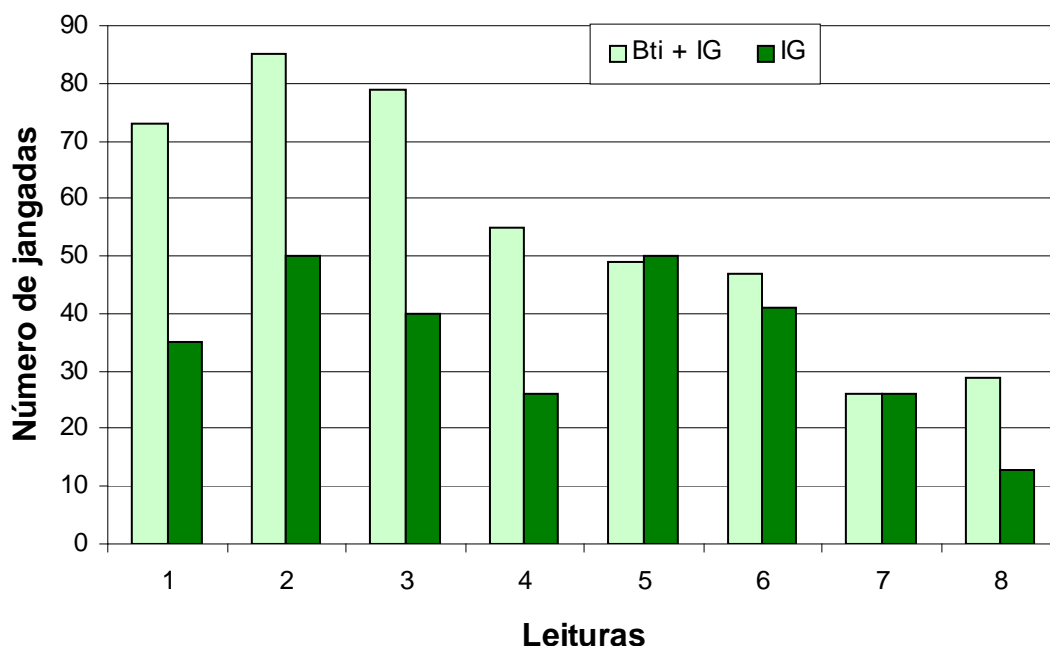


FIGURA 35 - Soma de jangadas depositadas nos 10 pares de armadilhas contendo infusão com adição ou não de *Bti*, em oito leituras realizadas com intervalo de 3 a 4 dias, durante 28 dias, no bairro da Mustardinha/Recife, em dezembro de 2006.

5.7 Avaliação em larga escala da eficiência da armadilha BR-OVT

Em uma área residencial no bairro da Mustardinha, compreendendo 3 quarteirões, foram instaladas, em janeiro de 2006, 181 armadilhas, em igual número de casas entre as 225 residências previamente cadastradas. Em 57,7% das residências foi obtida a concordância dos moradores para instalação das armadilhas no intradomicílio. As demais foram instaladas no peridomicílio. Nos dois primeiros meses houve uma redução no número de armadilhas, para 129, tendo como causas a recusa/desistência (23,7% do total), mudança de endereço ou dificuldade de acesso (3,3%). Durante todo o período, apenas 3 armadilhas foram perdidas.

Nos meses seguintes, outras 19 armadilhas foram instaladas, por solicitação dos moradores, atingindo o número de 148 em novembro. Em dezembro, devido a problemas de acesso à área, 41 armadilhas foram retiradas. Desta forma, entre janeiro e novembro de 2006, 129 a 148 armadilhas permaneceram continuamente na área de intervenção. Este número foi reduzido a 107 BR-OVT durante dezembro/2006 (Figura 36).

As jangadas depositadas nas armadilhas foram coletadas e contadas a cada 3 dias. De janeiro a dezembro, um total de 43.151 jangadas foram coletadas nas armadilhas. Este número

representa, possivelmente, mais de 6 milhões de ovos. Do total de jangadas coletadas, 50,4% (21.757 jangadas) foram depositadas nas armadilhas localizadas no peridomicílio e 49,5% (21.391 jangadas) no intradomicílio. Os resultados mostram que apesar do número inferior de armadilhas instaladas no peridomicílio (cerca de 45% no período), estas coletaram mais jangadas do que as armadilhas instaladas no intradomicílio. Estes resultados diferem dos obtidos no bairro do Caçote, mostrando que as diferenças ambientais e diferentes tipos de criadouros encontrados na Mustardinha (Canaletas e valetas) influencia na quantidade de mosquitos no intra e no peridomicílios das residências.

Os resultados da identificação da espécie por PCR mostraram que todas as jangadas depositadas nas armadilhas pertencem à espécie *Cx. quinquefasciatus*.

A observação do número de jangadas coletadas por mês indica atividade reprodutiva contínua da população de *Cx. quinquefasciatus* ao longo do ano, porém com claras flutuações temporais. O número de jangadas foi expressivamente menor nos meses de janeiro e fevereiro. Nestes meses, além do elevado percentual de armadilhas negativas (64,1 e 37,3% respectivamente), o número de jangadas coletadas por mês foi inferior a 21, na grande maioria das armadilhas positivas (Tabela 10). É importante ressaltar que as armadilhas foram instaladas a partir do dia 17 de janeiro, portanto permaneceram em campo por no máximo, 14 dias daquele mês. A partir de março o índice de positividade das armadilhas aumentou expressivamente, atingindo os maiores valores em agosto (98,7%) positivas e dezembro (91,1%) (Tabela 10).

Com relação à quantidade de jangadas coletadas, verifica-se uma frequência muito maior de armadilhas onde foram coletadas até 40 jangadas ao ano (Tabela 10). As maiores coletas ocorreram entre agosto e outubro. Nesse último mês, mais de 20% das armadilhas coletaram mais de 61 jangadas.

Na Tabela 11 são listadas as 13 residências onde foram coletadas as maiores quantidades de jangadas durante todo o experimento. Nos imóveis situados na rua Fróis nº 46 e na Jácome de Araújo nº 163, mais de 1.240 jangadas foram coletadas ao longo do ano, representando uma média de aproximadamente 3,5 jangadas por dia em cada casa. Sete das 13 casas com maiores densidades populacionais de *Cx. quinquefasciatus* estão situadas na Rua Jácome de Araújo (Figura 37-Área de estudo na Mustardinha). Os resultados revelaram ainda que em algumas casas o total de jangadas coletadas foi muito baixo. Na Tabela 12 são listadas as casas menos infestadas. Em cada uma delas a soma de jangadas encontradas nas armadilhas foi inferior a 21 durante todo o ano, ou seja, < 1 jangada a cada 2 meses.

A análise do número de jangadas por armadilha por dia (Figura 38) mostra uma elevação crescente na atividade reprodutiva da população, representada pelo número de jangadas, a partir de março, coincidindo com o aumento da precipitação pluviométrica observada a partir deste mês, em 2006. De junho a outubro o número de jangadas coletadas continuou crescente, atingindo valores máximos em agosto e outubro, enquanto a precipitação pluviométrica foi marcadamente decrescente neste período.

Dados de monitoramento da densidade populacional de adultos de *Cx. quinquefasciatus*, pelo Programa para Eliminação da Filariose (Prefeitura do Recife) que utiliza armadilhas luminosas CDC-miniatura (Figura 45 A e B), foram utilizados como referência quanto à ocorrência e abundância da espécie em nossa área de estudo. Nas 2 estações de coleta situadas dentro da nossa área de intervenção (Figura 39 A), o número médio de fêmeas/quarto/noite foi mais elevado do que nas 2 estações localizadas fora daquela área (Figura 40 B). Em ambas as áreas verificam-se a presença de fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* durante todo o ano, embora em valores muito baixo em alguns meses, e com as densidades claramente mais elevadas no período de julho a dezembro.

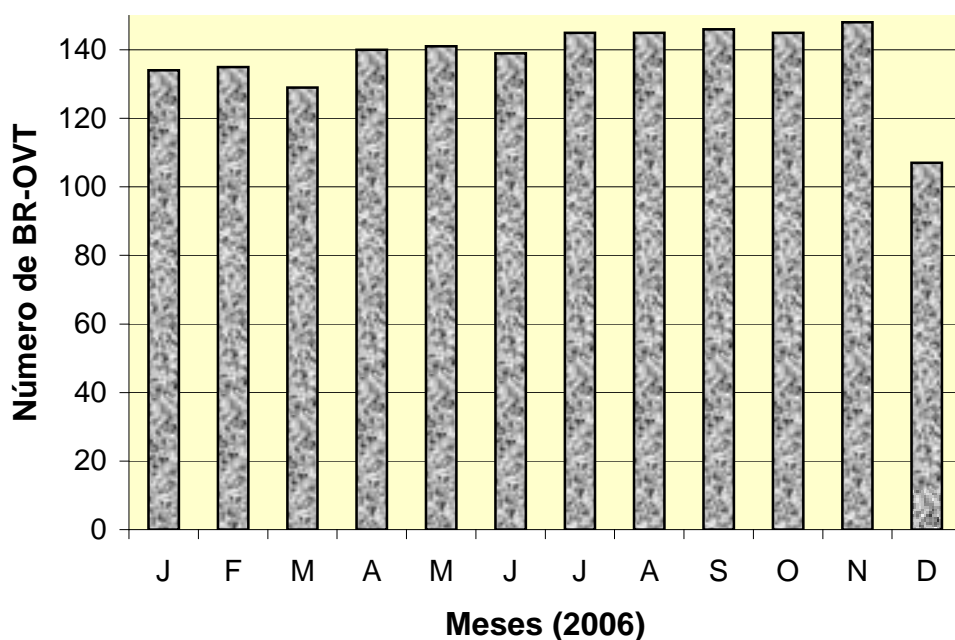


FIGURA 36 - Quantidade de armadilhas BR-OVT utilizadas durante os 12 meses de experimento no bairro da Mustardinha, em 2006.

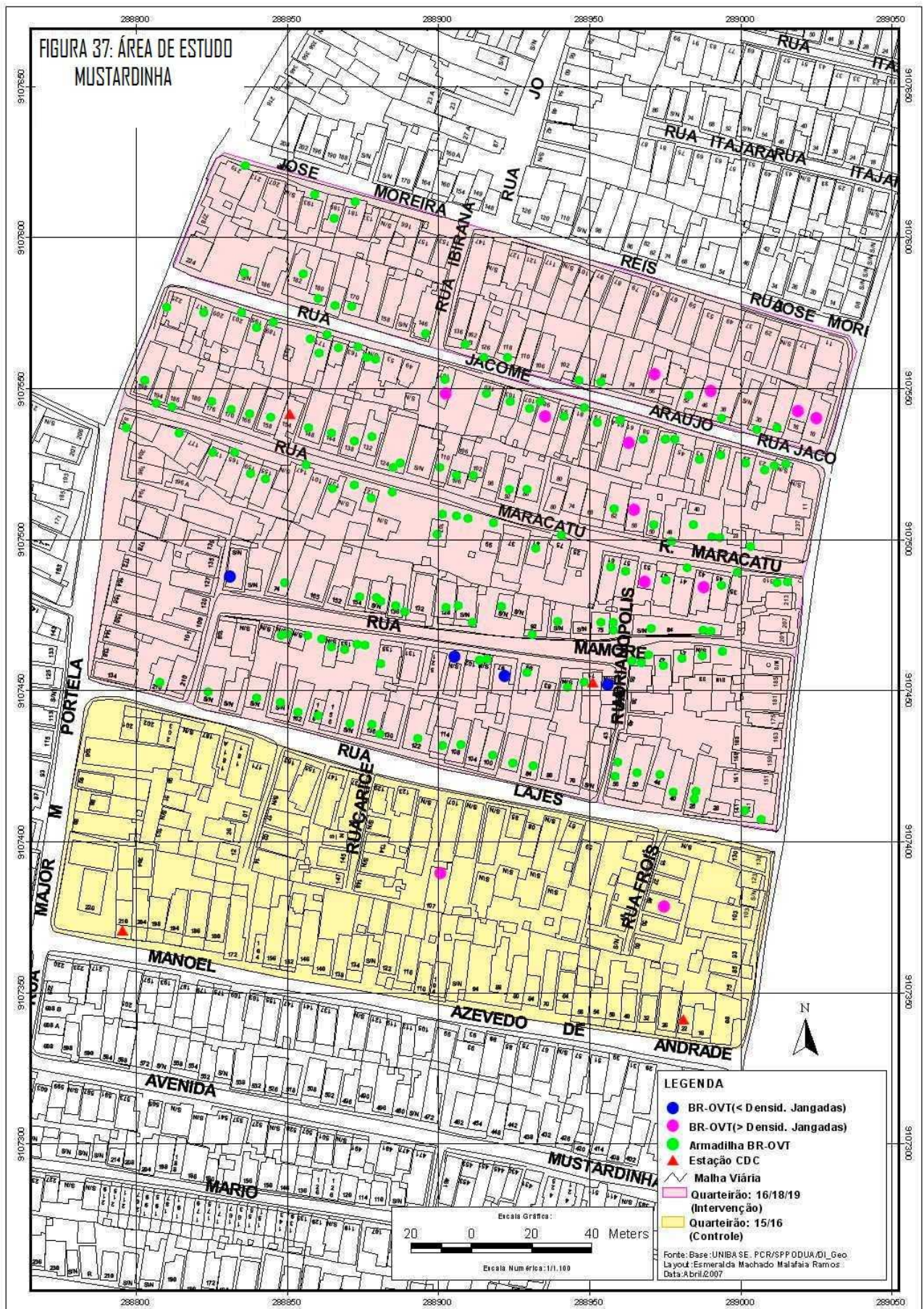


TABELA 10 - Percentual de armadilhas, segundo a quantidade de jangadas coletadas no período de janeiro a dezembro de 2006.

Mês	% BR-OVT negativas	% BR-OVT segundo a quantidade de jangadas coletadas			
		1 - 20	21 - 40	41 - 60	> 61
JAN	64,1	35,0	0	0	0,7
FEV	37,3	53,7	5,9	2,2	0,7
MAR	7,7	58,9	22,4	6,2	4,6
ABR	3,5	56,4	24,2	10,7	5,0
MAI	2,8	39,7	29,7	15,6	12,0
JUN	3,6	53,9	23,7	5,7	12,9
JUL	3,4	44,8	29,6	8,9	13,1
AGO	1,3	35,1	29,6	16,5	17,2
SET	3,4	45,2	24,6	8,9	17,8
OUT	6,2	31,7	27,5	13,7	20,6
NOV	5,4	46,0	25,7	7,8	14,8
DEZ	0,9	47,6	28,0	11,2	12,1

TABELA 11 - Número total de jangadas coletadas no ano pelas armadilhas BR-OVT instaladas no intra ou no peridomício das casas com maior densidade populacional de *Culex quinquefasciatus* (média de 1,9 a 3,7 jangadas/dia), no bairro da Mustardinha, Recife.

Imóvel			Total de jangadas em 12 meses
Nº	Endereço	Localização	
1	Rua Jácome Araújo, 61	Peri	655
2	Rua Maracatu, 53	Intra	667
3	Rua Andrianópolis, 56-C	Intra	703
4	Rua Jácome Araújo, 16	Peri	712
5	Rua Jácome Araújo, 10	Peri	749
6	Rua Jácome Araújo, 98	Intra	765
7	Rua Maracatu, 43	Peri	838
8	Rua Maracatu, 58	Peri	855
9	Rua Lajes, 107 -A	Intra	1014
10	Rua Jácome Araújo, 46	Peri	1160
11	Rua Jácome Araújo, 56	Peri	1167
12	Rua Jácome Araújo, 163	Peri	1242
13	Rua Fróis, 46	Intra	1296
TOTAL			118.23

TABELA 12 - Número total de jangadas coletadas em 12 meses pelas armadilhas BR-OVT instaladas (intradomicílio) das casas com menor densidade populacional de *Culex quinquefasciatus* (até 21 jangadas ao ano), no bairro da Mustardinha, Recife.

Imóvel			Nº de jangadas em 12 meses
Nº	Endereço	Localização	
41	Rua Mamoré, 97	Intra	9
71	Travessa Mamoré	Intra	13
133	Rua Marmoré, 127	Intra	16
68	Rua Mamoré, 69	Intra	20
TOTAL			58

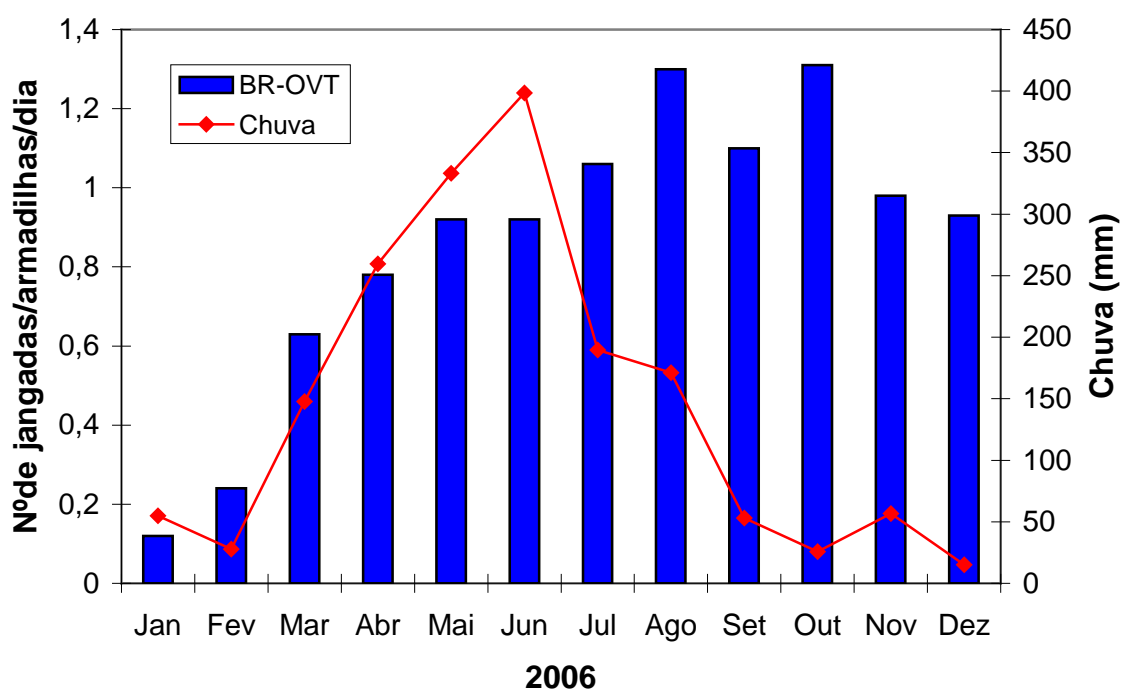


FIGURA 38 - Número médio de jangadas ovipositadas por armadilha por dia nas armadilhas BR-OVT instaladas em residências (1 por casa) no bairro da Mustardinha, no período de 19 de janeiro a 28 de dezembro de 2006. Comparado com a precipitação pluviométrica mensal (Fonte: BD-SAUDAVEL/Recife, dados pluviométricos em Engenho do Meio, Recife).

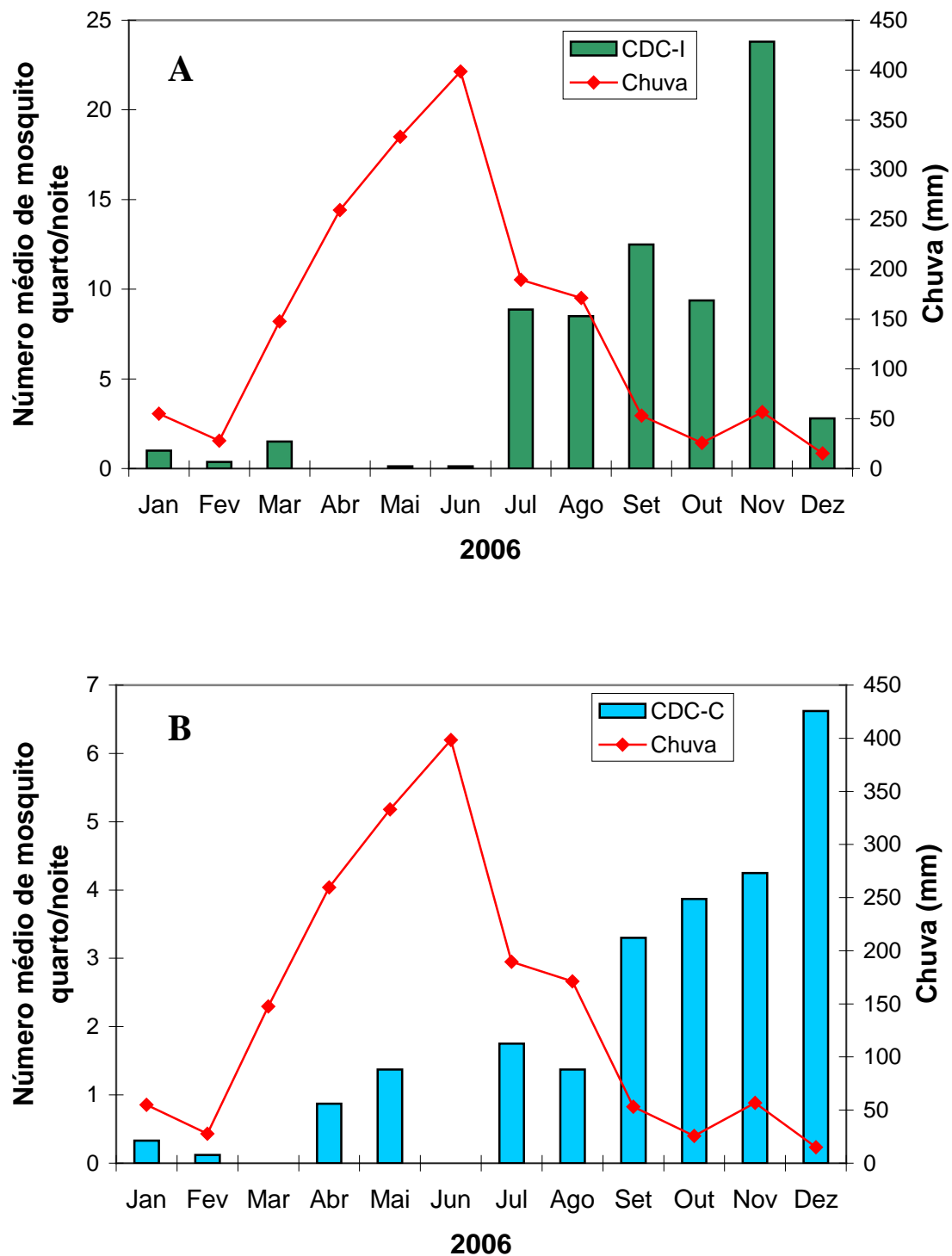


FIGURA 39 - Número médio de fêmeas por quarto por noite, com base em capturas de adultos de *Cx. quinquefasciatus* com armadilhas CDC, instaladas em quatro residências no bairro da Mustardinha, 2 localizadas em nossa área de intervenção (A) e 2 em área controle (B), comparadas com a precipitação pluviométrica no ano de 2006. (Fontes: Prefeitura do Recife/ Programa para Eliminação da Filariose e BD-SAUDAVEL/Recife).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho geraram novas informações de interesse prático para melhorar o desempenho de armadilhas de oviposição para *Culex* e demonstraram, através de experimentos a campo, a eficiência na coleta de ovos e aceitação da BR-OVT, armadilha desenvolvida com base em estímulos físicos (cor escura e ausência de vento) e químicos (infusão de gramínea ou atraentes químicos de oviposição) para atrair fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* (BARBOSA, 2001; BARBOSA *et al.*, 2007).

Em estudos anteriores, concluímos que o *Cx. quinquefasciatus*, linhagem Recife, produz e responde ao feromônio de oviposição presente no ápice dos seus ovos; que as fêmeas são mais atraídas/estimuladas a ovipositar em sítios contendo jangadas conspecíficas ou feromônio de oviposição sintético ou ainda infusão de gramínea não diluída; que a presença do *Bs* não interfere na escolha do sítio de oviposição; que a armadilha BR-OVT contendo infusão, com ou sem adição de *Bs* mostrou-se eficiente como sítio atrativo de oviposição para fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* (BARBOSA, 2001; BARBOSA *et al.*, 2007).

No presente trabalho os conhecimentos sobre a relação entre as bactérias entomopatógenas *Bs* e *Bti* e o comportamento de oviposição das fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* foram ampliados através de experimentos realizados em laboratório e a campo. Os resultados obtidos em uma série de bioensaios de oviposição em câmara de escolha, revelaram que fêmeas grávidas de *Cx. quinquefasciatus* são mais atraídas ou estimuladas a ovipositar em sítios contendo *Bs* ou *Bti* do que em água não tratada. No caso do *Bs* nas concentrações de 2.000 e 3.000 ppm do caldo fermentado aplicado em água, os índices de atividade de oviposição (IAO), respectivamente + 0,5 e + 0,4, indicam atratividade. Nos bioensaios utilizando o *Bti* (VectoBac-CG[®] 0,45 g/L) aplicado em água, o IAO foi mais elevado (+ 0,6). Segundo Hwang *et al.* (1982), os valores de + 0,3 e superiores indicam que o material testado é atraente. Os nossos resultados confirmam observações anteriores de Poonam, Paily e Balaraman (2002) que, ao avaliar em laboratório a atratividade de culturas bacterianas para oviposição de *Cx. quinquefasciatus*, constataram IAO de + 0,71 para *Bti* e + 0,59 para o *Bs*.

Quando o *Bs* e o *Bti*, aplicados em água, foram comparados à infusão de gramínea, os resultados indicaram que os voláteis emanados da infusão foram mais atraentes e /ou estimulantes do que os voláteis emanados pelas bactérias entomopatógenas.

Em termos práticos, isto significa que uma armadilha contendo água tratada com os larvicidas *Bs* e *Bti*, atrairá maior quantidade de jangadas do que sem estas bactérias, mas será menos atrativa para fêmeas grávidas do que uma armadilha com infusão.

Como demonstrado nos ensaios de oviposição, o *Bs* não altera a atratividade do sítio quando adicionado à infusão de gramínea, o que permite associar na armadilha, um potente atraente de oviposição a um eficiente larvicida. Entretanto, o uso de *Bs* como larvicida em área de ocorrência de *Ae. aegypti* pode ser problemático, pois este mosquito não é susceptível à toxina dessa bactéria. Com efeito, no teste realizado em larga escala no bairro da Mustardinha, utilizando a BR-OVT tratada com *Bs*, larvas vivas de *Aedes* foram encontradas em algumas armadilhas, levando à substituição do larvicida.

Com relação à associação do *Bti* com infusão, os ensaios realizados em laboratório indicaram que a presença desta bactéria no recipiente resultou em um número de jangadas significativamente menor do que as depositadas no recipiente contendo apenas infusão. Entretanto, em campo as BR-OVTs com *Bti* adicionado à infusão, receberam, no total, mais jangadas do que as armadilhas sem *Bti*. Isto foi observado em 8 dos 10 pares de armadilhas, bem como em 6 dos oito momentos de leitura, ao longo de 28 dias (nas 2 outras leituras não houve diferença).

Vários fatores podem estar relacionados com a contradição entre os resultados observados em laboratório e em campo. É importante considerar a presença de múltiplos estímulos no ambiente de um quintal, contrastando com o micro-ambiente de uma gaiola, único objeto presente na sala onde foram realizados os ensaios.

Esta observação, talvez a 1ª feita em campo de uma ação do *Bti* como atraente ou estimulante de oviposição de *Cx. quinquefasciatus*, pode ter um interessante aspecto prático para programas de controle de *Culex*, o de atrair/estimular fêmeas grávidas a ovipositar preferencialmente nos criadouros tratados com *Bti*, reduzindo desta forma a proliferação do mosquito em habitats não cobertos pelo tratamento.

Trabalhos anteriores relataram que o *Bti* parece funcionar como estimulante de oviposição para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (MELO-SANTOS, 2001; SANTOS, 2003; STOOPS 2004). Santos e colaboradores constataram, em experimento a campo, que pares de ovitrampas, com e sem *Bti* não apresentaram diferença quanto ao percentual de positividade das armadilhas, porém o número de ovos depositados nas ovitrampas com *Bti* foi significativamente superior. Desta forma, além de ser um eficiente larvicida (REGIS *et al.*, 2001), o uso desta bactéria pode contribuir para concentração de ovos do *Ae. aegypti* nos habitats onde está presente, causando maior eliminação de larvas.

Apesar do grande poder das infusões de gramíneas como atraente de oviposição, que são rotineiramente usadas em armadilhas para *Aedes* e *Culex*, há algumas limitações de ordem prática, como o trabalho de preparo e o forte odor. Isto tem estimulado a busca por atraentes de uso mais prático (MILLAR; CHANEY; MULLA, 1992; DU; MILLAR, 1999; MBOERA, 2000; POONAM, PAILY, BALARAMAN, 2002).

Os resultados dos testes com J1 foram promissores. Nos experimentos, realizados a campo, colocando em competição 3 armadilhas BR-OVT, contendo J1, infusão ou água pura, todos tratados com *Bti*, o maior número de jangadas foi depositado na infusão + *Bti*, considerando-se o total obtido nas 30 armadilhas durante 30 dias. Isto confirma os bons resultados obtidos com a associação infusão-*Bti*. Entretanto, quando a atividade de oviposição foi analisada no tempo, verificou-se que a atratividade da infusão foi maior do que a do J1 apenas nos primeiros dias do experimento, isto é, até a 1ª contagem de jangadas, realizada no 3º ou 4º dia. A partir desse momento, a quantidade de jangadas depositadas nas armadilhas com J1 e com infusão foi semelhante. O J1 associado ao *Bti* atraiu significativamente mais jangadas do que a água + *Bti*. Estes dados mostram que o J1 é um bom atraente de oviposição para *Culex*, com potencial para substituir a infusão de gramínea em armadilhas.

No teste piloto realizado no bairro do Caçote/Recife, para avaliar a competitividade da BR-OVT-IG + *Bs* com sítios naturais de oviposição (fossas), os resultados obtidos revelaram que as armadilhas instaladas no intradomicílio atraíram significativamente maior número de fêmeas grávidas para ovipositar. Estes dados mostram coerência com o comportamento desta espécie, que se alimenta e repousa preferentemente no intradomicílio, e sugerem que, quando há disponibilidade de sítio de oviposição no interior do imóvel, a fêmea deposita seus ovos neste local, deslocando-se menos em busca de sítio de oviposição na área externa do imóvel. Nossos resultados sugerem que, nas condições específicas deste experimento, fêmeas de *Cx. quinquefasciatus* permanecem no interior das residências, quando um potencial criadouro para desenvolvimento de seus descendentes é encontrado (BARBOSA *et al.*, 2007). Os resultados deste experimento no Caçote mostram que quando a armadilha é instalada próxima a uma fossa recebe quantidades muito menores de jangadas do que a armadilha instalada no interior da mesma casa no mesmo período e também muito inferior quando comparado com as amostras coletadas na fossa. Existem pelo menos duas justificativas para este acontecimento: por um lado, as fêmeas antopofílicas mostram preferência em se alimentar e permanecer no interior das residências, uma vez encontrado um criadouro apropriado para ovipositar não saem à procura de outros criadouros; por outro lado, as fossas nos quintais das residências constituem um forte competidor para as armadilhas. Em Recife, devido a características do solo,

as fossas contêm uma lâmina d'água, tornando-se criadouros muito produtivos deste mosquito (REGIS *et al.*, 1995, 2000; SILVA-FILHA *et al.*, 2001). Quando foram usadas 2 armadilhas por casa (uma no intra e outra no peridomicílio), a soma das jangadas depositadas nas 2 armadilhas foi semelhante aos valores observados nas amostras da fossa, indicando um bom desempenho da armadilha. Já no experimento em larga escala realizado na Mustardinha, uma área com sistema de esgoto, a quantidade de jangadas coletadas nas armadilhas foi maior no peridomicílio do que no interior das casas.

Armadilhas CDC Gravid Trap foram usadas como referência para avaliar o desempenho da armadilha BR-OVT na coleta de dados entomológicos em área com alta densidade populacional de *Cx. quinquefasciatus* (Vila Popular, Olinda). Quando um par de armadilhas foi instalado simultaneamente no quintal de uma residência não houve diferença significativa entre o número de jangadas depositadas na BR-OVT e o número de fêmeas coletadas na CDC-Gravid Trap. Entretanto, no intradomicílio a Gravid Trap coletou um número de fêmeas maior do que o dobro de jangadas ovipositadas na BR-OVT. Este resultado difere de dados anteriores obtidos também no intradomicílio, mostrando maior eficiência da BR-OVT (BARBOSA *et al.*, 2007). Admite-se que vários fatores do ambiente, como luminosidade, cores, ventilação, tamanho do cômodo, posição das armadilhas e distância entre elas, etc, podem interferir na competitividade entre as armadilhas no interior do domicílio.

Os resultados indicam eficiência da BR-OVT, mostrando que mesmo em competição com outro instrumento comprovadamente eficiente de coleta, a BR-OVT atrai um número expressivo de fêmeas para ovipositar. Dependendo das condições ambientais, o número de fêmeas que deposita seus ovos na BR-OVT pode ser maior do que as atraídas pela CDC-Gravid Trap (BARBOSA *et al.*, 2007). É importante mencionar diferenças funcionais entre os 2 tipos de armadilha em campo, com relação, por exemplo, ao uso de pilhas pelas Gravid Trap, ocasionando alto custo e dificultando sua permanência por longos períodos. Cada armadilha utiliza quatro pilhas grandes, e o tempo de duração das pilhas em campo foi de três dias. A BR-OVT não necessita de fonte de energia para o seu funcionamento.

Para o teste em larga escala no bairro da Mustardinha/Recife, foram cadastradas 225 casas. As armadilhas BR-OVT foram instaladas em 181 casas (1 armadilha/casa). Com base nos resultados que revelaram melhor desempenho da BR-OVT no interior das casas, buscou-se instalar as armadilhas preferencialmente no intradomicílio. Inicialmente, a aceitação por parte dos residentes foi boa e cerca de 58 % foram colocadas dentro dos domicílios, entretanto muitas desistências ocorreram nos primeiros meses, atribuídas principalmente ao cheiro da infusão. Apesar disto, foi possível manter um número importante de armadilhas (129 a 148),

que foram visitadas a cada três ou quatro dias (para contagem das jangadas), indicando boa receptividade por parte dos moradores.

Para instalação, um processo que envolve acesso à residência, identificação de local apropriado, colocação da infusão, aplicação do larvicida, colocação do recipiente no interior da caixa e fechamento da armadilha, cada agente operou em média 4 armadilhas por dia.

Na inspeção, a contagem, retirada e descarte das jangadas são um processo muito mais rápido. Em média, cada operador inspecionou 23 armadilhas por dia, cerca de 3 por hora, incluindo o deslocamento entre casas. A facilidade de visualizar as jangadas, e a possibilidade de descartá-las em qualquer local seco, no solo, representa importante facilidade operacional, quando comparado, por exemplo, com ovitrampas para *Aedes*, cujos ovos aderidos em suporte precisam ser contados em laboratório, sob lupa, e devem ser cuidadosamente destruídos antes de serem descartados.

No total, 43.151 jangadas foram coletados em um período de 348 dias. Este dado indica o potencial para uso desta armadilha em coleta massiva de ovos, visando reduzir a população de *Culex*. Dependendo da densidade populacional do mosquito na área, a colocação de 3 ou mais armadilhas por casa poderá causar um impacto sobre a população.

Os resultados das coletas revelaram sensibilidade do instrumento para indicar variações temporais na densidade populacional do *Culex*. O número de jangadas coletadas por mês variou durante todo o período de avaliação. Nos meses de janeiro (197 jangadas em 14 dias) e fevereiro (932 jangadas) estes números foram bem inferiores, ocorrendo um aumento significativo a partir do mês de março, durante o qual a BR-OVT coletou 2.524 jangadas, atingindo um pico nos meses de agosto (5.858 jangadas) e outubro (5.894 jangadas). Dados pluviométricos foram considerados visando correlacioná-los com a variação sazonal da população de mosquito. Observou-se que a população aumenta com o aumento das precipitações e permanece em altas densidades após o período de chuvas, possivelmente devido à permanência de habitats aquáticos na área.

Estudos realizados neste mesmo bairro, há mais de 10 anos, mostraram que a densidade populacional de *Cx. quinquefasciatus*, monitorada com armadilhas luminosas CDC-miniatura flutuava entre 20 e 60 mosquitos por casa por noite, com um importante pico de aproximadamente 100, nos meses de chuva mais forte, junho-julho (REGIS *et al.*, 1995). Os dados atuais mostram um perfil de densidade bem diferente. Dois fatos, ocorridos entre os dois estudos, podem estar envolvidos: a construção de um sistema de esgotos na área e as ações do Programa de Controle de *Culex*, iniciado em 2004, envolvendo manejo ambiental e uso de *Bs*.

As coletas de jangadas na BR-OVT também permitiram identificar diferentes níveis de infestação entre imóveis próximos, indicando que a armadilha pode ser utilizada em estudos da distribuição espacial do mosquito.

Os resultados revelaram que a armadilha BR-OVT poderá ser usada como um instrumento de monitoramento pela sua sensibilidade para detectar a presença do mosquito vetor em uma área. Lima (2005) testando uma nova armadilha para captura de fêmeas grávidas de *Culex* em um bairro do Recife, utilizou armadilhas BR-OVT juntamente com a CDC-miniatura para identificar a presença de fêmeas grávidas nesta localidade. Os resultados mostraram que a armadilha BR-OVT detectou a presença de *Culex* em lugares/momentos em que as outras armadilhas não detectaram.

Os resultados da avaliação do desempenho da armadilha BR-OVT em diferentes situações e ambientes, demonstraram que é um instrumento sensível e eficiente para coleta de amostras populacionais do *Cx. quinquefasciatus*. Consorciada com larvicida biológico, pode permanecer instalada em campo por períodos prolongados, além disto, apresenta, sobre outros tipos de armadilhas utilizados, a vantagem de dispensar o uso de energia elétrica. É um instrumento extremamente simples, de fácil construção e manejo, e tem boa aceitação por parte de operadores e pelo público. É importante a continuidade de estudos que levem à substituição da infusão de gramínea por atraentes de oviposição, que possam tornar mais aceito pela população o uso da armadilha em grande escala.

Por solicitação da Secretária Municipal de Saúde do Recife, a armadilha de oviposição BR-OVT tem sido utilizada para obtenção de amostras populacionais de *Cx. quinquefasciatus* destinadas ao monitoramento da suscetibilidade das larvas ao *Bs*, em áreas onde este larvicida vem sendo utilizado sistematicamente. As jangadas coletadas são encaminhadas ao Serviço de Referência de Controle de Culicídeos Vetores/CPqAM-FIOCRUZ e as larvas resultantes são submetidas a bioensaios visando detecção precoce do desenvolvimento de resistência ao *Bs*.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- As bactérias entomopatógenas *Bacillus sphaericus* e *B. thuringiensis israelensis* são atraentes/estimulantes de oviposição para fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus*, e podem ser utilizados como larvicida em armadilhas de oviposição com infusão de gramínea, por que sua presença não altera a atratividade da armadilha.
- O atraente químico de oviposição J1 associado ao *Bti* é um bom atraente de oviposição para *Culex*, com potencial para substituir a infusão de gramínea em armadilhas.
- Dependendo das condições do ambiente, a BR-OVT pode ser tão eficiente quanto a CDC-Gravid Trap em atrair fêmeas grávidas.
- Em situações ambientais distintas, a BR-OVT pode ser mais eficiente para coleta de jangadas no interior ou no peridomicílio, o que parece estar relacionado com a presença de criadouros altamente competitivos.
- A avaliação a campo demonstrou que a BR-OVT é um instrumento eficiente para coleta de amostras populacionais de *Culex quinquefasciatus*, com sensibilidade para indicar variações na densidade, e apresenta as vantagens de ser facilmente construída e manejada, e dispensar o uso de energia elétrica, tendo boa aceitação pelo público.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998, p. 1163.
- AZEVEDO, R.; DOBBIN, J. E. Filariose (*W. bancrofti*) no grupo residencial do IAPB no bairro dos Afogados (Recife). **Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães**, Recife, v. 1, p. 157-162, 1955.
- ANDREADIS, T. G.; HALL, D. W. Relationship between physiological age and fecundity in *Culex salinarius* (Diptera: Culicidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 112, p. 1249-1252, 1980.
- ALLAN, S.A.; KLINE, D. L. Evaluation of organic infusions and synthetic compounds mediant oviposition in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Chemical Ecology**, Florida, v. 21, p. 1847-1860, 1995.
- BARBOSA, R. M. R. **Emprego simultâneo de estímulos na formação de respostas mais eficazes na postura de fêmeas adultas do mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)**. 1996. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1996.
- BARBOSA, R. M. R. **Estudo do comportamento de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) na escolha de um sítio de postura para construção de armadilha de oviposição**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.
- BARBOSA, R. M. R. *et al.* Laboratory and field evaluation of an oviposition trap for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 523-529, 2007.
- BAUMANN, P. *et al.* Purification of the larvicidal toxin of *Bacillus sphaericus* and evidence for high-molecular-weight precursors. **Journal of Bacteriology**, Davis v. 163, p. 738 -747, 1985.
- BEATMENT, J.; CORBET, S.A. Surface properties of *Culex pipiens* eggs and the behaviour of the female during egg-rafts assembly. **Physiological Entomology**, Chicago, v. 6, p. 135-148, 1981.

BECKER, N.; LUDWIG, M. Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field population after a 10-years application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Waldsee, v. 9, p. 221-224, 1993.

BECKER, N. *et al.* Role of larval cadavers in recycling process of *Bacillus sphaericus*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Waldsee, v. 11, n. 3, p. 329-334, 1995.

BECKER, N. Ice granules containing endotoxins of microbial agents for the control of mosquito larvae: a new application technique. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Waldsee, n. 19, v. 1, p. 63-66, 2003.

BENTLY, M. F.; DAY, J. F. Chemical ecology and behavioral aspect of mosquito oviposition. **Annual Review Entomology**, Orono, v. 34, p. 401-421, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Filariose. In:_____. **O Controle das Endemias no Brasil (de 1979 a 1984)**. Brasília: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, Ministério da Saúde, 1985. p. 130-133.

BRIEGEL, H.; REZZONICO, L. Concentration of host blood protein during feeding by anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, Winterthurerstr, v. 22, p. 612-618, 1985.

BRUNO, D. W.; LAURENCE, B. R. The influence of the apical droplet of *Culex pipiens fatigans* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, London, v. 16, p. 300-305, 1979.

BLACKWELL, A.; DYER, C.; HANSSON, B. S. A. Behavioral and electrophysiological study of oviposition cues for *Culex quinquefasciatus*. **Physiology Entomology**, Roslin, v. 18, p. 343-348, 1993.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Out break of West Nile – like viral encephalitis – New York, 1999. **MMWR**, v. 48, p. 845-849, 1999.

CHADEE, D. D. *et al.* Oviposition response of *Aedes aegypti* mosquitoes to different concentrations of hays infusions in Trinidad, West Indies. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Trinidad, v. 9, p. 346-349, 1993.

CLEMENTS, A. N. **The biology of mosquitoes**. Vol. 1 - Development, Nutrition and Reproduction. London: Chapman & Hall, 1992, 509p.

CLEMENTS, A. N. **The biology of mosquitoes**. Vol. 2 - Sensory Reception and Behaviour. London: Chapman & Hall, 1999, 740p.

CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO DE OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 1994. 228p.

CONSOLI, R. A. G. B; TEXEIRA, M. A. Influence of larval and pupal products on the oviposition behaviour of *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.83, p. 213-218, 1988.

CURTIS, C. F. Approaches to vector control: new and trusted. **Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene**, Ontario, v. 88, p. 144-146, 1994.

DAVIDSON, E. W.; YOUSSTEN A. A. The mosquito larval toxins of *Bacillus sphaericus*. In: _____ **Bacterial Control of Mosquitoes and Blackflies**: Biochemistry, genetics and applications of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus*. New Jersey: Rutgers University, 1990. p. 237-255.

DAVIDSON, E. W. *et al.* Interaction of the *Bacillus sphaericus* mosquito larvicidal proteins. **Journal of Clinical Microbiology**, Ontario, v. 36, p. 870-878, 1994.

DE BARJAC, H. *et al.* Another *Bacillus sphaericus* serotype harbouring strains very toxic to mosquito larvae: serotype H6. **Annales de l'Institut Pasteur. Microbiologie**, Paris, v. 139, p. 363 – 377, 1988.

DE MEILLON, B.; SEBASTIAN, A.; KHAN, Z. H. Cane-sugar feeding in *Culex pipiens fatigans*. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 36, p. 53-65, 1967.

DREYER, G.; COELHO, G. Filariose Linfática: doença potencialmente eliminável. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 537-543, 1987.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Cost and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors. In: _____ ROLTBERG, B. D; ISMAN, M. B. **Insect chemical Ecological**: an evolutionary approach. New York: Chapman and Hall, 1992. p. 122-155.

DU, Y. G.; MILLAR, J. G. Oviposition responses of gravid *Culex quinquefasciatus* and *Culex tarsalis* to bulrush (*Schoenoplectus acutus*) infusions. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Riverside, v. 15, n. 4, p. 500-509, 1999.

DREYER, G. Filariasis programme - Recife - Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 359-360, 1987.

ELDRIDGE, B. F.; EDMAN, J. D. **Medical Entomology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. 659p.

FEDERICI, B. A. The future of microbial insecticides vector control agents. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Riverside, v. 11, n. 2, p. 260-268, 1995.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**, Vol. I. Princípios Gerais, Morfologia, Glossário Taxonômico. Ed. USP. São Paulo, 1996, 548p.

FORATTINI, O. P. *et al.* Potencial sinantrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 565-569, 2000.

GARCIA, R.; DESROCHERS, B., TOZER, W. Studies on the toxicity of *Bacillus thuringiensis* va. *Israelensis* against organisms found in association with mosquito larvae. **Mosquito Control Vector Association**, California, v. 48, p. 33-36, 1980.

GJULLIN, C. M.; JOHNSEN, J. O.; PLAPP, F. W. The effect of odors release by various water on the oviposition sites selected by two species of *Culex*. **Mosquito News**, Riverside, v. 25, p. 268-271, 1965.

HAYES, J. Seasonal changes in population structure of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae): Study of an isolated population. **Journal of Medical Entomology**, London, v. 12, n. 2, p. 167-178, 1975.

HAZARD, E. I.; MAYER, M. S., SAVAGE, K. E. Attraction and oviposition stimulation of gravid female mosquitoes by bacterium isolated from hay infusions. **Mosquito News**, Riverside, v. 27, p. 133-136, 1967.

HWANG, Y. S. *et al.* Attractancy and species specificity of 6-acetoxy-5-hexadecanolide, a mosquito oviposition attraction pheromone. **Journal of Chemical Ecology**, Sacramento, v. 13, p.245-252, 1987.

HOLCK, A. R.; MEEK, C. L.; HOLCK, J. C. Attractant enhanced ovitraps for the surveillance of container breeding mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Lake Charles, v. 4, n. 1, p. 97-98, 1988.

HOMBERG, U.; CHRISTENSEN, T. A.; HILDEBRAND, J. G. Structure and function of the deutocerebrum in insects. **Annual Review of Entomology**, Tucson, v. 34, p. 477-501, 1989.

IKESHOJI, T.; UMINO, T.; HIRAKOSO, S. Studies on mosquito attractants and stimulants. Part IV. An agent producing stimulative effects for oviposition of *Culex pipiens fatigans* in field water and stimulative of various chemicals. **Journal of Experimental Medicine**, Tokyo, v. 37, p. 61-69, 1967.

JUSTSUN, A. R.; GORDON, R. F. S. Introduction. Pheromones: importance to insects and role in pest management. In:_____. **Insect Pheromones in Plant Protection**. London: John Wiley & Sons, 1989, p. 1-13.

KALFON, A. *et al.* Sporulation of *Bacillus sphaericus* 2297: an electron microscope study of crystal like inclusions, biogenesis and toxicity to mosquito larvae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Beer Sheva, v. 130, p. 893-900, 1984.

KRAMER, N. L.; MULLA, M. S. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition response of *Culex* mosquitoes to organic infusion. **Environmental Entomology**, Riverside, v. 8, p. 1111-1117, 1979.

LAURENCE, B. R.; PICKETT, J. A. Erythro-6-acetoxy-5-hexadecanolide, the major component of a mosquito oviposition attractant pheromone. **Journal of Chemical Society**, London, p. 59-60, 1982.

LAURENCE, B. R.; PICKETT, J. A. An oviposition attractant pheromone in *Culex quinquefasciatus* Say (Díptera: Culicidae). **Bulletin Entomology Research**, Cambridge, v. 75, p. 283-290, 1985.

LANDRY, S. V.; DE FOLIART, G. R.; HOGG, D. B. Adult body size and survivorship in a field population of *Aedes triseriatus*, **Journal of the American Mosquito Control Association**, Thailand, v.4, p. 121-128, 1988.

LIMA, J. B. P. *et al.* Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Rio de Janeiro, v 68, p. 329-333, 2003.

LIMA, C. A. **Comportamento de oviposição e desenvolvimento de armadilha isca com atraentes de oviposição natural e sintético para captura de fêmeas grávidas de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Díptera: Culicidae)**, 2005. Tese (Doutorado de Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005

LOUNIBOS, L. P.; LINLEY, J. R. A quantitative analysis of underwater oviposition by the mosquito *Mansonia titillans*. **Physiological Entomology**, Oxford, v.12, p. 435-443, 1987.

LUNA, E. J. A.; PEREIRA, L. E.; SOUZA, R. P. Encefalite do Nilo Ocidental, nossa próxima epidemia? **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, São Paulo, v. 12, p. 7-19, 2003.

MACIEL, A. *et al.* Epidemiological study of Bancroftian Filariasis in Recife, Northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 4, p. 449-455, 1996.

MACIEL, A.; FURTADO, A. F.; MARZOCHI, K. B. F. Perspectivas da municipalização do controle da filariose linfática na região metropolitana do Recife. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 195-203, 1999.

MARGALITH, Y.; BEM-DOV, E. Bti – Present status and future trends. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO (SICONBIOL), 6., 1998, Rio de Janeiro. **Anais: Conferências e Mesas-Redondas**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. p. 19-22.

MAXWELL, C. A. *et al.* Control of bancroftian filariasis by integrating therapy with vector control using polystyrene beads in wet pit latrines. **Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene**, London, v. 84, p. 709-714, 1990.

MBOERA, L. E. G. *et al.* Influence of synthetic oviposition pheromone and volatiles from soakage pits and grass infusions upon oviposition site-selection of *Culex mosquitoes in Tanzania*. **Journal of Chemical Ecology**, Muheza, v.25, p. 1855-1865, 1999.

MBOERA, L. E. G. *et al.* Sampling gravid *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Tanzânia with traps baited with synthetic oviposition pheromone and grass infusions. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 37, p. 172-176, 2000.

MELO-SANTOS, M. A. V. Evaluation of a new tablet formulation based on *Bacillus thuringiensis* sorovar. *israelensis* for larvicida control of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 859-860, 2001.

MILLAR, J. G.; CHANEY, J. D.; MULLA, M. S. Identification of oviposition attractants for *Culex quinquefasciatus* from fermented Bermuda grass infusions. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Riverside, v. 8, p. 11-17, 1992.

MILLAR, J. G.; CHANEY, J. D.; MULLA, M. S. Interaction of the *Culex quinquefasciatus* egg raft pheromone with a natural chemical associated with oviposition sites. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Riverside, v. 10, p. 374-9, 1994.

MULLA, M. S. *et al.* Larvicidal activity and field efficacy of *Bacillus sphaericus* strains against mosquito larvae and their safety to non target organisms. **Mosquito News**, Riverside, v. 44, p. 336-342, 1984.

NASCI, R. S. *et al.* West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitos, New York city, 2000. **Emerging Infectious Diseases**, Colorado, v. 7, p. 742-744, 2001.

NICOLAS, L.; DOSSOU-YOVO, J. M. Differential effects of *Bacillus sphaericus* strain 2362 on *Culex quinquefasciatus* and its competitor *Culex cinereus* in West África. **Medical and Veterinary Entomology**, Paris, v. 1, p. 23-27, 1987.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. Terminology of chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interaction. **Journal of Chemical Ecology**, Tifton, v. 2, p. 211-220, 1976.

OLIVEIRA, C. M. F. **Condições ambientais e densidade populacional do *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) em áreas urbanas do Recife e Olinda.** 1996. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1996.

OLIVEIRA, C. M. F. **Manejo do aparecimento de resistência ao *Bacillus sphaericus* em populações de mosquitos *Culex quinquefasciatus*.** 2002. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2002.

OTIENO, W. A.; ONYANGO, T. O. A field trial of the synthetic oviposition pheromone with *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in Renya. **Bulletin of Entomological Research**, Wallingford, v. 78, p. 463-470, 1988.

OSGOOD, C. E.; KEMPSTER, R. H. Air-flow olfactometer for distinguishing between oviposition attractants and stimulants of mosquitoes. **Journal of Economic Entomology**, Illinois, v. 64, p. 1109-1171, 1971.

OTTESEN, E. A.; RAMACHANDRAN, C. P. Lymphatic filariasis infection and disease: control strategies. **Parasitology Today**, Geneva, v. 11, p. 129-131, 1995.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Insecticidal resistance and vector control**. Geneva: WHO Publications, 1970. p. 270. (WHO Technical Report Series, n. 445).

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Control of lymphatic filariasis**. TDR/BDU/IV, Geneva: WHO Publications, 1987. p. 89.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Lymphatic filariasis Infection & Diseases control strategies**. Report of a consultative meeting at the Universiti Sains Malaysia, Geneva: WHO Publications, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Controlo of Lymphatic Filariasis** (A Manual for Health Personnel). Geneva: WHO Publications, 2000.

PETERSEN, L. R.; ROEHRIG, J. T. West Nile vírus – a reemerging global pathogen. **Emerging Infectious Diseases**, Fort Collins, v. 7, p. 611-614, 2001.

PILE, M. M.; SIMMONDS, M. S. J.; BLANEY, W. M. Odour-mediated upwind flight of *Culex quinquefasciatus* mosquitoes elicited by a synthetic attractant. **Physiological entomology**, Oxford, v. 16, p. 77-85, 1991.

PILE, M. M.; SIMMONDS, M. S. J.; BLANEY, W. M. Odor-mediated upwind flight of *Culex quinquefasciatus* mosquitoes elicited by a synthetic attractant: a reappraisal. **Physiological entomology**, Oxford, v. 61, p. 761-770, 1993.

POONAM, S.; PAILY, K. P.; BALARAMAN, K. Oviposition Attractancy of Bacterial Culture Filtrates – Response of *Culex quinquefasciatus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 359-362, 2002.

RACHOU, R. G. *et al.* Avaliação da domesticidade do *Culex pipiens fatigans*, em Florianópolis (Santa Catarina) por meio de captura intra e extradomiciliárias realizadas concomitantemente. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 9, p. 77-78, 1957.

RAMIAH, K. D., DAS, P. K. Seasonality of adult *Culex quinquefasciatus* and transmission of bancroftian filariasis in Pondicherry South India. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 50, p. 275-288, 1992.

REGIS, L. *et al.* Integrated control measures against *Culex quinquefasciatus*, the vector of filariasis in Recife. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 90, p. 115-119, 1995.

REGIS, L. *et al.* Integrated Control of the Filariasis Vector with Community participation, in an Urban Área of Recife. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 473-482, 1996.

REGIS, L. *et al.* Efficacy of *Bacillus sphaericus* in control of the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* in an urban area of Olinda, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, p. 488-492, 2000.

REGIS, L. *et al.* Bacteriological larvicides for dipteran disease vectors: fundamental and practical aspect. **Trends in Parasitology**, London, v. 17, p. 377-380, 2001.

REISEN, W. K.; MEYER, R. P. Attractiveness of selected oviposition substrates for gravid *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* in Califórnia. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Berkeley, v. 6, p. 244-250, 1990.

REISEN, W. K. *et al.* Effects of trap design and CO₂ presentation on the measurement of adult mosquito abundance using centers for disease control-style miniature light traps. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Davis, v.16, p. 13-18, 2000.

REITER, P. A portable, battery-powered trap for collecting gravid *Culex* mosquitoes. **Mosquito News**, Memphis, n. 43, p. 496-498, 1983.

REITER, P. A standardized procedure for the quantitative surveillance of certain *Culex* mosquitoes by egg raft collection. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Puerto Rico, v. 2, p. 219-221, 1986.

REITER, P. A revised of the CDC gravid mosquito trap. **Journal of the American Mosquito Control Association**, San Juan, v. 3, p. 325-327, 1987.

REITER, P.; MANUEL, M. A.; COLON, N. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. **Journal of the American Mosquito Control Association**, San Juan, v. 7, p. 52-55, 1991.

RITCHIE, S. A. Hay infusion and isopropyl alcohol-baited CDC light trap; a simple, effective trap for gravid *Culex* mosquitoes. **Mosquito News**, Maryland, v. 44, p. 404-407, 1984.
RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. Introdução aos artrópodos. In: _____. **Zoologia dos Invertebrados**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1996. 1179p. cap. 12, p. 577-597.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. Insetos. In: _____. **Zoologia dos Invertebrados**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1996. 1179p. cap. 16, p. 803- 840.

ROCKETT, C. L. Bacteria as oviposition attractants for *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **Great Lakes Entomologist**, Maryland, v. 14, p. 151-155, 1987.

SANT'ANA, A. L.; ROQUE, R. A.; EIRAS, A. E. Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to *Aedes (Stegomyia)* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, Belo Horizonte, v. 43, p. 214-220, 2006.

SANTOS, R. C. Atualização da distribuição de *Aedes albopictus* no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.37, p.671-673, 2003.

RECIFE. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância à Saúde. **Programa de Saúde Ambiental: Subprograma de Controle da Filariose Linfática**. Recife, 2002.

SERVICE, M. W. Sampling adults with carbon dioxide traps, light-traps, visual attraction traps and sound traps. **Mosquito Ecology – Field Sampling Methods**. London: Chapman & Hall, p. 499-610, 1993.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica (para as ciências do comportamento)**. Mcgraw-Hill do Brasil, São Paulo, 1975, 208p.

SILVA-FILHA, M. H. et al. Impact of a 26-month *Bacillus sphaericus* trial on the pre-imaginal density of *Culex quinquefasciatus* in an urban area of Recife, Brasil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Recife, v.17, p.45-50, 2001.

STARRATT, A. N.; OSGOOD, C. E. An oviposition pheromone of the mosquito *Culex tarsalis*: diglyceride composition of the active fraction. **Biochemica et Biophysica Acta**, Netherlands, v. 280, p. 187-93, 1972.

STOOPS, C. A. Influence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on oviposition of *Aedes albopictus* (Skuse), **Journal of Vector Ecology**, Clemson, v. 30, n. 1, p. 41-44, 2004.

SURGEONER, G. A.; HELSON, B. V. An oviposition trap for arbovirus surveillance in *Culex sp.* Mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 110, p. 1049-1052, 1978.

TAKKEN, W.; MBOERA L. E. G. Effects of chemical stimuli on oviposition trap of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Tanzania. **Experimental and Applied Entomology**, N.E.V. Amsterdam, v. 11, p.181-187, 2000.

TSAI, T. F. *et al.* Surveillance of St. Louis encephalitis virus vectors in Grand Junction. **Journal of the American Mosquito Control Association, Davis**, v. 5, p. 161-165, 1989.

THIERY, I. *et al.* Application de *Bacillus thuringiensis* et de *B. sphaericus* dans la démoustication et la lutte contre les vecteurs de maladies tropicales, **Annales de l'Institut Pasteur/ Actualités**, Paris, v. 7, p. 247-260, 1996.

WEISER, J. **Biological control of vectors**. Chichester-UK: John Wiley & Sons, 1991. 189p. UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases-TDR.

WHITE, D. J. **Introduction of West Nile Virus in New York state: Detection and response**. Trabalho apresentado no 65ª Annual Meeting of AMCA, em 2000, 41p.

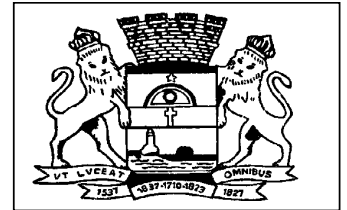
YUAN, Z. M. *et al.* Identification and molecular structural prediction analysis of a toxicity determinant in the *Bacillus sphaericus* crystal larvicidal toxin. **European Journal of Biochemistry**, Montpellier, v. 268, p. 2751-2760, 2000.

VILELA, E. F. **Feromônio de insetos** (biologia, química e emprego no manejo de pragas). Imprensa Universitária, UFV, Viçosa, 1987, 155p.

ZAHIRI, N.; RAU, M. E.; LEWIS, D. J. Oviposition responses of *Aedes aegypti* and *Ae. atropalpus* (Diptera: Culicidae) females to waters from conspecific and heterospecific normal larvae and from larvae infected with *Plagiorchis elegans* (Trematoda: Plagiorchiidae). **Journal of Medical Entomology**, Quebec, v. 34, p. 565-568, 1997.

ZINSER, M.; RAMBERG, F.; WILLOTT, E. *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a potential West Nile virus vector in Tucson, Arizona: Blood meal analysis indicates feeding on both humans and birds. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 4, n. 20, p.1-3, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Ficha de Cadastro de Residências

Prefeitura do Recife
Secretária de Saúde
Centro de Vigilância Ambiental

FICHA DE CADASTRAMENTO DE RESIDÊNCIAS

DATA: ___/___/___

Código do Imóvel: _____
(001 a 200)

Proprietário: _____

Endereço (Rua/ Av./ Trav.): _____

Bairro: _____

– **Rua com saneamento:** sim () não ()

Residência com fossa: sim () não ()

Outro: _____

Localização: _____

– **Instalação da armadilha:** Dentro de casa ()

Fora de casa ao abrigo da chuva ()

Responsável pela informação: _____

(Nome)

APÊNDICE B: Termo de Consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO

Em, _____ de _____ de 2006

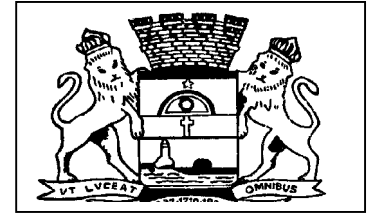
Eu, _____ estou de acordo em participar deste projeto de pesquisa, Aperfeiçoamento e Avaliação de armadilha de oviposição para *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Permitindo que a armadilha de oviposição seja instalada em minha residência. Sabendo que esta experiência irá me beneficiar com a diminuição do número de muriçocas, desta forma, diminuindo o meu risco de contrair Filariose linfática e outras arboviroses transmitidas por esta muriçoca.

Estou ciente de todo o processo necessário de manutenção da armadilha durante todo o período que ela permanecer em minha residência. Estando livre para recusar ou retirar o consentimento de participação em qualquer fase da pesquisa sem penalização de minha pessoa.

Toda e qualquer informação a respeito de minha pessoa e meus familiares como dos pertences residenciais serão mantidos em sigilo durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

Pesquisador para contato: Rosângela Barbosa

Telefone: 21012554

APÊNDICE D: Questionário aplicado aos operadores

Prefeitura do Recife
Centro de Vigilância Ambiental

Área: _____

Data: ___/___/___

Questionário de Avaliação da armadilha BR-OVT aos Agentes de campo

Nome: _____

Inscrição: _____

1-Como a **maioria** dos moradores recebeu a informação de que seria instalada uma armadilha em sua casa?

- aceitou com entusiasmo
- aceitou
- aceitou com restrição
- recusou

2-Quantos moradores recusaram a instalação da armadilha na área?

- mais da metade
- menos de 50 %
- menos de 10 %
- menos de 1 %

3-Algum morador que inicialmente aceitou a armadilha fez restrições a ela posteriormente? Quantos?

- SIM NÃO
-

4- Existem dificuldade em localizar o local para instalação das armadilhas no peridomicilio? Por que?

- SIM NÃO
-

5- Existem dificuldade em instalar as armadilhas no intradomicilio? Por que?

- SIM NÃO
-

6- Houve mudança de atitude dos moradores em relação à transferência da armadilha para o intradomicílio?

() SIM

() NÃO

7- Você acha prática a preparação da armadilha? O que faria para melhorar?

() SIM

() NÃO

8- Acha difícil trabalhar com as armadilhas? Por que?

() SIM

() NÃO

9- Quanto tempo você leva para visitar cada armadilha?

10- Existe dificuldade em contar as jangadas nas armadilhas? Que tipo de dificuldade?

() SIM

() NÃO

11- Se tivéssemos utilizando 100 armadilhas em campo, quantas armadilhas você poderia instalar por dia? E quantas você poderia monitorar por dia?

12- As informações dos benefícios do uso das armadilhas nos programas de controle do mosquito estão sendo repassadas para os moradores?

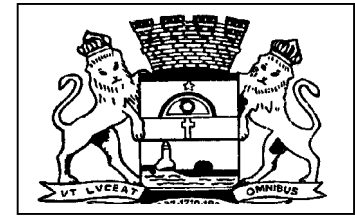
() SIM

() NÃO

13- Quais são os aspectos positivos e negativos deste teste piloto? E quais as sugestões daria?
Aspectos positivos: _____

Aspectos negativos: _____

Sugestões: _____

APÊNDICE E: Questionário aplicado aos Moradores

Prefeitura do Recife
Centro de Vigilância Ambiental

Área: _____

Data: ___/___/___

Questionário de Avaliação da armadilha BR-OVT aos moradores

Imóvel: _____

Proprietário: _____

Endereço: _____

1- A presença da armadilha no quintal da sua casa causa algum tipo de incômodo? Qual?

() SIM

() NÃO

2- A presença da armadilha dentro da sua casa causa algum tipo de incômodo? Qual?

() SIM

() NÃO

3 – A presença da armadilha na sua casa trouxe algum benefício?

() SIM

() NÃO

4 – Você observou alguma alteração no número de muriçoca na sua casa?

() SIM

() NÃO

5- A presença do agente de saúde causou algum incomodo na sua casa?

() SIM

() NÃO

6- Você achou interessante participar desta pesquisa? Por que?

() SIM

() NÃO

APÊNDICE J: Artigo aceito para publicação na Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

An ovitrap for *Culex quinquefasciatus*. Rosângela MR Barbosa et al.

Laboratory and field evaluation of an oviposition trap for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)

Rosângela M.R. Barbosa, Antonio Souto^{*}, Alvaro E. Eiras^{**}, Lêda Regis⁺

Departamento de Entomologia, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães-Fiocruz, Av. Prof. Moraes Rego s/nº, 50670-420 Recife-PE ^{*}Departamento de Zoologia, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil ^{**}Departamento de Parasitologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

Financial support: CNPq (Proc. 301277/2005-2)

⁺**Corresponding author:** leda@cpqam.fiocruz.br

Received 26 December 2006

Accepted

An ovitrap (BR-OVT) based on physical and chemical stimuli for attracting gravid *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) females was developed and evaluated under laboratory and field conditions. Attractants were assayed using alternative chamber bioassays prior to being used in the BR-OVT oviposition trap. A significant preference of gravid females for sites containing conspecific egg rafts was observed, as a response to the natural oviposition pheromone, as well as for sites treated with the synthetic pheromone erythro-6-acetoxy-5-hexadecanolide. Five- to twenty-day old grass infusion was strongly attractive to gravid females for laying eggs. On the other hand, entomopathogenic *Bacillus sphaericus* (Bs) did not influence the choice of an oviposition site when used in combination with grass infusion and can therefore be used as a larvicide in ovitraps. Results from field trials showed that the BR-OVT with grass infusion and with or without Bs works as a preferred oviposition site for *Cx. quinquefasciatus*. The BR-OVT was more effective for egg collection when placed indoors and comparison with the number of egg rafts laid in cesspits over 40 days indicates that this very simple ovitrap may be a useful tool for monitoring populations of the most important of the vectors of bancroftian filariasis.

Key words: *Culex quinquefasciatus* - ovitrap - grass infusion - *Bacillus sphaericus* - oviposition pheromone

Culex species are major urban biting nuisances and are vectors of important pathogens including *Wuchereria bancrofti*, the main causative agent of lymphatic filariasis, and arboviruses such as St Louis encephalitis virus and West Nile virus.

The eggs of *Culex quinquefasciatus* Say are laid as floating rafts and each egg has an apical droplet of an oviposition aggregation pheromone (Laurence & Pickett 1982) which tends to concentrate their offspring in high nutrient waste water in urban areas. Their breeding places are typically permanent or semi-permanent sites containing organically enriched and preferably dark polluted water with high microbial activity, found in man-made environments. Gravid females respond to a combination of chemical cues (pheromones and Kairomones) and physical cues (e.g. water reflectance, darkness, and temperature) to locate and recognize suitable oviposition sites. Strategies based on semiochemicals involved in mediating oviposition site location behavior have been used to attract gravid females to artificial breeding sites for trapping and to collect their egg rafts for use in *C. quinquefasciatus* surveillance (Reiter 1983, 1986, Millar et al. 1994) and control (Otieno et al. 1988). Fermented infusions of plant material or animal excreta (Bentley & Day 1989, Reisen & Meyer 1990, Lee & Kokas 2004) as well as compounds extracted from grass infusion show strong attractiveness to gravid *Culex* females (Blackwell et al. 1993, Millar et al. 1994, Mboera et al. 2000). Volatile chemicals produced by some species of fungus and bacteria (Poonam et al. 2002, Geetha et al. 2003) have been shown to be highly active as oviposition attractants for *C. quinquefasciatus*.

Egg raft collections can be useful for monitoring population densities of different *Culex* species, seasonal oviposition activity (Madder et al. 1980, Leiser & Beier 1982), for assessing the impact of control actions and for obtaining samples for the study of insecticide resistance and other research purposes (Reiter 1986).

This paper reports the attractiveness for gravid females of a very simple novel ovitrap model using olfactory stimuli and physical cues, evaluated under laboratory and field conditions in a Brazilian city endemic for lymphatic filariasis, with highly favourable conditions for *Cx. quinquefasciatus* breeding throughout the year.

MATERIALS AND METHODS

Prior to evaluating the field performance of the oviposition trap BR-OVT, the response of local strain *Cx. quinquefasciatus* females to oviposition attractants and to bacterial larvicides was investigated in the laboratory.

Laboratory assays - Females of *Cx. quinquefasciatus* Say (Recife strain) were obtained from a colony maintained in the laboratory with an LD 12: 12 h photoperiod at $27 \pm 2^\circ\text{C}$ at the Centre of Research Aggeu Magalhães-Fiocruz in Recife, Brazil. Larvae were fed on Whiskas® cat food. Adult females (5 - 6 days old) were bloodfed on chickens. To establish the best time for females to be used in bioassays, 4 groups of 10 females each were introduced, 3 days after their blood-meal, into cages containing two cups filled with water from laboratory breeding containers, and left overnight. No oviposition occurred. In a second experiment, 8 groups of 20 females each were allowed to oviposit under identical conditions, 5 or 8 days after feeding. The average number of egg rafts found the next morning was 9.5 and 11.1 per group, corresponding to 47.5 and 55.6% of the females, respectively. Therefore, the bioassays were restricted to females 8 days subsequent to their blood-meal.

Bioassays - Oviposition bioassays were carried out at $27 \pm 2^\circ\text{C}$ and 12L: 12 D cycle in muslin-covered wooden framed small cages (30 x 22 x 20 cm) or large cages (115 x 82 x 64.5 cm). Gravid females were offered the choice between two oviposition sites (glass cups or traps), placed into the cage on opposite sides: one test and one control. The assays were conducted between 18:00 and 08:00 h. Egg rafts deposited in each cup were counted at the end of the assay.

Egg raft pheromone - Test cups contained 250 ml dechlorinated tap water plus 5 egg rafts within 24 h after oviposition. Control cups contained 250 ml dechlorinated tap water plus 5 egg rafts at the same age, but washed with a solvent (hexane) to override any visual stimulus that could influence the choice of the oviposition site. A total of 18 repetitions of this experiment were carried out, with one gravid female per replicate (to prevent any subsequent oviposition from changing the initial number of rafts, a factor that could have biased the results).

Synthetic oviposition pheromone (SOP) - A sample of racemic erythro-6-acetoxy-5-hexadecanolide (obtained from Dr Jocelyn Millar, University of California, Riverside, CA, US) was tested in doses ranging from 0.03 to 1.56 μg . According to the dose to be tested, 2 to 100 μl of a SOP solution in hexane was applied with a Hamilton syringe to a filter paper disc (2 cm diameter). The disc was placed on a polystyrene disc. Next, the arrangement was positioned on the surface of the water where it remained floating. Equal volumes (2, 10, 25, 50 or 100 μl) of hexane were applied to the control disc using the same procedure. The numbers of egg rafts laid in the treatment and control cups were counted the next day. Twelve replicate cages with 20 gravid females each were used.

The oviposition trap (BR-OVT) - An oviposition trap model was developed associating physical and chemical factors to attract gravid *Culex* females for oviposition. The trap BR-OVT (Intellectual Property: PI 0201899-3) is composed of a simple black plastic box (13 x 35 x 24 cm) with a central window (16 x 9 cm) on the top surface, not only allowing females to access the oviposition site, but also facilitating the perception of chemical cues emanating from within the apparatus. A black bowl, 21 cm in diameter and 3.50 cm high, filled with 800 ml of tap water with an oviposition attractant was placed in the bottom of the box (Fig. 1). The black coloured box and bowl should provide an environment with low light levels and assures an internal environment protected from the wind. One side of the box can be opened to permit the bowl to be moved in and out.

Grass infusion (GI) trials - Infusions of *Eleusine indica* (Poaceae) were tested to select the best result of infusion to be used to attract female mosquitoes. The grass infusion (GI) was prepared by adding 30 g of fresh grass to two litres of tap water and incubated at $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ for five, ten, fifteen and twenty days in storage bottles. The bioassays were conducted in a large cage using groups of 200 gravid females. Two BR-OVT, filled with either GI or tap water, were placed on the floor of the cage at 1800 hrs and left overnight. The experiment was repeated 6 times using the 15-day-old GI (the best result) to study the attractiveness of the trap with GI as compared to water.

The use of larvicides in ovitraps is necessary to avoid them becoming a breeding place. Prior to using entomopathogenic bacteria as larvicides in the BR-OVT, the oviposition response of mosquito females to the presence of *Bacillus sphaericus* (*Bs*) and *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) was investigated. For this, a series of oviposition assays in a two-choice chamber using *Bs* whole fermented culture (1000 ppm, 2000 ppm or 3000 ppm) and a product based on *Bti*, VectoBac-CG[®] (0.45 mg/l) added either to tap water or to GI, tested against their respective controls, was conducted in large cages. Each experiment, using batches of 50 or 100 gravid females was carried out in 6 to 8 replicates. The assay protocol was the same as described above.

Field tests - Experiments were conducted in three districts of Olinda, a coastal city near to Recife, as well as in a district of Recife, Northeast Brazil. The city of Recife and its surrounding urban area, with about 3.5 million inhabitants, is the main endemic area for lymphatic filariasis in Brazil. High temperatures, heavy rainfall and unplanned urban development with poor sanitation are responsible for high mosquito population densities throughout the year (Regis et al 1995). *Cx. quinquefasciatus* is the main mosquito species in

this area, followed by the dengue vector *Aedes aegypti*. The districts of Nova Olinda, Peixinhos and Vila Popular in Olinda and Caçote in Recife were selected for field tests.

The efficacy of the BR-OVT in attracting gravid females for oviposition was compared to that of a black bowl (21 cm diameter and 3.5 cm high), both filled with 800 ml of GI. They were placed one meter apart from each other in a house located in the Vila Popular district of Olinda, on the ground, one pair indoors and one pair outdoors. Twelve repetitions were carried out within a period of 30 days. The experiment was set up at 18:00 h and left overnight and the position of the trap and bowl alternated daily. Egg rafts were recovered and counted every day.

To assess the attractiveness of the BR-OVT with GI compared to the BR-OVT containing tap water alone, under field conditions, an experiment was carried out simultaneously in three district of Olinda, placing one pair of traps in one household per district. The BR-OVTs were placed 1 m apart from each other on the floor of a room at 18:00 h and left overnight. At 08:00 h the egg rafts laid in each BR-OVT were removed and counted. The experiment ran for 12 days and the positions of the treatment and control traps were alternated daily. Trap bowls were filled with either GI or water at the beginning and were not changed throughout the experimental period. Egg rafts were recovered and counted every day.

The number of egg rafts collected in the BR-OVT was compared to the number of females caught in a CDC gravid trap (model 1712 by John Hock Company). Grass infusion was used in both traps. The traps were placed in a household in the Vila Popular district of Olinda, 1 m apart from each other on the floor of a room at 18:00 h and left overnight. Each morning at 08:00 h the egg rafts laid and the females caught in the traps were removed and counted. This experiment ran for 60 days.

To evaluate the performance of the BR-OVT (with GI and Bs) according to its placement, traps were set indoors and/or outdoors alternatively or simultaneously in 11 premises located in Caçote, a district of Recife. One trap per house was set up in the backyard for 40 days and subsequently within rooms in the same households for an equal time. In a second trial, two BR-OVTs were placed simultaneously one indoors and the other outdoors in the same premises. A product based on *Bs*, Vectolex®, was applied to the traps at a concentration of 0.5 mg/l and egg rafts laid were recovered and counted every two days. The outdoor traps were always set up close to a cesspit from which samples were taken to count the egg rafts. On each occasion, nine samples were taken using a 300 ml dipper, two samples from each side and one from the centre of the cesspit.

Data analysis - The difference between treatments and control in each experiment was analysed using the Wilcoxon signed rank test or Friedman (Siegel & Castellan 1988). Values of $p \leq 0.05$ (two-tailed) were considered significant. The final value of N might be subject to some variation due to the number of replications when the Wilcoxon test is manually applied, according to the normal procedures: This test does not take into account paired data when both have identical ranks, reducing the N of the sample (Siegel & Castellan 1988). The Oviposition Activity Index (OAI) was estimated, according to Kramer and Mulla (1979). Index values lay within the range of + 1 to - 1, and, as suggested by Hwang et al. (1982) positive values of + 0.3 and above indicate that the material is an attractant in a broad sense, while negative values of - 0.3 and below indicate repellency.

RESULTS

Response of females to the natural and synthetic oviposition pheromone (SOP) - Bioassay results showed significant preference of gravid females for cups containing five recently laid unwashed egg rafts, compared to those with egg rafts recently laid and washed with hexane. The cups containing unwashed egg rafts received 16 out of a total of 18 egg rafts laid during the assay ($n = 18, k = 2, p = 0.02$).

Significantly more egg rafts were laid in the cup treated with SOP than in the control, except for the highest SOP dose. The cups treated with doses ranging from 0.03 to 0.78 μg received similar levels of oviposition: 70 to 76% of the total number of egg rafts deposited in treatment and control ($p \leq 0.05$, in all cases). However, when 1.56 μg of SOP was added to the test cup, 91.5% of the egg rafts were deposited in the control cup ($n = 6, T = 21, p < 0.05$). The OAI was negative, suggesting a repellent effect of this high dose (Fig. 2).

Response of females to entomopathogenic bacteria - Cups containing water treated with Bs at concentrations of 2000 ppm or 3000 ppm received more egg rafts than the control: 79.8% compared with 20.2 and 72.1% compared with 27.9% respectively. At a lower concentration (1000 ppm) no difference was observed between the percentage of egg rafts laid in the treated water (57.7%) and the control (42.3% $p > 0.05$). GI received significantly more egg rafts than Bs (2000 ppm) added to water ($p < 0.05$) (Table I) but the assays comparing Bs plus GI and GI alone showed no preference for either option ($p > 0.05$). Similar results were obtained from the assays using Bti added to water compared with water or GI. However, when Bti was applied to GI, the cup containing GI only received more egg rafts ($p < 0.02$) (Table I).

Response of females to GI in the BR-OVT - To select the optimal number of days of infusion to be used in the trap, 5, 10, 15, and 20-day old infusions were assayed one by one against tap water as a control. The results showed that all attracted more than 80% of the females for oviposition as compared to their respective controls, the OAI ranging from 0.63 to 0.75. However the number of egg rafts laid in the BR-OVT containing 15 day-infusion was higher than in the other assays: 131 egg rafts against 47, 36, and 108 respectively for 5, 10, and 20 days of infusion.

The ability of the BR-OVT to attract gravid females for oviposition was first evaluated in the laboratory, offering two options to six groups of 200 gravid females per cage: a BR-OVT containing 15 day-GI and a BR-OVT with tap water only. The results showed a high preference for the BR-OVT + GI: 946 (92.1%, OAI= + 0.8) egg rafts compared with 81 laid in the BR-OVT + tap water ($n = 6$, $T = 21$, $p < 0.05$).

Field tests - Comparison of the efficacy of BR-OVTs with black bowls, both filled with GI, showed that, indoors, females laid 43 (81.1%) out of 53 egg-rafts in the BR-OVT ($n = 12$; $T = 78$; $p < 0.001$), while, in the backyard, the BR-OVT received 20 (86.9%) of the total of 23 egg rafts.

Field experiments comparing GI to tap water in the BR-OVT confirmed that the ovitrap with infusion is more attractive to *C. quinquefasciatus* gravid females than the ovitrap with tap water. During this experiment, which ran for 12 days, the total number of egg rafts found in the two traps placed in each house ranged from 15 (Vila Popular district) to 36 (Nova Olinda district) to 48 (Peixinhos district) and the percentages of oviposition in the GI-treated BR-OVT in each district were, respectively 75% ($n = 6$, $T = 21$, $p < 0.05$), 73.9% ($n = 11$, $T = 66$, $p < 0.001$) and 79.1% ($n = 10$, $T = 55$, $p < 0.01$) (Fig. 3).

The attractiveness of the BR-OVT for gravid females was compared to that of the CDC gravid trap, both placed simultaneously in the same premises, by counting the egg rafts laid in the first and the females caught in the second trap over two months. The results showed that 51 egg rafts were laid in the BR-OVT, while 20 females were caught in the CDC gravid trap ($n = 12$, $T = 63.5$, $p < 0.064$).

When the performance of the BR-OVT was evaluated in the backyard of the premises (September-October 2004) and subsequently indoors (October-November 2004), significantly more egg rafts were deposited in the traps located indoors (760) (Fig. 4) than out of doors (186) (Fig. 5). When two traps were used simultaneously in the same premises, a total of 1144

egg rafts were found in the traps, of which 673 egg rafts were laid indoors and 471 outdoors, this difference was not statistically significant ($p > 0.05$) (Fig. 6).

No statistically significant differences were found between the number of egg rafts laid in the traps placed inside the premises and that found in the samples taken from the cesspit ($p > 0.05$) in the experiment where one trap per premise was used (Fig. 4). However, the traps set up close to the cesspit received significantly fewer egg rafts than those counted in the samples from the cesspit (Fig. 5). When two traps per premise were used (inside and outside the house), the sum of egg rafts laid (1144) over 20 days was similar to that observed in the samples from the cesspits (1373) (Fig. 6).

DISCUSSION

The evaluation of chemical cues in the choice of an oviposition site using two choice bioassays showed that the Recife strain of *C. quinquefasciatus* produces and responds to the oviposition pheromone, as with other populations of this species (Bruno & Laurence 1979, Isoe et al. 1995), confirming that oviposition site selection is influenced by the pheromone emanating from apical droplets on the eggs, as previously reported by Laurence and Pickett (1982). This information is important for egg or adult trapping purpose because the first egg rafts laid will contribute to increasing the ovitrap's attractiveness thereafter. At most of the doses tested, gravid females also responded to the synthetic oviposition pheromone, corroborating previous observations regarding *C. quinquefasciatus* (Laurence & Pickett 1982). However, the highest dose (1.56 μg) assayed gave a negative OAI (-0.82), indicating a repellent effect. One might suppose that a very high concentration of pheromone could be perceived by a female as an inappropriate area for oviposition with possible competition for resources by the larvae already present.

The BR-OVT received more egg rafts than controls when filled with 15-day old GI in the laboratory (OAI = $+0.82$) as well as under field conditions. It is known that the ability of GI to attract gravid female mosquitoes is variable over time, according to changes in the composition of infusions, as a consequence of the dynamics of microbial fermentation (Hazard et al. 1967, Millar et al. 1992, Sant'Ana et al. 2006). Although in this study the 15-day infusion showed the best outcome, as revealed by the largest number of rafts deposited in the test cup, all infusions tested, from 5 to 20 days old were, to varying degrees, significantly more attractive than water. This observation justified use of GI in the new ovitrap for prolonged periods without changing it. This was only made possible by the addition of a larvicide, removing the risk of transforming the ovitrap into a breeding place for larvae

hatched from egg rafts laid there. The entomopathogenic bacteria assayed showed themselves to be an appropriate larvicide for use in oviposition traps for *Culex*, since they did not have a repellent effect on gravid females. Furthermore, it was observed that both *Bs* and *Bti* attracted and/or stimulated more oviposition than water, confirming the results obtained by Poonam et al. (2002) when testing culture filtrates of these bacteria for attractancy to gravid females of *C. quinquefasciatus*. On the other hand, according to our results, the addition of *Bs* to GI did not alter the attractiveness of the site. This is not true, however, for *Bti*, the presence of which, in combination with GI, under laboratory conditions, attracted fewer females to oviposit as compared to GI alone. By contrast, in a field study using a combination of *Bti* and grass infusion in ovitraps for *Aedes aegypti*, Santos et al. (2003) concluded that *Bti* appears not to interfere in the choice of trap for oviposition by gravid females.

The fact that the BR-OVT received many more egg rafts than a simple black bowl, tested under identical conditions, irrespective of their location indoors or outdoors, clearly shows that the dark and wind-protected microenvironment created by the black box of the trap enhances its attractiveness for gravid females.

Based on the data from these preliminary experiments, the field performance of the BR-OVT was evaluated using a combination of GI and *B. sphaericus*. Besides being considered the best option as a larvicide against *Cx. quinquefasciatus* (Regis et al. 2001) this bacterium has proved to be compatible for use in combination with infusion in ovitraps. It is important to emphasize that in field experiments the number of egg rafts deposited in the ovitrap will depend on the local mosquito population density and structure, particularly the proportion of gravid females locally available during the experiment. The population size of *C. quinquefasciatus*, which is an *r*-strategist, shows marked natural fluctuations over time. Therefore it is not surprising that the number of egg rafts found in the BR-OVT during the field trial carried out in Olinda, varied markedly among the districts studied and within the same house at different times. Nevertheless, the BR-OVT with GI received significantly more egg rafts than the control in all experiments.

The results observed in the Caçote district of Recife demonstrate that the BR-OVT can collect more eggs inside houses than when installed in a backyard close to a cesspit, the main type of breeding site for *Cx. quinquefasciatus* in Recife (Regis et al. 1995, Silva-Filha et al. 2001). There are at least two reasons for this: on the one hand, this anthropophilic mosquito shows a preference for biting and resting inside houses, where water collections rich in organic material, their preferred oviposition sites, are infrequent and therefore there are

rarely any other oviposition sites competing with the trap; on the other hand, in the backyard the cesspit constitutes a strong competitor for the trap.

The sensitivity of the BR-OVT as a tool for monitoring mosquito population densities was demonstrated by comparing the number of egg rafts collected in it with that found simultaneously in cesspits or with the number of females caught in the CDC-gravid trap. The BR-OVT does not require electricity and is cheap, robust and easy to manipulate. Using a larvicide in the trap makes it unnecessary to remove eggs on a daily basis. This is of practical interest because it guarantees the safety of the ovitrap and extends the intervals between inspections, reducing the operational costs of programs. In combination with oviposition attractants and a larvicide, it is a potential candidate for use in surveillance as well as for collecting population samples for research purposes and perhaps as a control method in which large numbers of egg rafts would be laid into the traps where the larvae would not survive.

ACKNOWLEDGMENTS

To Dr Jocelyn Millar (University of California, Riverside, CA, US) for providing the synthetic pheromone and to reviewers for editing the English text.

REFERENCES

- Bentley MF, Day JF 1989. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *An Rev Entomol* 34: 401-421.
- Blackwell A, Dyer C, Hansson BS, Wadhams LJ, Pickett JA 1993. A behavioral and electrophysiological study of oviposition cues for *Culex quinquefasciatus*. *Physiol Entomol* 18: 343-348.
- Bruno DW, Laurence BR 1979. The influence of the apical droplet of *Culex* egg rafts on oviposition of *Culex pipiens fatigans* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 16: 300-305.
- Geetha I, Paily KP, Padmanaban V, Balaraman K 2003. Oviposition response of the mosquito, *Culex quinquefasciatus* to the secondary metabolite(s) of the fungus, *Trichoderma viride*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 223-226.

- Hazard EI, Mayer MS, Savage KE 1967. Attraction and oviposition stimulation of gravid female mosquitoes by bacterium isolated from hay infusions. *Mosq News* 27: 133-136.
- Hwang, YS, Schultz GW, Axelrod H, Kramer WL, Mulla MS 1982. Oviposition repellency of fatty acids and their derivatives against *Culex* and *Aedes* mosquitoes. *Environm Entomol* 11: 223-226.
- Isoe J, Millar JG, Beehler JW 1995. Bioassays for *Culex* (Diptera: Culicidae) mosquito oviposition attractants and stimulants. *J Med Entomol* 32: 475-483.
- Kramer WL, Mulla MS 1979. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: Oviposition responses of *Culex* mosquitoes to organic infusions. *Environm Entomol* 8: 1111-1117.
- Laurence BR, Pickett, JA 1982. Erythro-6-acetoxy-5-hexadecanolide, the major component of a mosquito oviposition attractant pheromone. *J Chem Soc Chem Comm* 59-60.
- Lee J, Kokas JE 2004. Field evaluation of CDC gravid trap attractants to primary West Nile virus vectors, *Culex* mosquitoes in New York State. *J Am Mosq Cont Assoc* 20: 248-253.
- Leiser LB, Beier JC 1982. A comparison of oviposition traps and New Jersey light traps for *Culex* population surveillance. *Mosq News* 42: 391-395.
- Madder DJ, MacDonald RS, Surgeoner GA, Helson BV 1980. The use of oviposition activity to monitor populations of *Culex pipiens* and *Culex restuans* (Diptera: Culicidae). *Canadian Entomol* 112: 1013-1013.
- Mboera LEG, Takken W, Mdira KY, Pickett JA 2000. Sampling gravid *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in Tanzania with traps baited with synthetic oviposition pheromone and grass infusion. *J Med Entomol* 37: 172-176.
- Millar JG, Chaney JD, Beehler JW, Mulla MS 1994. Interaction of *Culex quinquefasciatus* egg raft pheromone with a natural chemical associated with oviposition sites. *J Am Mosq Cont Assoc* 10: 374-379.

- Millar JG, Chaney JD, Mulla MS 1992. Identification of oviposition attractants for *Culex quinquefasciatus* from fermented Bermuda grass infusions. *J Am Mosq Cont Assoc* 8: 11-17.
- Otieno WA, Onyango TO, Pile MM, Laurence BR, Dawson GW, Wadham LJ, Pickett JA 1988. A field trial of the synthetic oviposition pheromone with *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in Kenya. *Bul Entomol Res* 78: 463-470.
- Poonam S, Paily KP, Balaraman K 2002. Oviposition Attractancy of Bacterial Culture Filtrates – Response of *Culex quinquefasciatus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 97: 359-362.
- Regis L, Silva-Filha MH, Nielsen-LeRoux C, Charles JF 2001. Bacteriological larvicides of diptera disease vectors. *Trends Parasitol* 17: 377-380.
- Regis L, Silva-Filha MH, Oliveira CMF, Rios EM, Silva SB, Furtado AF 1995. Integrated control measures against *Culex quinquefasciatus*, the vector of filariasis in Recife. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 90: 115-119.
- Reiter P 1983. A portable battery-powered trap for collecting gravid *Culex* mosquitoes. *Mosq News* 43: 496-495.
- Reiter P 1986. A standardized procedure for the quantitative surveillance of certain *Culex* mosquitoes by egg raft collection. *J Am Mosq Cont Assoc* 2: 219-221.
- Reisen WK, Meyer RP 1990. Attractiveness of selected oviposition substrates for gravid *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* in California. *J Am Mosq Cont Assoc* 6: 244-250.
- Siegel S, Castellan NJ 1988. Non-parametric Statistics for the Behavioral Sciences, *McGrawHill, New York*.
- Sant'Ana A, Roque RA, Eiras AE 2006. Characteristics of grass infusions as oviposition attractants to *Aedes (Stegomyia)* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 43: 214-220.

Santos SRA, Melo-Santos MAV, Regis L, Albuquerque CMR 2003. Field evaluation of ovitraps consociated with grass infusion and *Bacillus thuringiensis* var.*israelensis* to determine oviposition rates. *Dengue Bul* 27: 156-162.

Silva-Filha MH, Regis L, Oliveira CMF, Furtado AF 2001. Impact of a 26-month *Bacillus sphaericus* trial on the preimaginal density of *Culex quinquefasciatus* in an urban area of Recife, Brazil. *J Am Mosq Cont Assoc* 17: 45-50.

FIGURE CAPTIONS

Fig. 1: schematic diagram of the BR-OVT oviposition trap.

Fig. 2: oviposition activity indices (OAI) calculated for the reponse of *Culex quinquefasciatus* gravid females to different concentrations of synthetic oviposition pheromone (SOP) in selected chamber bioassays.

Fig. 3: average number of egg rafts laid per day in the BR-OVT ovitrap with grass infusion or tap water at Olinda city, Brazil, during 30 days (September, 2000). Wilcoxon signed rank test (two-tailed); * $p \leq 0.05$ (n = 6, T = 21), ** $p \leq 0.01$ (n = 10, T = 55), *** $p \leq 0.001$ (n = 11, T = 66).

Fig. 4: number of egg rafts collected in 11 BR-OVTs placed inside premises (one trap per premise) in the Caçote district of Recife, compared to the number of egg rafts found in the cesspit in the backyard of the premises (9 samples per cesspit). September-October. Wilcoxon signed rank test (two-tailed); $p > 0.05$ (n = 20, T = 56).

Fig. 5: number of egg rafts collected in 11 BR-OVTs placed outside premises (one trap per premise) in the Caçote district of Recife compared to the number of egg rafts found in the cesspit in the backyard of the premises (9 samples per cesspit). October-November 2004. Wilcoxon signed rank test (two-tailed); $p < 0.001$ (n = 20, T = 4)

Fig. 6: number of egg rafts collected in 11 BR-OVT placed inside and 11 outside premises (two traps per premise) in the Caçote district of Recife compared to the number of egg rafts found in the cesspit in the backyard of the premises (9 samples per cesspit). June-September 2004. Friedman signed rank test; $p > 0.05$.

TABLE

Response of gravid females to *Bacillus sphaericus* (*Bs*) (fermented culture at 2000 ppm) and to *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) (VectoBac CG 0.45 g/l) combined with either tap water or grass infusion (GI) regarding the choice of an oviposition site

Assay	Females/assay	Number of egg rafts laid											
		Bs	Water	Bs	GI	Bs+GI	GI	Bti	Water	Bti	GI	Bti+GI	GI
1	100	27	6	24	72	37	35	45	5	25	45	4	45
2	100	40	8	22	80	38	30	17	3	34	32	4	40
3	100	37	6	8	84	33	38	22	19	8	85	19	26
4	100	53	12	14	80	17	36	12	8	1	24	11	32
5	100	73	26	0	80	5	30	32	4	0	95	9	20
6	100	79	20	4	90	48	52	39	10	6	64	4	28
7	50	-	-	-	-	-	-	45	2	0	78*	16	34
8	50	-	-	-	-	-	-	46	0	4	94*	5	45
Total		309	78	72	486	178	221	258	51	78	517	72	270
%		79.8	20.2	12.9	87.1	44.6	55.4	83.5	16.5	13.1	86.9	21.1	78.9
OAI		0.6		-0.7		-0.1		0.7		-0.7		-0.6	

* 100 females per assay

FIGURE 1

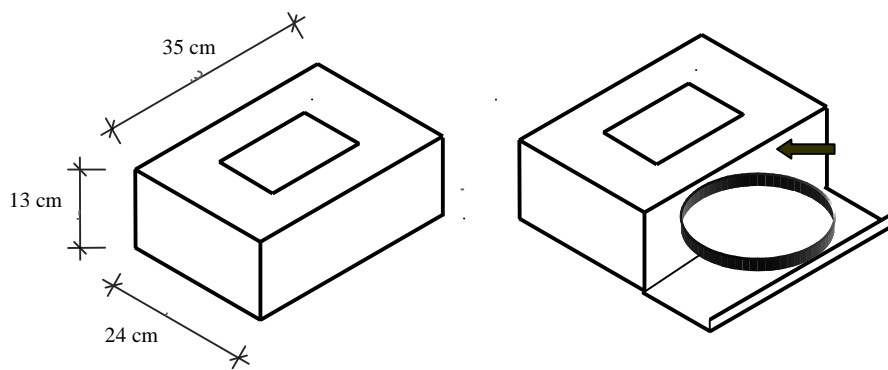


FIGURE 2

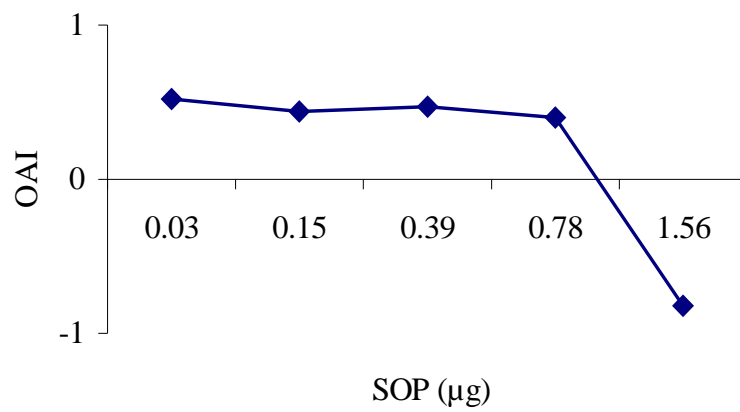


FIGURE 3

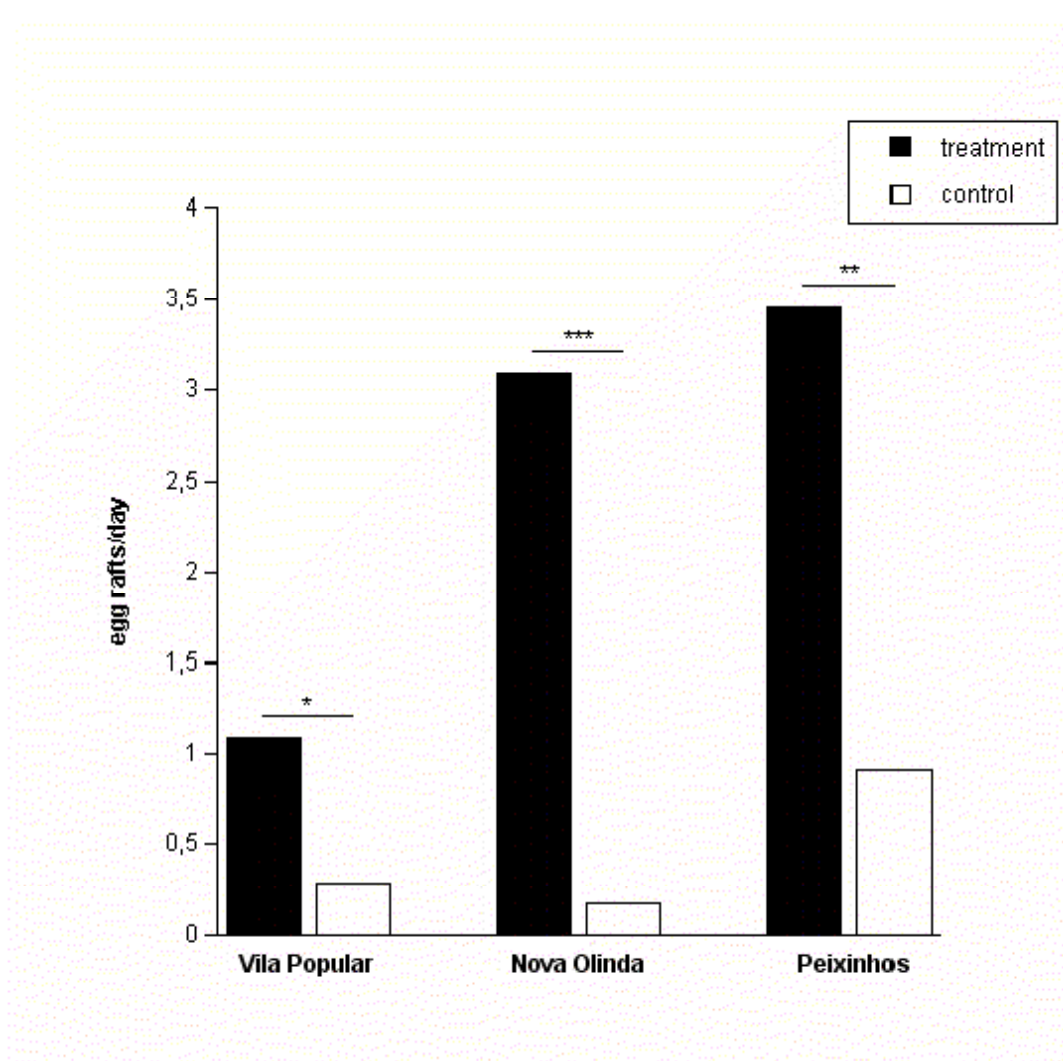


FIGURE 4

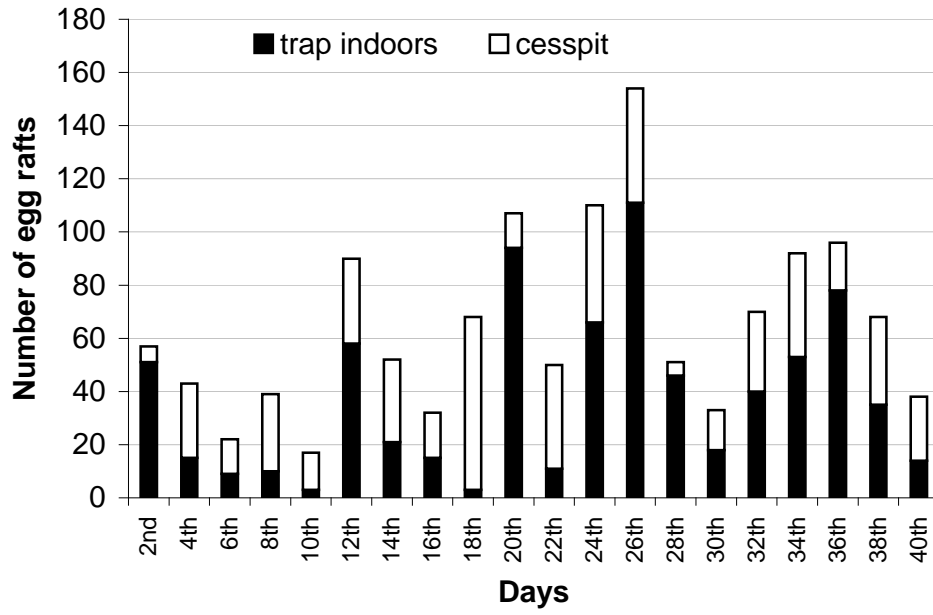


FIGURE 5

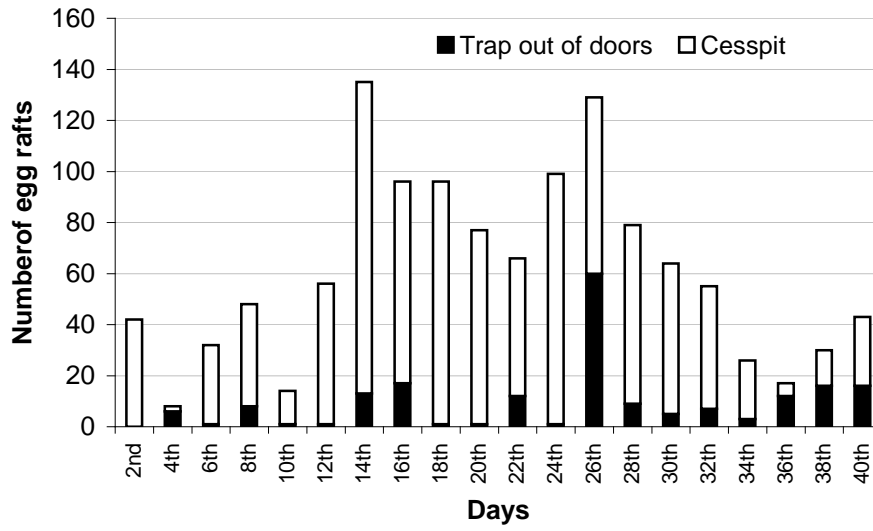
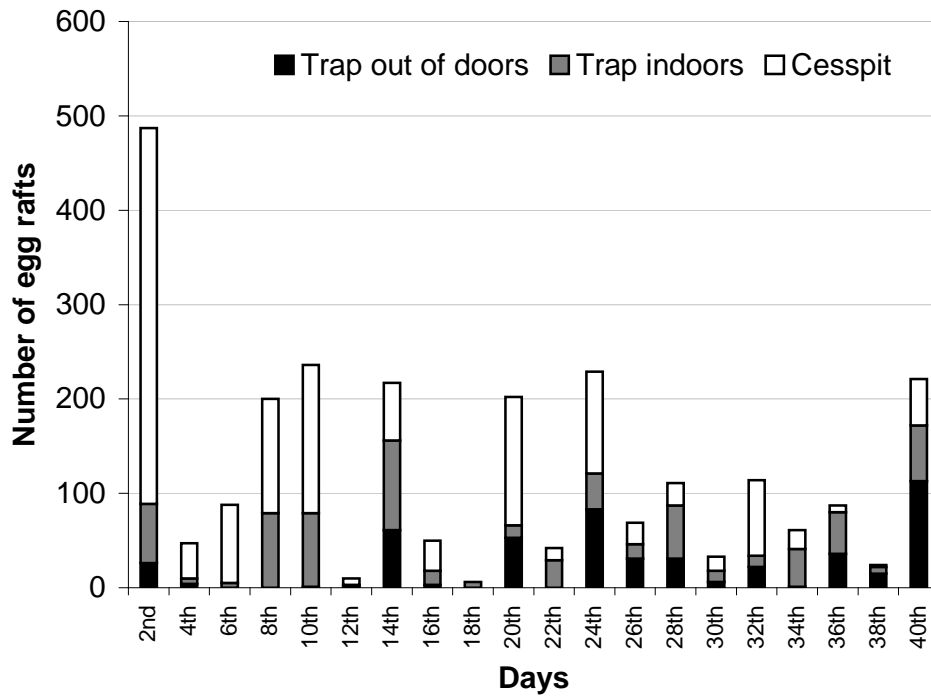


FIGURE 6



ANEXO

ANEXO A: Registro no Comitê de Ética/CPqAM-FIOCRUZ: 01/03

