

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA - PPG ENT**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE DE DERIVADOS DE OCTENOL E
ÁCIDO LÁTICO CONTRA FÊMEAS DO MOSQUITO *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)**

LUIZ ANTONIO PERFETO OLIVEIRA SILVA

Manaus, Amazonas

Junho, 2024

LUIZ ANTONIO PERFETO OLIVEIRA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE DE DERIVADOS DE OCTENOL E
ÁCIDO LÁTICO CONTRA FÊMEAS DO MOSQUITO *Aedes (Stegomyia) aegypti*
(LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)**

Orientadora: Rosemary Aparecida Roque

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Entomologia.

Manaus, Amazonas

Junho, 2024

Membros Titulares da Banca Julgadora

Dr. João Antonio Cyrino Zequi
Universidade Estadual de Londrina/UEL
(zequi@uel.br);

Dra. Joelma Soares da Silva
Universidade Federal do Maranhão/UFMA
(joelma.soares@ufma.br);

Dr. Felipe Arley Costa Pessoa
Instituto Leônidas & Maria Deane – ILMD/Fiocruz – AM
(felipe.pessoa@fiocruz.br).

Membros Suplentes da Banca Julgadora

Dr. Francisco Augusto da Silva Ferreira
Instituto Leônidas & Maria Deane – ILMD / Fiocruz – AM
(fcoaugusto.bio@gmail.com);

Dr. Ronildo Baiatone Alencar
Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas / FVS – RCP
(alencarronildo@gmail.com).

Catalogação na Publicação (CIP-Brasil)

P438a Perfeto, L.

Avaliação da atividade repelente de derivados de octenol e ácido láctico contra fêmeas do mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) / Luiz Antônio Perfeto Oliveira Silva; orientadora Rosemary Aparecida Roque. - Manaus: [s.l.], 2024.

2,44 MB
82p.: il. color.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Entomologia)
- Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2024.

1. Arboviroses. 2. Controle vetorial. 3. Dengue. 4. Mosquitos. 5. Saúde pública. I. Roque, Rosemary. II. Título.

CDD 632.7

Sinopse:

Investigou-se a eficácia de derivados à base de substâncias atrativas como repelentes em fêmeas *Aedes aegypti*. Testes realizados evidenciou a atividade repelente em voluntários. Os resultados obtidos abrem caminho para o desenvolvimento de novos repelentes comerciais. Sendo uma alternativa preventiva importante para melhorar a qualidade de vida das populações vulneráveis às picadas de mosquitos hematófagos que transportam agentes etiológicos causadores de diversas arboviroses.

Palavras-chave: Arboviroses, Controle vetorial, Dengue, Mosquitos, Saúde pública.

AGRADECIMENTOS

Chegou o momento tão esperado, aquele que encerra mais de dois longos e desafiadores anos. O cumprimento de uma missão que me remete aos tempos do serviço militar, onde o lema era: "Missão dada é missão cumprida". Neste instante, quero expressar minha gratidão a Deus, que me conduziu até aqui, preservando minha vida e integridade mental e física, capacitando-me para superar todas as adversidades que surgiram no caminho. Quero começar agradecendo à matriarca da minha família, Geralda Alves Perfeto (*in memoriam*), por todo amor e apoio incondicional ao longo da vida. À minha filha, Letícia Gabriella Dutra Perfeto, que trouxe imensa alegria e transformação à minha vida desde o seu nascimento, permitindo-me vivenciar a paternidade de forma presente e significativa. A minha esposa, Gláucia Dutra Perfeto, pela paciência e pelo apoio durante toda essa jornada, mesmo diante das minhas ansiedades e noites mal dormidas. Aos meus pais, Marlene Perfeto Oliveira Silva e Honório Oliveira Silva, pelo apoio constante mesmo à distância. Aos meus irmãos e irmãs, Solange Silva, Silvana Perfeto Paladino, Clayton Perfeto Oliveira Silva, Douglas Fabiano Perfeto Oliveira Silva e Tatiane Perfeto Oliveira Silva, pelo incentivo e apoio nos momentos difíceis. Agradeço também à minha querida amiga e cunhada, Bárbara Cury, por sua orientação espiritual e apoio nos momentos mais desafiadores. Ao meu cunhado, Raffa Des, pelo exemplo de determinação e respeito. Aos meus tios e tias, primos e primas, especialmente a Márcio Perfeto Cabral, Patrícia Perfeto e a todos os demais que transmitiram energias positivas e apoio ao longo desse trajeto. Ao meu sobrinho, Davi Cury Perfeto, que sempre me enche de orgulho com sua curiosidade e perguntas surpreendentes sobre biologia, minha sobrinha Marly, cujas palavras de incentivo sempre me impulsionaram. Não posso deixar de mencionar meus amigos de longa data, Juselda, Goretti, Silvia, Karin G., Marco (Portuga), Domingos, Bruno, Adonias, Joseli, Josias, Milena, Caroline, Carol, Walterley, João Pedro, Matheus Brasil, Matheus Silva e tantos outros aqui não citados, que mesmo diante da distância física, estiveram presentes com seu apoio e amizade. Aos voluntários (Claudinha, Hergen, Suelen, William, Gilson, Maria Luiza, Izabel, Mateus, Dayane, Victória, Gabriel, Maria Clara e Vinícius), meu sincero agradecimento por sua participação e dedicação durante os testes. À Dra. Rejane Simões (FVS), que me apresentou ao Laboratório de Malária e Dengue (LMD). Aos

colegas do laboratório, Dra. Yamile, Aylane, Dr. André, Joaquim e Laena. Aos técnicos, Dra. Erika e Elias do prédio 102, Dr. Ulysses, Mestra Raquel e Bióloga Wanilze (Rosa) do prédio 107, Dona Nalda do prédio 103, a todos os colegas da casa 32, aos seguranças e agentes de portaria sempre atenciosos e gentis com minha pessoa, tanto na entrada como na saída diariamente. Agradeço a Dra. Neusa Hamada coordenadora do PPGENT/INPA, a secretária Maués, meu nobre amigo Francisco Xavier (Velho Chico), uma enciclopédia ambulante da entomologia, aos professores Dr. Alberto Neto, Dr. Daniell (Boy), Dr. Claudio Ruy, Dra. Jeane, Dra. Elizabeth, Dra. Gislene, Dra. Ana, Dra. Rosaly, Dr. Wellington, Dr. Albertino, Dr. Márcio, Dra. Vera, Dra. Ruth, M.Sc. Stéphanie Viana, Dr. Renato, Dr. Eugênio (UFV) e colaboradores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia do INPA, pela qualidade do ensino e suporte ao longo do curso de mestrado. Ao Dr. Alexandre Somavilla, que foi a primeira pessoa que me recebeu no INPA, ao Dr. Alexandre de Almeida (UNIR), Dr. Grafe (FMT), ao M.Sc. Felipe Pinheiro Presidente do CRBio-6, ao LabEst/UFAM pela assessoria estatística dada na pessoa do Dr. José Cleiton, Danilo e Darlan. Aos colegas e amigos do Instituto Leônidas & Maria Deane: Dr. Sérgio Luiz Bessa Luz, Dra. Stefanie Costa Pinto Lopes, Dra. Priscila Aquino, Dr. Lee Crainey, Dra. Cláudia Patrícia Araújo Crainey, Dr. José Joaquín Carvajal Cortés, M.Sc. Samylla, Téc. Ricardo Mota, Téc. Jander, por todo conhecimento adquirido sobre mosquitos durante os anos de PIBIC no ILMD/Fiocruz, ao colega Dr. Anderson Nogueira (UFAM), pela imensurável contribuição a esse projeto. Aos membros da banca do mestrado: Dr. Felipe Arley Costa Pessoa – ILMD/Fiocruz, Dr. João Antonio Cyrino Zequi – UEL, Dra. Joelma Soares da Silva – UFMA, Dr. Ronildo Baiatone Alencar - FVS-RCP, Dr. Francisco Augusto da Silva Ferreira – ILMD/Fiocruz. Quero expressar também, minha profunda gratidão à minha orientadora, Dra. Rosemary Aparecida Roque (LMD/INPA), por me receber carinhosamente no LMD, pela sua orientação e apoio ao longo deste projeto e que este, seja apenas o início de uma grande parceria e amizade. Ao Dr. Francisco de Assis Marques (UFPR), responsável pelo desenvolvimento e envio dos derivados ao laboratório. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa concedida, que viabilizou a realização deste projeto. Por fim, agradeço todos que apoiaram direta ou indiretamente para o encerramento deste ciclo, pois o apoio foi fundamental para a conclusão deste trabalho. E que venha o doutorado!

*“Labor omnia vicit improbus, et duris urgens in rebus egestas —
Toda dificuldade é vencida pelo trabalho árduo
e pela pressão da urgente necessidade”.*

Geórgicas de Virgílio (I, 145-146).

RESUMO

O uso de repelentes é uma medida de proteção individual que visa reduzir o contato do homem com o vetor. São químicos voláteis, detectados por meio dos receptores do sistema sensorial de fêmeas de *Aedes aegypti*, deixando-as desorientadas e impedindo suas picadas. O objetivo deste estudo constituiu em avaliar a atividade repelente de oito derivados, sendo três a base de ácido láctico (RSD36, RSD38, RSD48) e cinco a base de octenol (RSD44, RSD45, RSD46, RSD47, RSD49), seu tempo de proteção, comparar os que apresentarem repelência em relação ao repelente comercial 25% de DEET utilizado como controle e também junto aos voluntários testados. O estudo foi realizado no Laboratório de Malária e Dengue – LMD, em parceria com o Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná - UFPR, responsável pelo desenvolvimento, produção e envio dos derivados ao LMD. Os derivados foram etiquetados com códigos, impossibilitando a sua identificação pelo aplicador. Seis voluntários que participaram do estudo são maiores de 18 anos, de ambos os sexos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Todos os voluntários passaram por testes de alergia tanto aos oito derivados a base de octenol e ácido láctico, como o repelente comercial 25% de DEET e não foram observados reações alérgicas. Todos voluntários antes do início dos testes, higienizaram suas mãos com água e detergente neutro e secas com papel toalha limpas e descartáveis. Iniciou-se primeiramente, um teste negativo, onde ambas mãos não continham nenhum produto aplicado, este teste se fez necessário para a observação da atividade das fêmeas. Após, aplicou-se 1 g de repelente comercial 25% de DEET na mão direita (controle), e na mão esquerda (teste), uma diluição de 100 µl do derivado em 900 µl de Etanol, totalizando 1 mL. Após as aplicações em ambas mãos (teste e controle), aguardou-se 5 minutos para evaporação. Duas gaiolas foram utilizadas, a gaiola (controle) e gaiola (teste), ambas contendo 30 fêmeas de *A. aegypti*, com idade cronológica de 3 a 9 dias, alimentadas apenas com solução de sacarose a 10%. O teste iniciou com a inserção da mão direita dentro da gaiola (controle), por três minutos, em seguida o mesmo procedimento foi realizado com a mão esquerda (tratamento). Havendo intervalo de uma hora entre cada uma das avaliações, onde foi observou-se a atividade repelente dos derivados minutos, o tempo de proteção dos derivados comparado com o repelente comercial

25% de DEET, o percentual de proteção conferido em cada um dos voluntários e as diferenças de tempo entre os voluntários. Durante a avaliação observou-se o comportamento hematófago das fêmeas e/ou a tentativa de picar a mão ou o pouso da fêmea por até 05 segundos. Quando isto ocorria o teste era interrompido imediatamente, sendo considerado falha de repelência, caso contrário, as avaliações seguia por três minutos e no final considera com atividade repelente. Dos oito derivados avaliados durante os testes, dois derivados a base de ácido láctico, demonstrou atividade de repelência. Sendo que o derivado RSD38 obteve uma proteção máxima de 560 minutos e seu controle com 630 minutos. Já o RSD48, constatou-se 318 minutos de proteção máxima e seu controle com 478 minutos. Apesar do tempo dos controles do RSD38 e RSD48, apresentarem um maior tempo de proteção em relação aos RSD38 e RSD48, quando aplicada as análises estatísticas, diferenças significativas não foram observadas entre os mesmos. Com isso, esta nova estratégia poderá complementar as medidas de controle existentes contra o vetor, resultando no futuro, em um produto capaz de contribuir na redução do número de picadas de fêmeas de *A. aegypti* e conseqüentemente nos casos de doenças arbovirais.

ABSTRACT

The use of repellents is an individual protective measure aimed at reducing human contact with the vector. These are volatile chemicals detected by the sensory receptors of female *Aedes aegypti* mosquitoes, which leave them disoriented and prevent their bites. The objective of this study was to evaluate the repellent activity of eight derivatives: three based on lactic acid (RSD36, RSD38, RSD48) and five based on octenol (RSD44, RSD45, RSD46, RSD47, RSD49). The study assessed their duration of protection, compared those showing repellency with a commercial 25% DEET repellent used as a control, and also evaluated them with human volunteers. The study was conducted at the Malaria and Dengue Laboratory (LMD) in partnership with the Department of Chemistry at the Federal University of Paraná (UFPR), responsible for developing, producing, and sending the derivatives to LMD. The derivatives were labeled with codes to prevent identification by the applicator. Six volunteers over 18 years old, of both sexes, participated and signed an Informed Consent Form. All volunteers underwent allergy tests for the eight octenol and lactic acid derivatives, as well as the commercial 25% DEET repellent, with no allergic reactions observed. Before testing, volunteers washed their hands with neutral detergent and dried them with clean disposable paper towels. The study began with a negative test where neither hand had any product applied, to observe the mosquitoes' activity. Subsequently, 1 g of commercial 25% DEET repellent was applied to the right hand (control), and 100 μ l of each derivative diluted in 900 μ l of ethanol (totaling 1 mL) was applied to the left hand (test). After both applications, a 5-minute waiting period allowed for evaporation. Two cages were used, one labeled "control" and the other "test," each containing 30 *A. aegypti* females aged 3 to 9 days, fed only a 10% sucrose solution. Testing involved inserting the right hand into the control cage for three minutes, followed by the same procedure with the left hand in the treatment cage. There was a one-hour interval between evaluations to assess repellent activity, duration of protection compared to the commercial 25% DEET, percentage of protection conferred to each volunteer, and differences in protection time among volunteers. During evaluation, observations included the mosquitoes' feeding behavior or attempts to bite or land on the hand for up to 5 seconds. Immediate cessation of the test occurred upon such events, deemed

repellent failure; otherwise, evaluations continued for three minutes, concluding with repellent activity. Among the eight derivatives tested, two lactic acid-based derivatives showed repellent activity. RSD38 provided a maximum protection of 560 minutes compared to 630 minutes for its control. RSD48 showed 318 minutes of maximum protection compared to 478 minutes for its control. Statistical analyses did not reveal significant differences between the protection times of RSD38 and RSD48 and their respective controls, despite the longer protection times of the controls. In conclusion, this new strategy could complement existing vector control measures, potentially leading to a product that reduces female *A. aegypti* mosquito bites and consequently arboviral disease cases in the future.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS.....	xvi
1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	18
1.2 Doenças onde o mosquito <i>Aedes aegypti</i> é o vetor	19
1.2.1 Dengue.....	19
1.2.2 Chikungunya	21
1.2.3 Zika.....	21
1.2.4 Febre Amarela.....	22
1.3 Vacinas contra dengue.....	23
1.4 Métodos de Controle contra o mosquito <i>Aedes aegypti</i>	25
1.5 Repelentes	28
1.6 Repelentes e seu potencial econômico	29
1.6.1 DEET.....	31
1.6.2 Icaridina.....	32
1.6.3 IR3535.....	32
1.7 Substâncias atrativas para mosquitos hematófagos	33
1.7.1 Octenol	33
1.7.2 Ácido Lático.....	34
2. OBJETIVOS	35
2.1 Geral.....	35
2.2 Específicos	35
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Comitê de Ética em Pesquisa	36
3.2 Criação do mosquito <i>Aedes aegypti</i> em laboratório.....	36
3.3 Avaliação de derivados a base de octenol e ácido lático	38

3.4 Análise de Dados	45
4. RESULTADOS	46
5. DISCUSSÃO	51
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
8. ANEXOS	70
8.1 Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	70
8.2 Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	74
8.3 Termo de Autorização de Uso de Imagem	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tempo de repelência para os derivados de ácido láctico RSD38, RSD48 e controle DEET 25%.....	48
Tabela 2. Medidas de tendência central (média e mediana) obtidos a partir do tempo de repelência para cada grupo de participantes.....	48
Tabela 3. Resultados sobre distribuição normal e não normal, obtidos por meio do teste de Shapiro-Wilk	49
Tabela 4. Comparação dos resultados obtidos pelo teste Shapiro-Wilk, utilizando o teste de homogeneidade dos dados com o teste de Levene	49
Tabela 5. Resultados do teste não paramétrico, utilizando-se o teste de Wilcoxon.	50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Expansão do mosquito *Aedes aegypti* pelas zonas tropicais e subtropicais utilizando-se de um mapa do mundo para ilustração. Foto: Liu-Helmersson, 2019.. 18
- Figura 2.** Macho e fêmea do mosquito *Aedes aegypti* e seu ciclo reprodutivo. Fonte: Acervo Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.18
- Figura 3.** Vacina Qdenga®. Fonte: Vaxcorpindo, 2023.19
- Figura 4.** Vacina Dengvaxia®. Fonte: Medicamentosplm, 202324
- Figura 5.** Vacina Butantan-DV. Fonte: Revista Pesquisa Fapesp, 202325
- Figura 6.** Possíveis criadores de larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Fonte: Acervo Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.26
- Figura 7.** Controles biológicos: Fungo do Gênero *Metarhizium* (A). Fonte: Ministério da Saúde, 2023; *Bacillus thuringiensis israelenses* – Bti (B). Fonte: Liu H. 2023; Larvicida a base de Espinosade (C). Fonte: Jasb, 2023; Larva do gênero *Toxorhynchites* (D). Fonte: César Favacho, 2023; Peixe do gênero *Gambusia* (E). Fonte: Paddy Ryan, 2023.....26
- Figura 8.** Aplicação espacial de Inseticida pelo método UBV. Foto: Agência Brasil, 2024.27
- Figura 9.** Substâncias atrativas utilizadas pelas fêmeas de *Aedes aegypti* para localizar o hospedeiro e praticar a hematofagia como: Ácido láctico (A); Dióxido de carbono (B); Octenol (C); Amônia (D). Fonte: Google, 2023.....28
- Figura 10.** Principais princípios ativos utilizados na fabricação de repelentes comerciais, suas concentrações e seus respectivos tempos de proteção. Fonte: Universidade Federal de Sergipe, 2019.33
- Figura 11.** Gaiola do insetário do Laboratório de Malária e Dengue contendo mosquitos *Aedes aegypti*. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.36
- Figura 12.** Tira de papel de filtro contendo ovos de *Aedes aegypti* inseridas em bacia contendo água. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.37
- Figura 13.** Esquema do passo a passo de uma criação de mosquitos *Aedes aegypti* em condições controladas em laboratório. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.....38
- Figura 14.** Departamento de Química da UFPR. Fonte: UFPR, 2023. Derivados a base de octenol e ácido láctico. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.39

- Figura 15.** Voluntário assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Autorização de Uso de Imagem. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.....39
- Figura 16.** Teste de alergia aos derivados de octenol e ácido láctico e ao repelente comercial 25% de DEET em voluntário. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.....40
- Figura 17.** Voluntário fazendo a higienização das mãos e uso de EPI. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.41
- Figura 18.** Diluição dos derivados a base de octenol e ácido láctico. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.41
- Figura 19.** Aplicação do derivado (teste) uniformemente na mão esquerda do voluntário com auxílio de uma pipeta. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.....42
- Figura 20.** Aplicação do repelente a base de DEET 25% (controle) em voluntário, utilizando-se de uma colher dosadora de 1 grama e espalhado uniformemente na mão direita. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.42
- Figura 21.** Teste de avaliação da atratividade das fêmeas de *Aedes aegypti* (A) gaiola teste com a mão esquerda e (B) gaiola controle com a mão direita. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.43
- Figura 22.** Avaliação da atividade repelente a base de DEET 25% em voluntário com a mão direita inserida na gaiola controle. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.....413
- Figura 23.** Avaliação da atividade repelente do derivado a base de octenol ou ácido láctico em voluntário com a mão esquerda inserida na gaiola teste. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.424
- Figura 24.** Esquema demonstrando o número de réplicas e seus intervalos durante os testes.....424
- Figura 25.** Tempo de repelência obtido entre os seis voluntários durante a avaliação do derivado de ácido láctico RSD38. Os números no topo dos gráficos indicam o código de identificação do voluntário. A linha vermelha marca 480 minutos (8 horas)46
- Figura 26.** Tempo de repelência obtido entre os seis voluntários durante a avaliação do derivado de ácido láctico RSD48. Os números no topo dos gráficos indicam o código de identificação do voluntário. A linha vermelha marca 480 minutos (8 horas)47
- Figura 27.** Comparação entre os tempos de repelência dos grupos controle e teste durante a avaliação dos derivados de ácido láctico RSD-38 (à esquerda) e o RSD-48 (à direita)..50

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

<i>A. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
ACE	Agente de Combate a Endemias
ACS	Agente Comunitário de Saúde
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
cm	Centímetro
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CO ₂	Dióxido de carbono
COE	Centro de Operações de Emergências
CONASEMS	Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DEET	N. N-dietil-3-metilbenzamida
DENV	Vírus dengue
DG	Dengue Grave
DMP	Flalato de dimetila
DSA	Dengue com Sinais de Alerta
EBC	Empresa Brasil de Comunicação
FAPEAM	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
° C	Graus Celsius
ILMD	Instituto Leônidas e Maria Deane
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
IR3535	Ethyl butyl acetyl amino propionate
L-LA	L - ácido láctico
LabEst	Laboratório de Estatística
LMD	Laboratório de Malária e Dengue
MAP	Ministério Apostólico Profético
µl	Microlitro
ml	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan Americana da Saúde
PA	Padrão Analítico
P-LA	Poli- ácido láctico
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
PNI	Programa Nacional de Imunizações
PPG ENT	Programa de Pós-Graduação em Entomologia
ppm	Partes por milhão
POP	Procedimento Operacional Padrão
RSD	Derivado da avaliação

SE	Semana Epidemiológica
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCUD	Termo de Compromisso de Utilização de Dados
UBV	Ultra Baixo Volume
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UR	Umidade Relativa
WHO	World Health Organization

1. INTRODUÇÃO

1.1 Mosquito *Aedes aegypti*

Os mosquitos *A. aegypti* são encontrados em zonas tropicais e subtropicais, sendo sua distribuição limitada pela altitude e habitualmente não é encontrado acima dos 1.000 metros (Eiras 2011). Entretanto, já foi observada sua presença a 2.200 metros acima do nível do mar em países como a Índia e a Colômbia (Lozano-Fuentes *et al.* 2012; Monaghan 2012; Subedi & Taylor-Robinson 2016; Esser *et al.* 2019; Narayan *et al.* 2021), e sua expansão geográfica é sustentada pelas alterações climáticas (Wong *et al.* 2016). O *A. aegypti* é oriundo da África Ocidental e foi introduzido nas Américas durante o tráfico de escravos, por meio dos navios negreiros, sendo encontrado principalmente em áreas urbanas, podendo ser localizado também em áreas peri-urbanas e rurais (Powell *et al.* 2018) (Figura 1).

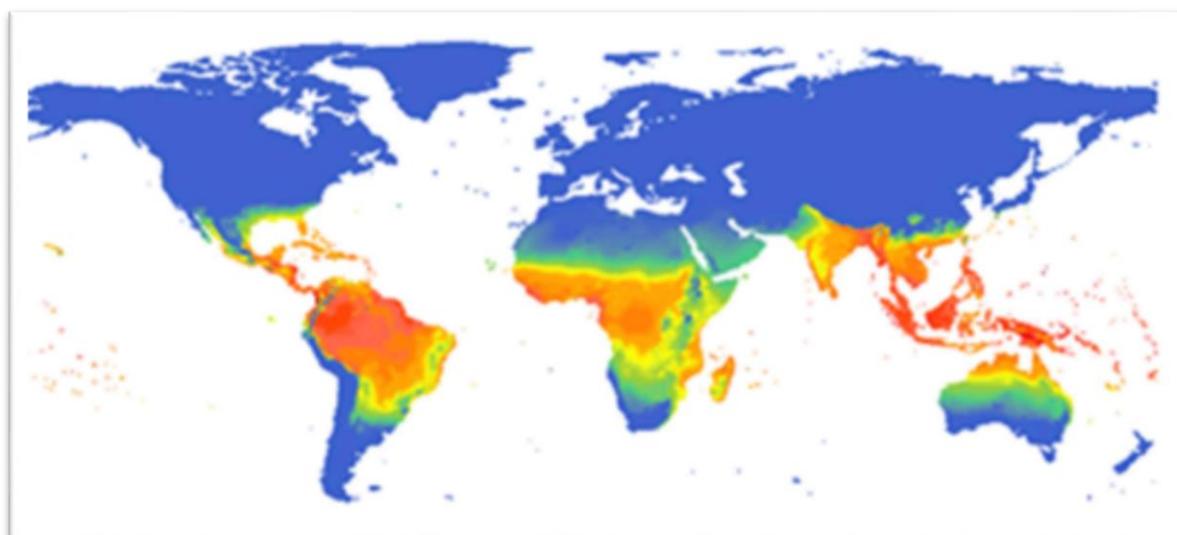


Figura 1. Expansão do mosquito *Aedes aegypti* pelas zonas tropicais e subtropicais utilizando-se de um mapa do mundo para ilustração. Foto: Liu-Helmersson, 2019.

O mosquito *A. aegypti* tem predileção por depositar seus ovos em lugares que acumulem água parada como: depósitos de água, recipientes e poças provenientes da água de chuvas (Forattini *et al.* 1968; Weaver *et al.* 2018; Monsalve *et al.* 2021). Tendo percepção de fatores externos como: temperatura, luz do ambiente, vento e umidade, além de fatores internos como: sexo, idade e a preferência alimentar pelos odores de seus hospedeiros. Tanto os mosquitos machos e fêmeas ingerem solução açucarada encontrada em néctares de flores e frutas maduras. Entretanto, somente as fêmeas praticam a hematofagia, visto que necessitam do sangue para maturação

dos seus ovos e por esse motivo, tende a viver mais que os machos (Consoli e Oliveira 1994; Feuser 2018) (Figura 2).



Figura 2. Macho e fêmea do mosquito *Aedes aegypti* e seu ciclo reprodutivo. Fonte: Acervo Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

A espécie *A. aegypti* é vetor de diversas arboviroses como: dengue, chikungunya, Zika e febre amarela urbana (Forattini *et al.* 1968; Stefani 2009; Eiras 2011; Finkler 2012; Louise *et al.* 2015). O principal motivo para essa explosão de casos, está relacionado ao fenômeno *El Niño*, pela interferência humana por meio da extinção de espécies, degradação do meio ambiente, alterações no clima, processos de urbanização, desmatamentos, acúmulo de água. Propiciando assim, uma alta taxa populacional de *A. aegypti* a viver próximo aos humanos (Almeida *et al.* 2020; MS 2024).

1.2 Doenças onde o mosquito *Aedes aegypti* é o vetor

1.2.1 Dengue

A dengue por ser uma doença infecciosa e tendo como seu vetor principal o mosquito *A. aegypti*, cuja dispersão pelos trópicos representa uma ameaça à saúde global, sendo reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como a patologia tropical de rápida proliferação em todos os continentes (Do *et al.* 2014; OPAS/OMS 2021). A Organização Pan Americana da Saúde - OPAS e a OMS, classificou a

dengue como uma das dez doenças que mais acomete as pessoas (OPAS/OMS 2021). Os principais sintomas da doença são: febre acima de 38° C, dor no corpo e nas articulações, dor atrás dos olhos e manchas vermelhas no corpo. Existem quatro sorotipos da doença: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Herrera *et al.* 2006; Khetarpal e Khanna 2016). Entretanto, uma pessoa infectada por um sorotipo adquire proteção permanente para o mesmo e imunidade parcial e temporária contra os outros três (Zara *et al.* 2016; Furtado *et al.* 2019).

No Brasil, o MS com o apoio da OPAS, incentiva pesquisas para o desenvolvimento de novas alternativas para o controle do *A. aegypti*, incluindo métodos inovadores capazes de diminuir a transmissão da dengue pessoa a pessoa (Zara *et al.* 2016). As Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle da Dengue, procede o trabalho coletivo e cooperativo das três esferas de governo que constituem o Sistema Único de Saúde - SUS, que tem com um dos desafios, combater os casos da dengue no Brasil (Brasil 2009; MS 2022d). Ressaltando que a dengue grave (DG) e a dengue com sinais de alerta (DSA) são os tipos mais letais, ocorrendo febre alta, hepatomegalia e insuficiência circulatória e hemorragia, levando ao óbito se não houver pronto-atendimento médico-hospitalar (Pego *et al.* 2014).

Em fevereiro de 2024, a Ministra da Saúde Nísia Trindade e toda sua equipe apresentou o plano de ação ao combate da dengue em todo o território nacional devido aos grandes números de casos confirmados. Além do lançamento do campanha e implementação da vacinação contra a dengue e a mobilização social “Brasil unido contra a dengue - Combate ao mosquito nas escolas” (MS 2024). Estas ações, ocorrerá em todo o país pelos próximos 6 meses, até julho de 2024, e uma forte campanha por parte do Governo Federal em todos os meios de comunicações, redes sociais e nos sites oficiais do Governo Federal. A campanha intitulada: ‘Brasil unido contra a dengue’, contou também com vídeos de artistas, personalidades do esporte e influenciadores. Além de um Curso de Capacitação em Arboviroses, oferecido pelo Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde (CONASEMS) em parceria com o MS, direcionado aos médicos e profissionais da saúde no enfrentamento deste grande desafio pelo qual o país está passando (MS 2024).

Segundo o Ministério da Saúde, por meio do Boletim Epidemiológico de 16 de julho de 2024, o Brasil registrou 6.355.858 casos de dengue, sendo 2.466 óbitos em investigação e 4.627 óbitos confirmados. O principal motivo para essa explosão de casos, está relacionado ao fenômeno *El Niño*, que a cada dois a sete anos, provoca

um aumento direto da temperatura em todo o mundo e que tem uma duração média de um ano (MS 2024). Além da interferência humana por meio da extinção de espécies, degradação do meio ambiente, alterações no clima, processos de urbanização, desmatamentos, acúmulo de água. Propiciando assim, uma alta taxa populacional de *A. aegypti* a viver próximo aos humanos (Almeida *et al.* 2020; MS 2024).

1.2.2 Chikungunya

A chikungunya é uma infecção aguda sendo uma doença incapacitante e debilitante aos seres humanos, causada pelo vírus Chikungunya e transmitida pela picada das fêmeas dos mosquitos *A. aegypti* e *A. albopictus* (Skuse 1894) infectados. A doença tem o nome de uma palavra Makonde que significa “aquilo que se curva”, descrevendo a postura de pacientes com dores articulares crônicas (Honório *et al.* 2015; Vairo *et al.* 2019).

O período de incubação da doença é de 1 a 12 dias, seguido por sintomas semelhantes aos da dengue, com início abrupto de febre alta por 3-5 dias, náuseas e vômitos, dores intensas nas articulações, erupção cutânea generalizada (Vairo *et al.* 2019). Pacientes idosos e com comorbidades também poderá desenvolver doenças potencialmente fatais incluindo encefalite, miocardite e insuficiência renal ou hepática aguda (Khongwichit *et al.* 2021). Outros sintomas como disfunção orgânica e infecção neonatal grave também estão presentes. O tratamento é paliativo, não há tratamento antiviral específico e nem vacinas eficazes (MS 2022b). A taxa de letalidade é globalmente estimada em $\sim 1/1.000$, com mortes ocorrendo principalmente em pacientes com mais de 75 anos (Kumar *et al.* 2021). Outro aspecto é que a chikungunya pode causar em curto e longo prazo, um impacto na vida das pessoas que vivem nas áreas de ocorrência da doença (Higgs e Vanlandingham 2015).

Segundo o MS, até 16 de julho de 2024, ocorreram 241.924 casos de chikungunya no Brasil, com 143 casos de óbitos sob investigação e 141 casos de óbitos confirmados. Já no Estado do Amazonas, foram registrados 95 casos, sem registros de óbitos.

1.2.3 Zika

Mosquitos do gênero *Aedes* spp. são os vetores que transportam o agente etiológico do vírus da Zika. Oriundos da África e da Ásia, o surgimento do vírus Zika

ocorreu pela primeira vez no Brasil em 2015. Com uma rápida disseminação pelas Américas (Vasconcelos 2015; Plourde e Bloch 2016; MS 2022c). Os sintomas mais frequentes da doença são: conjuntivite, gânglios linfáticos aumentados e uma síndrome semelhante à gripe com dor de cabeça e mialgia (Sharma *et al.* 2020). A apresentação clínica das infecções sintomáticas pelo Zika vírus são semelhantes às da dengue e Chikungunya, incluindo cefaleia, artralgia, dor retro orbitária, conjuntivite e erupção cutânea e invasão cerebral fetal e infecção de células corticais progenitores cerebrais, levando à microcefalia (Bueno *et al.* 2017). A Zika também é capaz de infectar células-tronco neurais adultas, os efeitos a longo prazo sobre plasticidade neural, aprendizado e memória podem ser esperados (Yun e Lee 2017).

Com relação aos dados de Zika, o MS divulgou nova atualização até 16 de julho de 2024, constatando 8.466 casos, não havendo nenhum óbito em investigação e/ou óbitos confirmados no Brasil. No Estado do Amazonas, houve 58 casos e nenhum óbito de qualquer natureza, até o presente momento.

1.2.4 Febre Amarela

O aumento do número de casos de febre amarela silvestre, a alta densidade de infestação por *A. aegypti* e a baixa cobertura vacinal são fatores que favorecem o risco da reurbanização da doença no Brasil (Vasconcelos 2003; Siqueira *et al.* 2021). No ano de 2017, foi constatado uma incidência de 4,85 casos por 100.000 habitantes de febre amarela silvestre no estado do Espírito Santo, doença com 29,7% de letalidade (MS 2022f).

A febre amarela se apresenta em dois ciclos básicos:

- Ciclo urbano: Neste ciclo, a transmissão pelo *A. aegypti* e *A. albopictus* é feita diretamente ao homem sem necessitar da presença de hospedeiros, ou melhor, o próprio homem infectado, e em fase virêmica atua como disseminador do vírus na população. Assim, o ciclo se perpetua, até que se esgotem os suscetíveis ou se realize vacinação em massa da população para bloquear a transmissão (Vasconcelos 2003; Tauil 2010).
- Ciclo silvestre: O ciclo silvestre varia de acordo com a localidade. Na África diversas espécies do gênero *Aedes* são transmissoras como: o *A. africanus*, *A. furcifer*

e *A. simpsoni*. Enquanto que nas Américas, as espécies *Haemagogus janthinomys*, *Haemagogus albomaculatus*, *Haemagogus leucocelaenus* e *Sabethes chloropterus*, são os principais transmissores. Uma vez infectados, os mosquitos permanecem por toda vida com o vírus, ao contrário dos primatas não humanos, envolvidos no ciclo silvestre que, como os homens, ao se infectarem morrem ou curam-se, ficando imunes para sempre. (Vasconcelos 2003; Tauil 2010).

De acordo com a Agência Brasil EBC, 4 casos notificados, um em Roraima, um no Amazonas e dois em São Paulo, ocasionando em três óbitos e um curado. O que sinaliza a circulação ativa do vírus da Febre Amarela nas regiões Norte e Sudeste, destacando a importância da vigilância reforçada durante todo o ano. A doença pode ser facilmente evitável através da vacinação em massa da população, a qual disponível pelo SUS, para todas as faixas etárias. Porém, a vacinação no Brasil, está abaixo do recomendado.

1.3 Vacinas contra dengue

A dengue é um alerta constante para o governo e as vacinas são uma arma poderosa no seu combate como a vacina Qdenga® do Laboratório Takeda Pharma Ltda. Sendo eficaz contra os quatro sorotipos da dengue e tem foco nas crianças acima de quatro anos, adolescentes e adultos até 60 anos, obedecendo um intervalo de três meses entre as doses para uma melhor proteção (ANVISA 2023). Atualmente, a vacina Qdenga®, já está sendo ministrada pelo PNI, devido ao aumento de casos da dengue (Figura 3).



Figura 3. Vacina Qdenga®. Fonte: Vaxcorpindo, 2023.

Com a compra da vacina Qdenga® por parte do MS, o Brasil emerge como um destaque no cenário mundial, sendo um dos primeiros a oferecer gratuitamente o imunizante. Todavia, ainda não será utilizada em todas as cidades e Estados do Brasil, devido a uma capacidade reduzida no fornecimento de doses por parte do fornecedor. Desse modo, a vacinação será focada em público e regiões prioritárias (Brasil 2023). Além da Qdenga®, outra vacina aprovada pela ANVISA é a Dengvaxia®, produzida pela empresa Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda, registrada através da Resolução - RDC nº 55, de 16 de dezembro de 2010.

A vacina Dengvaxia®, foi aprovada e demonstrando eficácia contra sorotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 e foi avaliada em pessoas de 9 a 45 anos. Entretanto, não há comprovações de sua eficácia em idades abaixo de 9 e acima dos 45 anos (ANVISA 2022). A eficácia da vacina, é em torno de 80% na redução de internações e casos graves em áreas de risco no decorrer dos seis anos de acompanhamento (Guy *et al.* 2011) (Figura 4).



Figura 4. Vacina Dengvaxia®. Fonte: Medicamentosplm, 2023.

O Instituto Butantan publicou na revista científica *Human Vaccines & Immunotherapeutics* e em um artigo científico na *The Lancet Infectious Diseases*, o desenvolvimento e testes da vacina Butantan-DV®, que demonstrou eficácia de 80% para evitar a doença. Sendo resultado de um trabalho de mais de uma década, juntamente com a parceria de empresas e laboratórios internacionais e que impactará na saúde pública brasileira (BUTANTAN 2023). A vacina Butantan-DV®, teve sua eficácia avaliada separadamente, de acordo com a exposição prévia ao vírus da dengue em indivíduos que já foram expostos, e a proteção foi de 89,2% e os que nunca tiveram dengue foi de 73,5%. A vacina Butantan-DV® é tetravalente, ou seja,

desenvolvida para proteger contra os sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) da dengue. O Instituto Butantan também informa, que vem sendo produzida paralelamente um imunizante contra a Chikungunya (em finalização de testes). De acordo com o Programa Nacional de Imunizações (PNI), caso seja liberada a Butantan-DV[®], terá sua distribuição gratuita (Kallas *et al.* 2020; BUTANTAN 2022) (Figura 5).



Figura 5. Vacina Butantan-DV. Fonte: Revista Pesquisa Fapesp, 2023.

A OPAS, relatou que cerca de 500 milhões de pessoas nas Américas correm o risco de contrair dengue. Os casos dispararam nos últimos 40 anos, nos anos 80 eram 1,5 milhões de pessoas infectadas e nos anos 2019, segundo a OPAS, mais de 16,2 milhões. Sendo que 400 milhões de indivíduos contraem a dengue todos os anos (Kallas *et al.* 2020; BUTANTAN 2022).

1.4 Métodos de Controle contra o mosquito *Aedes aegypti*

Os principais métodos de controle utilizados contra o mosquito *A. aegypti* são:

- **Controle mecânico:** busca eliminar ou modificar os criadouros, seja com campanhas publicitárias visando a conscientização das pessoas, reduzindo assim o contato do mosquito com o homem. Além disso, o cuidado com reservatórios de água e recipientes que possam acumular água (Valle *et al.* 2015; Zara *et al.* 2016; Terra *et al.* 2017; Santos *et al.* 2017; Costa 2018; Apergis 2021). O controle mecânico basicamente é definido em práticas que possam evitar criadouros do *A. aegypti* nas residências, realizado pelo residente, sob a orientação do Agente de Combate a Endemias - ACE ou do Agente Comunitário de Saúde - ACS (Brasil 2009) (Figura 6).



Figura 6. Possíveis criadores de larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Fonte: Acervo Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

- Controle biológico:** consiste na utilização de macro e micro-organismos como: inimigos naturais capazes de predação de larvas e pupas, impedindo que atinjam a fase adulta. Patógenos portadores de toxinas, como bactérias, fungos e parasitas utilizados no controle da população de mosquitos. Um dos mais conhecidos, é o *Bacillus thuringiensis israelenses* (Bti), com alta eficiência como larvicida sobre larvas de diversos tipos de mosquitos, além de não ser tóxico para seres vivos e possuir baixo impacto ambiental (Valle *et al.* 2015; Zara *et al.* 2016; Terra *et al.* 2017; Santos *et al.* 2017; Costa 2018; Silva *et al.* 2019) (Figura 7).

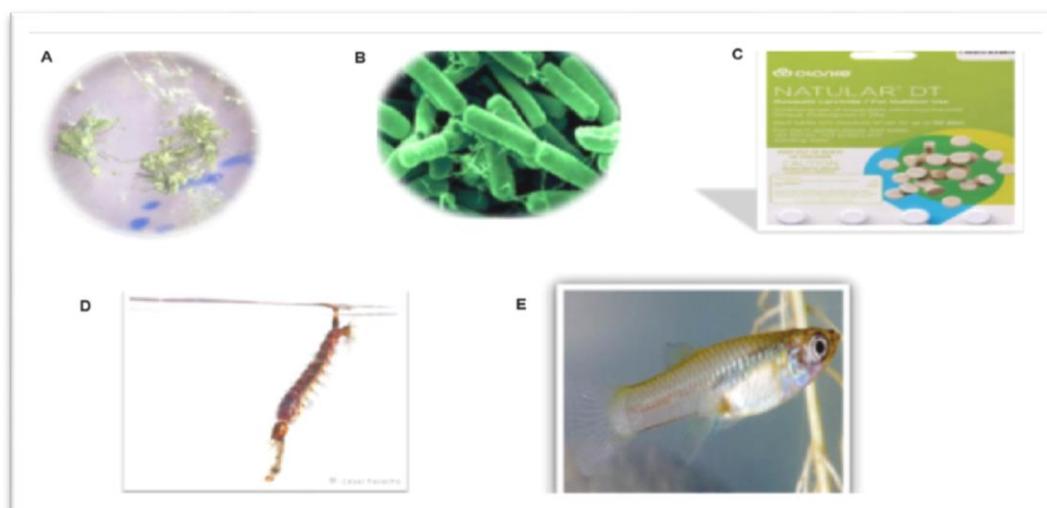


Figura 7. Controles biológicos: Fungo do Gênero *Metarhizium* (A). Fonte: Ministério da Saúde, 2023; *Bacillus thuringiensis israelenses* – Bti (B). Fonte: Liu H. 2023; Larvicida a base de Espinosade (C). Fonte: Jasb, 2023; Larva do gênero *Toxorhynchites* (D). Fonte: César Favacho, 2023; Peixe do gênero *Gambusia* (E). Fonte: Paddy Ryan, 2023.

- **Controle químico:** consiste no uso de produtos químicos que possam ser neurotóxicos, utilizados em larvas e adultos. Porém, usados com cautela, podendo ocorrer impactos ambientais, aos seres vivos e organismos aquáticos não alvos estabelecidos nos criadouros (Valle *et al.* 2015; Zara *et al.* 2016; Terra *et al.* 2017; Santos *et al.* 2017; Costa 2018; Silva *et al.* 2019). A aplicação de inseticida pelo método Ultra Baixo Volume (UBV), sendo um controle químico contra o mosquito *A. aegypti*, recomendado pelo MS somente em casos de surtos ou epidemias. Essa ação e seu uso deve ser em conjunto com as demais ações de controle e se o controle preventivo não atender as expectativas e ser insuficiente. Sendo utilizado quando houver necessidade de bloqueio da circulação de fêmeas adultas em áreas epidêmicas, para evitar a circulação do vírus e novos casos da doença (MS 2024). A aplicação espacial pelo método UBV, popularmente chamado fumacê, utiliza-se de inseticida com combinação de duas moléculas (Praletrina + Imidacloprida) e solventes. Por ser uma técnica de aplicação a UBV a frio, não há a formação de nuvem de fumaça, devido ao fato de não haver a queima de óleo mineral no momento da aplicação. O modo de ação do produto causa uma excitação no sistema nervoso dos mosquitos após o contato do inseticida e, posteriormente, a morte deles (MS 2024). Todos os inseticidas adquiridos pelo MS (adulticidas e larvicidas) são indicados pela OMS e aprovados pela ANVISA, sendo fundamental o uso consciente e seguro dos inseticidas nas atividades de controle vetorial, tendo em vista que o seu uso indiscriminado gera impactos ambientais, além da possibilidade de desenvolvimento da resistência dos vetores aos produtos (Figura 8).



Figura 8. Aplicação espacial de Inseticida pelo método UBV. Foto: Agência Brasil, 2024.

1.5 Repelentes

Os repelentes são produtos químicos voláteis que ao serem detectados por meio dos receptores presentes no sistema sensorial das fêmeas de *A. aegypti*, voem em direção oposta, reduzindo o contato homem-vetor e conseqüentemente impedindo suas picadas (Diaz 2016; Portilla Pulido *et al.* 2022). Os insetos hematófagos em contato com o repelente, não conseguem seguir as pistas químicas exaladas pelos hospedeiros (Malavige *et al.* 2004; Dolan e Panella 2011) (Figura 9).

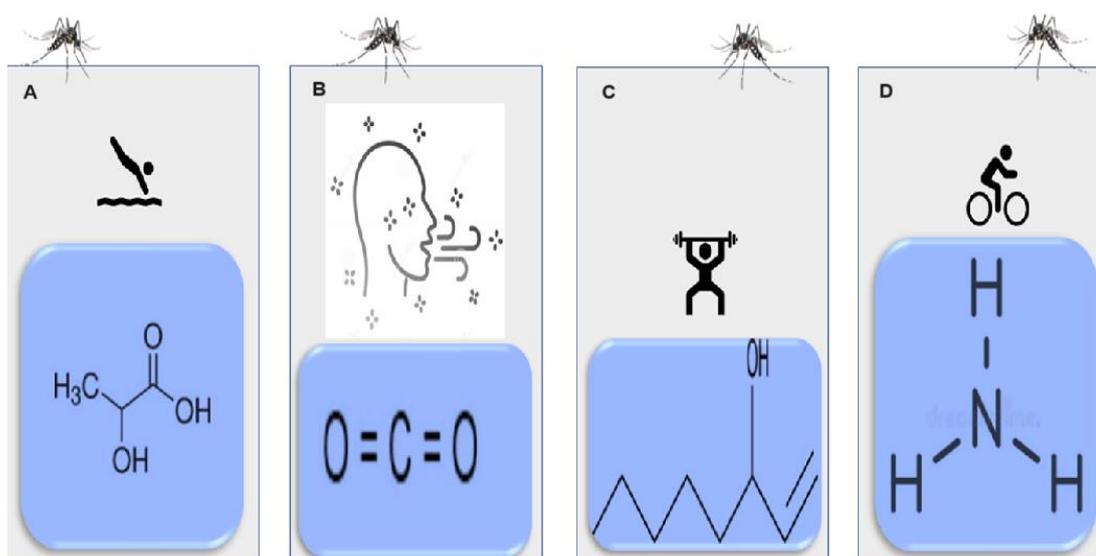


Figura 9. Substâncias atrativas utilizadas pelas fêmeas de *Aedes aegypti* para localizar o hospedeiro e praticar a hematofagia como: Ácido láctico (A); Dióxido de carbono (B); Octenol (C); Amônia (D). Fonte: Google, 2023.

De acordo com Andrade (2008), os repelentes tendem a estimular ou inibir as funções neurológicas dos mosquitos, podendo afetar os seus mecanismos de ação de cinco maneiras:

1. Inibição neural seletiva: inibi a resposta de neurônios relacionados a atração, este mecanismo não tem a função de repelir e sim, evitar a picada;
2. Estímulo dose-dependente, efeito saturação/reverso: É quando um estímulo neurológico fraco, que resulta em atração, pode ser mudado para produzir uma repelência pelo estímulo neurológico forte;
3. Estímulo de neurônios inibitórios: o repelente ativa um sistema receptor que inibe o comportamento da picada, levando o mosquito a se afastar do hospedeiro;

4. Noticeção direta: ativação de receptores de dor. Esses receptores estimulados pelos repelentes registram a presença de substâncias prejudiciais e levam o inseto a se afastar;

5. Ativação Simultânea de Vários Sistemas Neurológicos: Os repelentes estimulam simultaneamente vários receptores associados a comportamentos, e o estímulo de atração não pode ser claramente detectado e diferenciado dos outros estímulos sensoriais ativados.

1.6 Repelentes e seu potencial econômico

Mosquitos como o *A. aegypti*, são uma grande preocupação global pelo fato de serem os principais vetores transportadores de diversos agentes etiológicos causadores de doenças como: a dengue, chikungunya, Zika e febre amarela urbana (Fradin e Day 2002; Ribas e Carreño 2010). O desenvolvimento de novos repelentes cada vez mais eficazes, com baixo efeito colateral e menor impacto ambiental, podem contribuir para reduzir ou prevenir picadas de mosquitos hematófagos (Brown e Hebert 1997; Fradin e Day 2002; Rodriguez *et al.* 2015; Tavares *et al.* 2018; Mapossa *et al.* 2021).

Durante a realização de atividade física, o organismo humano produz quantidades expressivas de ácido láctico, que por muitas vezes é produzido mais rápido do que é eliminado, o que ocasiona muito cansaço e dores musculares (ABCMED 2016; Venkatesh e Sem 2017). O ácido láctico é uma molécula natural, produzida pelo próprio hospedeiro, atuando como atraente (Cairomônios: que são semioquímicos envolvidos nas interações interespecíficas dos insetos, que beneficiam o receptor em detrimento do emissor) para os mosquitos *A. aegypti* encontrar sua fonte sanguínea.

Recentemente, um grupo de pesquisadores evidenciou a possibilidade de produzir repelentes a partir de substâncias atraentes já utilizadas pelas fêmeas de *A. aegypti*. O grupo sintetizou vários derivados a base de octenol e ácido láctico com possível atividade repelente. O grupo faz parte do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná (UFPR), coordenado pelo Dr. Francisco de Assis Marques, onde além dos derivados, também desenvolvem diversos outros métodos de controle, envolvendo diversas áreas de atuação.

Os derivados de octenol e o ácido láctico avaliados neste estudo foram sintetizados a partir de uma molécula natural já produzida pelo próprio corpo humano e utilizada pelas fêmeas dos mosquitos *A. aegypti* como uma substância atraente e utilizada para a localização dos seus hospedeiros, praticando assim, a hematofagia (Andrade 2008; Annies *et al.* 2012). Portanto, repelentes a base de substâncias atraentes, fará com que as fêmeas selecionem com uma maior dificuldade o desenvolvimento de mecanismos que reduzam a sua eficiência (Peterson e Coats 2001; Fradin e Day 2002; Maia *et al.* 2022).

Os derivados a base de octenol e ácido láctico avaliados neste estudo, quando aplicado na pele, tende a bloquear temporariamente os receptores sensoriais presentes nas antenas e palpos maxilares das fêmeas de *A. aegypti*. Impedindo que as mesmas usem sinais químicos exalados pelos hospedeiros, como as substâncias atraentes para sua localização e assim, impedindo-as de realizar a hematofagia (Annies *et al.* 2012). Inúmeras marcas de repelentes em forma de loção, gel e sprays, estão à venda para proteção dos seres humanos (Dolan e Panella 2011; Lupi *et al.* 2013; Tavares *et al.* 2018; Melo *et al.* 2019). A maioria logo que são aplicados na pele ou na roupa, produzem uma camada de vapor que cria uma superfície desagradável ou ofensiva para os mosquitos e quando perde totalmente a eficácia, as picadas ocorrem normalmente (Harbach *et al.* 1990; Tavares *et al.* 2018).

Pesquisas com repelentes de mosquitos têm aumentado frequentemente devido à alta demanda por proteção contra doenças transmitidas por picadas de dípteros hematófagos (Mapossa *et al.* 2021). Além disso, existe um potencial econômico através das indústrias que irá fabricar repelentes, tais como: geração de empregos, arrecadação de impostos e a diminuição dos gastos por parte do Ministério da Saúde (MS) com tratamentos e medicamentos paliativos.

O uso de repelentes em conjunto com outros métodos de controle, contribui para a diminuição de risco de transmissão de diversos arbovírus do vetor para as pessoas (Malavige *et al.* 2004; Henrique e Paiva 2013; Anuar e Yusof 2016). Os repelentes exibem algum grau de volatilidade, e o ponto de ebulição das substâncias com ação repelente fica entre 230°C e 260°C (Malavige *et al.* 2004; Dolan e Panella 2011).

Os repelentes provenientes de fontes naturais comercializados costumam conter uma mistura de óleos obtidos da citronela (*Cymbopogon nardus*), eucalipto (*Eucalyptus maculata*), gerânio (*Pelargonium reniforme*), capim limão (*Cymbopogon citratus*), dentre outros (Ribas e Carreño 2010; Annies *et al.* 2012). Apesar dos repelentes naturais terem efeito pouco duradouro em relação aos sintéticos, sua toxicidade costuma ser mais baixa, o que justifica os esforços no sentido de buscar compostos com atividade de repelência, em extratos vegetais (Choochote *et al.* 2007).

Os estudos com repelentes obtidos sinteticamente foram iniciados no período da Segunda Guerra Mundial e vários compostos foram testados. Até 1942, os compostos DDT (*dicloro difenil tricloroetano*), DMP (*ftalato de dimetila*) e Rutgers 612 (*2-etil1,3-hexanodiol*), foram autorizados para uso do exército americano, e conferiram proteção, ou seja, repelência de até duas horas (Bernier e Tsikolia 2011). Porém, seu uso foi proibido mais tarde, devido às observações de toxicidade, principalmente no caso do DDT (Brown e Hebert 1997; Islam *et al.* 2017).

Em 1946, iniciou-se a utilização do *N, N*-dietil-3-metilbenzamida (DEET), considerado padrão de referência até os dias de hoje (Schreck e McGovern 1989; Fradin e Day 2002; Andrade 2008; Rodriguez *et al.* 2015).

1.6.1 DEET

Os piretróides são inseticidas químicos primários mais usados e o DEET (*N, N*-dietil-3-metilbenzamida), sendo este o repelente mais utilizado na prevenção contra diversos tipos de mosquitos e insetos (Rodriguez *et al.* 2015; Maia *et al.* 2022). O que ocasionou o aumento da resistência pelos mosquitos e insetos em geral, além de efeitos colaterais na saúde humana e no meio ambiente (Brown e Hebert 1997; Fradin e Day 2002; Harris *et al.* 2010; Rodriguez *et al.* 2015; Maia *et al.* 2022). O DEET atua como um estímulo sensorial e pode ser detectado pelos neurônios do receptor olfativo presente nas antenas de diferentes espécies, sendo eficiente em vários insetos (Martini 2013; Pingxi *et al.* 2014). Sua maior vantagem é o baixo custo e efeito duradouro que, em uma concentração de 20-30% do composto, pode durar mais de seis horas. Entretanto, quando comparado aos repelentes disponíveis atualmente no mercado e aos naturais em desenvolvimento, sua toxicidade é a mais alta (Rodriguez *et al.* 2015; Portilla Pulido *et al.* 2022).

O DEET pode causar danos em fibras sintéticas das roupas, plásticos e acrílicos e algumas formas de alergias cutâneas (Goodyer e Behrens 1998; Mcgready *et al.* 2001; Harris *et al.* 2010; Tavares *et al.* 2018; Portilla Pulido *et al.* 2022). Há uma urgência em desenvolver repelentes que não tenham efeitos colaterais sobre crianças, grávidas e lactantes ou que agridam o meio ambiente. E repelentes a base de produtos naturais vêm ganhando destaque e força devido: a baixa toxicidade, a taxas de biodegradação rápida e com menores efeitos colaterais (Gideon *et al.* 2003; Portilla Pulido *et al.* 2022).

1.6.2 Icaridina

A Icaridina também conhecida como Picaridina (*Hydroxyethyl isobutyl piperidine carboxylate*), tem seu princípio ativo derivado da pimenta. É um repelente de uso amplo e eficaz contra mosquitos, moscas, carrapatos, etc. (Dolan e Panella 2011). Por evaporar de forma mais lenta na pele, oferece tempo de repelência maior que o DEET. A concentração mínima para a ação de repelência começa em 5% e, em uma concentração de 20%, oferece uma proteção de até 10 h. É um repelente sem odor, não oleoso, não causa danos em plásticos e acrílicos e a utilização em crianças menores de seis meses é permitida. Apesar disso, pode danificar alguns materiais e roupas de couro animal (Paumgarten e Delgado 2016; Tavares *et al.* 2018). A Icaridina possui dois estereocentros e é comercializada como mistura de estereoisômeros (Isenmann 2021).

1.6.3 IR3535

Disponível desde 1980, o IR3535 (*Ethyl butyl acetyl amino propionate*) tem estrutura química baseada em uma substância natural (β -alanina), sendo efetivo contra mosquitos, moscas, carrapatos, piolhos, vespas e abelhas (Dolan e Panella 2011). Utilizado em uma concentração acima de 10%, seu mecanismo de ação consiste em formar uma barreira de vapor que previne o contato de insetos com a pele devido ao odor ofensivo que a substância apresenta aos mesmos, apesar de não apresentar cheiro aos seres humanos. Apresenta baixa efetividade quando comparado ao DEET, porém, possui baixa toxicidade e pode ser utilizado por crianças e gestantes (Stefani 2009; Tavares *et al.* 2018). As principais substâncias aprovadas e utilizadas na fabricação de repelentes na atualidade e seus respectivos tempo de proteção, podem ser observados abaixo (Figura 10).

CARACTERÍSTICAS DOS REPELENTE AVALIADOS E TEMPO DE PROTEÇÃO COMPLETA (ESTIMADO E MEDIANA VERIFICADA)				
Princípio ativo	Concentração	Produto	Tempo estimado	Tempo de proteção completa (mediana)
DEET	7,125	Repelente 1	Até 2 horas	30 minutos
	9,5	Repelente 2	Até 6 horas	30 minutos
	11	Repelente 3	Até 5 horas	90 minutos
	15	Repelente 4	Até 10 horas	60 minutos
	15	Repelente 5	Até 10 horas	60 minutos
IR3535	12,5	Repelente 6	Até 4 horas	60 minutos
	12	Repelente 7	Até 4 horas	30 minutos
Icaridina	25	Repelente 8	Até 5 horas	120 minutos

Infográfico elaborado em 14/05/19 

Figura 10. Principais princípios ativos utilizados na fabricação de repelentes comerciais, suas concentrações e seus respectivos tempos de proteção. Fonte: Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1.7 Substâncias atrativas para mosquitos hematófagos

1.7.1 Octenol

O 1-octen-3-ol, demonstrou ser uma substância atrativa para diversos mosquitos hematófagos, desde que foi observado por meio do hálito dos bois em meados dos anos 80. Armadilhas contendo 1-octen-3-ol atraíram mais fêmeas de mosquitos *Anopheles gambiae* e *A. aegypti* e não foram eficazes em atrair o mosquito doméstico *Culex quinquefasciatus*. Observou-se que o 1-octen-3-ol é detectado por receptores odoríferos específicos nos palpos maxilares e antenas do *C. quinquefasciatus*. Sugerindo que o 1-octen-3-ol pode atuar como um possível repelente para o mosquito *C. quinquefasciatus*, com base em testes comportamentais em ambientes controlados (Xu *et al.* 2015).

Para investigar sua possível atividade repelente, através de um receptor, CquiOR118b, altamente sensível ao (R)-1-octen-3-ol nos palpos maxilares, enquanto outro receptor, CquiOR114b, expresso nas antenas, mostrou preferência pelo (S)-1-octen-3-ol. Testes de repelência indicaram que tanto os isômeros puros quanto a

mistura racêmica de (R)- e (S)-1-octen-3-ol são repelentes eficazes na concentração de 1% (Xu *et al.* 2015).

1.7.2 Ácido Lático

O ácido láctico (L-LA), é uma substância atraente utilizada pelas fêmeas de mosquitos hematófagos para localizar o seu hospedeiro e realizar a hematofagia (Malavige *et al.* 2004; Dolan e Panella 2011). O L-LA pode atuar como repelente para fêmeas de mosquitos hematófagos como um novo método experimental aos repelentes atuais (Shirai *et al.* 2001; Di Lorenzo 2019; Mapossa *et al.* 2021). Testes com fêmeas atraídas pelas mãos e antebraços de humanos, quando tratados com as maiores concentrações de L-LA, evidenciou que as fêmeas pousaram menos na pele humana com L-LA, do que na pele controle com apenas água.

Resultados idênticos também foram observados, após tratamento com L-LA e água em roedores, onde concentrações maiores de L-LA, demonstrou repelência pelo L-LA. Ao contrário de resultados anteriores que sugeriam que o L-LA somente atraía fêmeas de mosquitos, estudos em pele humana e roedores, evidenciaram que o L-LA apresenta atividade de repelência relativa (Shirai *et al.* 2001; Di Lorenzo 2019; Mapossa *et al.* 2021). Outro estudo envolvendo ácido láctico, utilizou-se de um polímero petroquímico contendo ácido láctico (P-LA), totalmente biodegradável, impregnado com DEET e também com IR3535 para potencializar o efeito repelente e proteção. Além de ser um material alternativo sustentável, ecológico e com decomposição mais rápida quando comparada aos produtos convencionais (Di Lorenzo 2019; Mapossa *et al.* 2021).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Avaliar a atividade de repelência de derivados a base de octenol e ácido láctico em fêmeas de *Aedes aegypti*.

2.2 Específicos

- Identificar os derivados a base de octenol e ácido láctico que apresentarem atividade de repelência em fêmeas de *Aedes aegypti*;
- Comparar os derivados com atividade repelente com repelente comercial utilizado como controle;
- Mensurar o tempo de proteção conferida pelos derivados que apresentaram atividade de repelência junto aos voluntários;
- Comparar o percentual de proteção dos derivados com atividade repelente entre os voluntários.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Comitê de Ética em Pesquisa

A pesquisa utilizou-se de metodologia em concordância com a Resolução nº. 466 de 12/12/12, do CNS/MS. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP do INPA sob o parecer nº 5.372.074 e CAAE nº 57044622.9.0000.0006 em 27/04/22.

3.2 Criação do mosquito *Aedes aegypti* em laboratório.

A criação e manutenção dos mosquitos é realizada conforme o Procedimento Operacional Padrão (POP) do LMD/INPA, sob condições controladas de temperatura (26 – 28°C), umidade (70 a 80%) e fotoperíodo (12 L:12 D) (Figura 11).



Figura 11. Gaiola do insetário do Laboratório de Malária e Dengue contendo mosquitos *Aedes aegypti*.
Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Os ovos foram obtidos do insetário do LMD e colocados em recipientes plásticos retangulares contendo 300 mL de água filtrada (Figura 12).



Figura 12. Tira de papel de filtro contendo ovos de *Aedes aegypti* inseridas em bacia contendo água. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Após a eclosão em larvas L1, receberam diariamente uma mistura de ração para roedores (Teklab® global) e para gatos (Whiskas®), na proporção de 1:1, que foram trituradas até formar um pó fino. Para administrar o alimento das larvas, utilizou-se um copo descartável para fazer o enxague da ração, retirando o excesso da gordura e colocada nas bacias com o auxílio de uma pipeta descartável. Após isso, foram distribuídas em recipientes menores, identificadas pela data de eclosão e em quantidade máxima de 200 larvas por recipiente para evitar o canibalismo. Os recipientes com larvas, passaram por limpeza diária, retirando as exúvias e a sujeira presente, e posteriormente completando com água filtrada e novamente alimentadas com ração. Caso houvesse necessidade, devido a evaporação da água dos recipientes de criação, a água era repostada.

Quando observado a presença de pupas nos recipientes, elas foram retiradas com auxílio de pipeta plástica descartável, quantificadas e colocadas em copos descartáveis de 100 ml, sendo no máximo 200 pupas por copo e colocados em gaiolas de manutenção de adultos. As gaiolas utilizadas para criação de *A. aegypti*, são cilíndricas, de papelão de 18 cm de diâmetro X 17 cm de altura, são higienizadas previamente com água e detergente neutro sempre que utilizadas, a parte inferior interna das mesmas é revestida com papel filtro, antes de receber os copos (100 mL) contendo as pupas. Todas as gaiolas recebem etiquetas de identificação, constando

data de emergência dos mosquitos. Os adultos (machos e fêmeas) recém emergidos, foram alimentados com uma solução sacarose (10%), utilizando um *Erlenmeyer* contendo a solução e um “pavio” confeccionado de algodão e gazes. Vale ressaltar, que todas as fêmeas usadas nos testes, não receberam repasto sanguíneo, apenas solução de sacarose (10%), e todos os utensílios utilizados na criação lavados com água e detergente neutro.

No dia anterior ao teste, a alimentação das fêmeas de *A. aegypti* foi suspensa e no dia do teste, 480 fêmeas foram separadas e colocadas em copos parafinados, contendo 30 fêmeas em cada um deles, totalizando 16 copos. Duas gaiolas confeccionadas para os testes, uma a gaiola controle e a outra gaiola teste, ambas contendo 30 fêmeas, com idade cronológica de 3 a 9 dias (Figura 13).



Figura 13. Esquema do passo a passo de uma criação de mosquitos *Aedes aegypti* em condições controladas em laboratório. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

3.3 Avaliação de derivados a base de octenol e ácido láctico

Todos os derivados a base de octenol e ácido láctico são codificados e identificados como: RSD36, RSD38, RSD44, RSD45, RSD46, RSD47, RSD48 e RSD49, sendo desenvolvidos e fornecidos pelo Dr. Francisco de Assis do Departamento de Química da UFPR que em parceria com o Laboratório de Malária e Dengue – LMD do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, avaliou a atividade de repelência dos derivados a base de octenol e ácido láctico em fêmeas de *A. aegypti* (Figura 14).



Figura 14. Departamento de Química da UFPR. Fonte: UFPR, 2023. Derivados a base de octenol e ácido láctico. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Este estudo foi realizado conforme o protocolo desenvolvido pela World Health Organization (WHO 2009), para testes de eficácia de repelentes de mosquitos para pele humana com algumas modificações e os ensaios foram realizados em sala com condições controladas de temperatura (26 a 28°C) e umidade (70 a 80).

Participaram deste estudo voluntários de ambos os sexos, maiores de 18 anos, sem diferenciação da cor/raça que aceitarem participar do estudo, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE e do Termo de Autorização de Uso de Imagem (Figura 15).



Figura 15. Voluntário assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Autorização de Uso de Imagem. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Vinte quatro horas antes das avaliações foi realizado um teste em cada voluntário, seguindo as normas previstas pelas diretrizes da WHO (2009) para detectar possíveis efeitos alérgicos aos componentes do repelente comercial (controle do estudo) ou um dos oito derivados avaliados (RSD36, RSD38, RSD44, RSD45, RSD46, RSD47, RSD48 e RSD49). O teste de alergia consiste em aplicação de uma pequena quantidade da diluição dos derivados a serem avaliados, sendo aplicada na área do antebraço esquerdo. O mesmo ocorre com o repelente comercial 25% de DEET no antebraço direito e caso constatado uma reação alérgica em até 24 horas, o voluntário é excluído do estudo. No entanto, caso não ocorra reações alérgicas, ele estaria apto a participar dos experimentos (Figura 16).



Figura 16. Teste de alergia aos derivados de octenol e ácido láctico e ao repelente comercial 25% de DEET em voluntário. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Não foram incluídos neste estudo, crianças, gestantes, ou pessoas que possuem alergias a picadas de insetos. Também foi excluído os voluntários que apresentaram sintomas gripais no dia do teste. Antes da aplicação dos derivados a base de octenol e ácido láctico ou repelente comercial, os antebraços e mãos dos voluntários foram lavados com detergente neutro e água corrente e secos com papel toalha para garantir que a superfície da pele esteja livre de sujeira, óleos exógenos, perfumes e demais resíduos. Além de usar jalecos durante toda a avaliação, tendo apenas as mãos expostas (Figura 17).



Figura 17. Voluntário fazendo a higienização das mãos e uso de EPI. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

A diluição dos derivados a base de octenol e ácido láctico foi realizada da seguinte maneira: Os sete derivados (RSD36, RSD38, RSD44, RSD45, RSD46, RSD47, RSD48 e RSD49), foram diluídos com o auxílio de pipetas automáticas e frascos de vidro âmbar, onde 100 μL de cada derivado foi diluído em 900 μL de Etanol PA, gerando assim, um volume final de 1 mL (Figura 18), que foi aplicado na mão esquerda do voluntário cobrindo toda a área (Andrade 2008; Annies *et al.* 2012) (Figura 19). O repelente comercial a base de DEET (25%), foi utilizado como controle do estudo, utilizou-se uma colher dosadora plástica de 1 grama para sua aplicação por toda a área da mão direita do voluntario (Figura 20).



Figura 18. Diluição dos derivados a base de octenol e ácido láctico. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.



Figura 19. Aplicação do derivado (teste) uniformemente na mão esquerda do voluntário com auxílio de uma pipeta. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.



Figura 20. Aplicação do repelente a base de DEET 25% (controle) em voluntário, utilizando-se de uma colher dosadora de 1 grama e espalhado uniformemente na mão direita. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

As avaliações iniciaram-se com o teste negativo, por meio das mãos direita e esquerda (sem nenhum produto) posicionadas na distância de 1 cm das laterais da gaiola, sem encostar, por três minutos, observando-se a atividade das 30 fêmeas. Caso houvesse mais de 50% de tentativas de repasto sanguíneo observado pela tela lateral, o teste seguiria normalmente. Contudo, se a atividade das fêmeas fosse inferior a 50%, elas seriam descartadas e substituídas por outras 30 fêmeas. O mesmo procedimento ocorreu com a gaiola teste e todos os dados foram anotados em uma planilha do Excel (Figura 21).

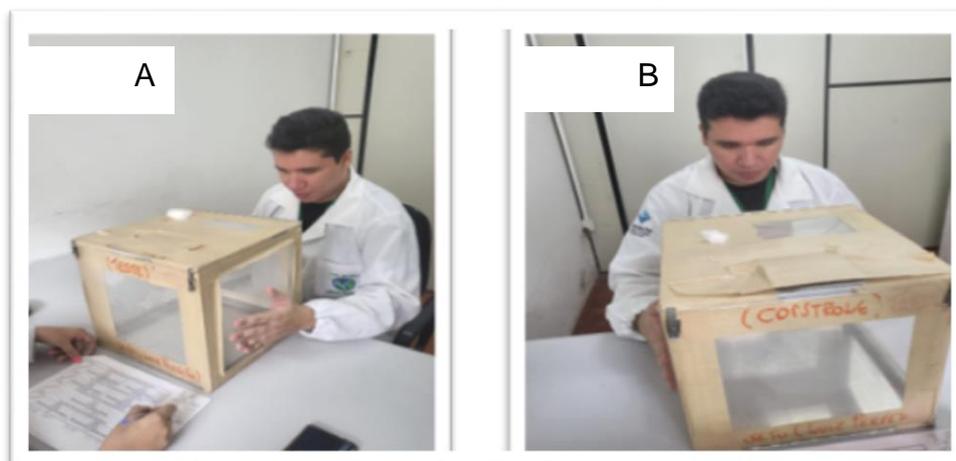


Figura 21. Teste de avaliação da atratividade das fêmeas de *Aedes aegypti* (A) gaiola teste com a mão esquerda e (B) gaiola controle com a mão direita. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Após o teste negativo de atratividade das fêmeas em ambas gaiolas (controle e teste), o voluntário posicionou a mão direita dentro da gaiola controle até a altura do pulso por uma entrada exclusiva para este propósito, permanecendo durante 3 minutos, caso ocorresse a tentativa de repasto ou pouso pelas fêmeas na mão do voluntário por mais de 5 segundos, a mão do voluntário seria retirada imediatamente e o teste finalizado. Entretanto, se durante os 3 minutos de teste, não fosse observada a tentativa de repasto ou pouso por mais de 5 segundos, o teste seguiria normalmente, sendo caracterizado como repelência, sendo os dados tabulados em planilha do Excel (Figura 22).

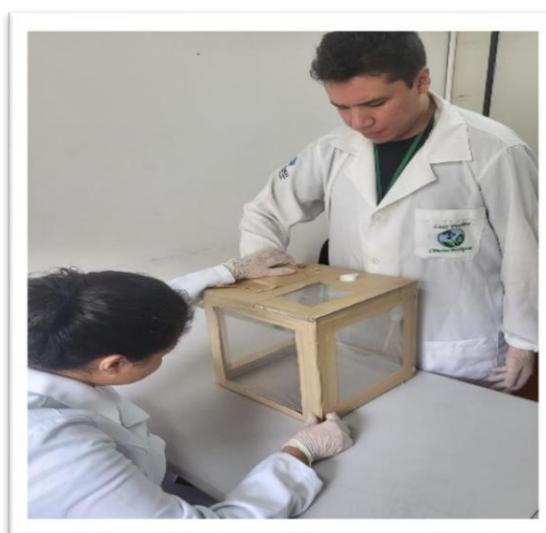


Figura 22. Avaliação da atividade repelente a base de DEET 25% em voluntário com a mão direita inserida na gaiola controle. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

O mesmo procedimento foi realizado para a gaiola teste, ou seja, a mão esquerda (teste) posicionada dentro da gaiola teste (Figura 23) durante 03 minutos ou até ser observado tentativa de repasto ou pouso por mais de 05 segundos.



Figura 23. Avaliação da atividade repelente do derivado a base de octenol ou ácido láctico em voluntário com a mão esquerda inserida na gaiola teste. Fonte: Acervo do Laboratório de Malária e Dengue (LMD/INPA), 2023.

Após a primeira avaliação, houve um intervalo de 60 minutos até o próximo teste e assim sucessivamente, até que fosse constatado duas falhas consecutivas, quando o teste foi finalizado. Este procedimento teve como objetivo, determinar o tempo de proteção conferido pelo repelente comercial DEET (25%) e pelos derivados a base de octenol e ácido láctico (Figura 24).

VOLUNTÁRIO	R1		1 hora	R2		1 hora	R3		1 hora	R4		1 hora
	3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos	
V1	C	T	INTERVALO									
V2	C	T		C	T		C	T		C	T	
V3	C	T		C	T		C	T		C	T	
V4	C	T		C	T		C	T		C	T	
V5	C	T		C	T		C	T		C	T	
V6	C	T		C	T		C	T		C	T	
VOLUNTÁRIO	R5		1 hora	R6		1 hora	R7		1 hora	R8		1 hora
	3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos		3 minutos	3 minutos	
V1	C	T	INTERVALO	C	T	INTERVALO	C	T	INTERVALO	C	T	FINAL
V2	C	T		C	T		C	T		C	T	
V3	C	T		C	T		C	T		C	T	
V4	C	T		C	T		C	T		C	T	
V5	C	T		C	T		C	T		C	T	
V6	C	T		C	T		C	T		C	T	

Figura 24. Esquema demonstrando o número de réplicas e seus intervalos durante os testes.

Após cada avaliação, as fêmeas foram descartadas, as gaiolas higienizadas e 30 novas fêmeas foram colocadas no interior das gaiolas (controle e teste), permanecendo por cerca de 30 minutos para aclimatização e assim sucessivamente até o término dos testes (WHO 2009; Tisgratog *et al.* 2016; Anuar e Yusof 2016).

3.4 Análise de Dados

Os dados foram previamente plotados em planilhas do Excel, seguido de análise estatística descritiva a partir da construção de gráficos e tabelas. Para as análises descritivas foram calculados o percentual do tempo de repelência. Para isso, foi considerado 480 minutos (8 horas) como tempo máximo de duração do teste. Portanto, a transformação dos dados em percentual ocorreu de acordo com a seguinte fórmula:

$$\%Tempo\ de\ repel\ência = \frac{Tempo\ de\ repel\ência\ (minutos)}{480} \times 100$$

Para cada derivado, os dados foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias por meio dos testes estatísticos Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Ao não atender os critérios de normalidade e homogeneidade de variâncias, os dados foram submetidos ao teste de Wilcoxon para amostras pareadas com intuito de avaliar a existência ou ausência de diferenças no desempenho de repelência entre o grupo teste e o grupo controle.

Todas as análises estatísticas (descritiva e inferencial) foram realizadas utilizando o programa R versão 4.3.3. Para todos os testes estatísticos aplicados foram considerados resultados estatísticos significativos quando $\alpha < 0,05$. Os pacotes utilizados durante a análise foram: ggplot2, dplyr, stat, exactRankTests e car.

4. RESULTADOS

Os derivados à base de octenol (RSD44, RSD45, RSD46, RSD47 e RSD49) e ácido láctico (RSD36, RSD38 e RSD48) e o repelente comercial 25% de DEET (controle) foram avaliados individualmente em seis voluntários. Observou-se que os derivados a base de octenol (RSD44, RSD45, RSD46, RSD47 e RSD49), não apresentaram atividade repelente e, portanto, foram excluídos dos testes subsequentes. Os derivados a base de ácido láctico RSD38 e RSD48 evidenciou-se atividade repelente, enquanto no derivado a base ácido láctico RSD36 não demonstrou atividade de repelência. Comparando o RSD38 e o RSD48, constatou-se que o melhor desempenho foi do RSD38, com proteção acima dos 480 minutos durante avaliações nos voluntários 5 e 6. Já o voluntário 1, onde o teste e controle apresentaram o mesmo tempo de proteção com 390 minutos. Os voluntários 2 e 3 apresentaram tempo de repelência ao derivado RSD38 similares (171 e 176 minutos) e inferior ao controle. No entanto, no voluntário 04 verificou-se que o controle foi de 86 minutos quando comparado ao RSD38 com 176 minutos.

O RSD38 entre os voluntários 2, 3 e 4 alcançou em média 174,33 minutos de repelência, o que equivale a 36%. Apenas o teste realizado no voluntário 4 apresentou um tempo de repelência de 176 minutos (36,67%) maior em relação ao controle com 86 minutos (17,92%) (Figura 25; Tabela 1).

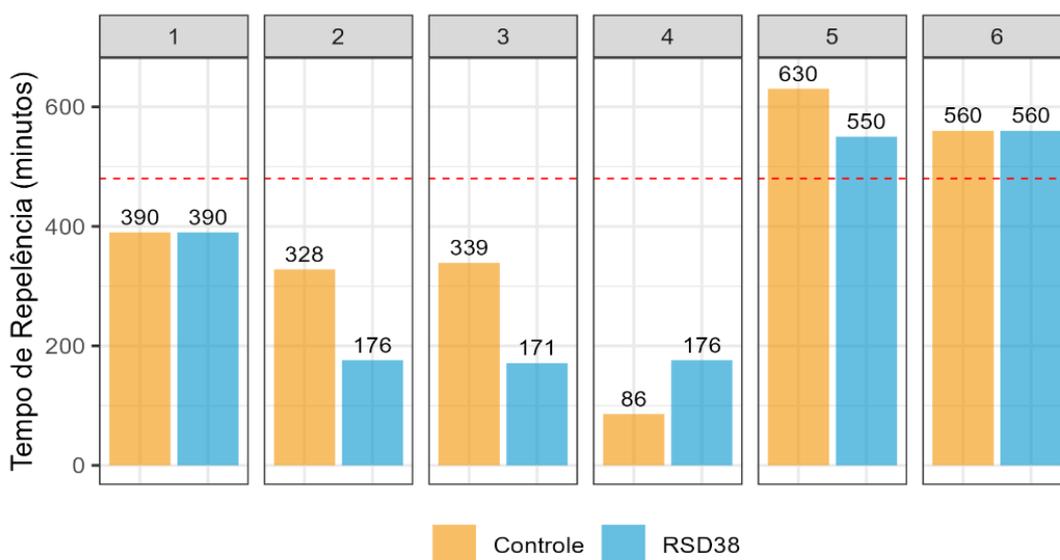


Figura 25. Tempo de repelência obtido entre os seis voluntários durante a avaliação do derivado de ácido láctico RSD38. Os números no topo dos gráficos indicam o código de identificação do voluntário. A linha vermelha marca 480 minutos (8 horas).

Os resultados obtidos para o derivado RSD48 demonstraram que o tempo de repelência do derivado entre os voluntários variou de 216 minutos (45%) como valor mínimo a 318 minutos (66,25%) o máximo, a maioria na faixa de 244–266 minutos (50,83–55,42%). O derivado RSD48 não alcançou a proteção de 480 minutos nos voluntários avaliados. O melhor resultado foi para o voluntário 4 com 318 minutos e o pior desempenho para o voluntário 6 com 216 minutos. Os tempos de repelência do RSD48 para os voluntários 1 foi de 266 minutos e 2 com 263 minutos, e por fim os voluntários 3 com 247 minutos e o 5 com 244 minutos, de uma forma geral, muito similares (Figura 26; Tabela 1).



Figura 26. Tempo de repelência obtido entre os seis voluntários durante a avaliação do derivado de ácido láctico RSD48. Os números no topo dos gráficos indicam o código de identificação do voluntário. A linha vermelha marca 480 minutos (8 horas).

Ao considerar o grupo teste (derivado a base de ácido láctico) e o grupo controle (o repelente comercial a base de DEET 25%), notou-se que as medidas de tendência central utilizadas (média e mediana) foram menores para os dois derivados testados (grupo teste) em relação aos controles (Tabela 2). Quanto a dispersão dos dados observadas por meio do desvio-padrão, o grupo teste para os derivados RSD38 (188,31) e RSD48 (33,95) apresentaram menor dispersão em relação aos controles (192,54 e 96,67, respectivamente). Ao avaliar a mediana, observou-se que derivado RSD38 (334,00) apresentou maior dispersão, observada por meio do intervalo interquartil (IQR), em relação ao controle (186,75).

Tabela 1. Tempo de repelência para os derivados de ácido láctico RSD38, RSD48 e controle DEET 25%.

Derivado	Voluntário	Tempo de Repelência	
		Teste Minuto (%)	Controle Minuto (%)
RSD38	1	390 (81,25)	390 (81,25)
	2	176 (36,67)	328 (68,33)
	3	171 (35,63)	339 (70,63)
	4	176 (36,67)	86 (17,92)
	5	550 (100)	630 (100)
	6	560 (100)	560 (100)
RSD48	1	266 (55,42)	352 (73,33)
	2	263 (54,79)	416 (86,67)
	3	247 (51,46)	242 (50,42)
	4	318 (66,25)	478 (99,58)
	5	244 (50,83)	244 (50,83)
	6	216 (45,00)	285 (59,38)

Teste = Mãos contendo substância derivada.

Controle = Mãos contendo repelente comercial 25% de DEET.

Ao considerar o grupo teste (derivado a base de ácido láctico) e o grupo controle (o repelente comercial a base de DEET 25%), notou-se que as medidas de tendência central utilizadas (média e mediana) foram menores para os dois derivados testados (grupo teste) em relação aos controles (Tabela 2). Quanto a dispersão dos dados observadas por meio do desvio-padrão, o grupo teste para os derivados RSD38 (188,31) e RSD48 (33,95) apresentaram menor dispersão em relação aos controles (192,54 e 96,67, respectivamente). Ao avaliar a mediana, observou-se que derivado RSD38 (334,00) apresentou maior dispersão, observada por meio do intervalo interquartil (IQR), em relação ao controle (186,75).

Tabela 2. Medidas de tendência central (média e mediana) obtidos a partir do tempo de repelência para cada grupo de participantes.

Derivado	Grupo	n	Tempo de Repelência (minutos)	
			Média \pm DP	Mediana (IQR)
RSD38	Teste	6	337,17 \pm 188,31	283,00 (334,00)
	Controle	6	388,83 \pm 192,54	364,50 (186,75)
RSD48	Teste	6	259,00 \pm 33,95	255,00 (20,50)
	Controle	6	336,17 \pm 96,67	318,00 (145,75)

DP = Desvio-Padrão; IQR = Intervalo Interquartil.

Teste = Mãos contendo substância derivada.

Controle = Mãos contendo repelente comercial 25% de DEET.

Após realizar a análise dos dados utilizando o teste de Shapiro-Wilk, e verificou-se que somente os dados do "grupo teste" com o derivado RSD38 não apresentaram uma distribuição normal ($w = 0,789$; $p = 0,047$). Os demais grupos do estudo, RSD 48 e os controles obtiveram um valor de $p > 0,05$, indicando que seus dados seguem uma distribuição normal (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados sobre distribuição normal e não normal, obtidos por meio do teste de Shapiro-Wilk.

Derivado	Grupo	N	p-valor
RSD38	Teste	6	0,047*
	Controle	6	0,732
RSD48	Teste	6	0,571
	Controle	6	0,422

Teste = *Mãos contendo substância derivada.*

Controle = *Mãos contendo repelente comercial 25% de DEET.*

* *Teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$)*

A avaliação dos dados pelo teste de Levene evidenciou que os valores de tempo de repelência entre os grupos envolvidos no tratamento com o derivado RSD48 não atendem ao pressuposto de homogeneidade de variâncias ($p = 0,018$) (Tabela 4). Os resultados obtidos pelo teste de Shapiro-Wilk e Levene, corrobora que os dados não atendem ao pressuposto de normalidade e homogeneidade de variâncias para realização de análise estatística paramétrica, portanto a estatística inferencial dos dados foi realizada por análise não paramétrica.

Tabela 4. Comparação dos resultados obtidos pelo teste Shapiro-Wilk, utilizando o teste de homogeneidade dos dados com o teste de Levene.

Derivado	Grupo	N	p-valor
RSD38	Teste	6	0,657
	Controle	6	
RSD48	Teste	6	0,018*
	Controle	6	

Teste = *Mãos contendo substância derivada.*

Controle = *Mãos contendo repelente comercial 25% de DEET.*

* *Teste de Levene ($p < 0,05$)*

Embora as análises descritivas (Tabela 2) demonstrem melhor desempenho no tempo de repelência dos grupos controles, a análise estatística inferencial, realizada por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon, revelou que não há diferença

estatística significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Portanto, tanto o tratamento com o derivado RSD38 ($p = 0,375$) quanto o com RSD48 ($p = 0,125$) e seus respectivos controles apresentam resultados estatisticamente semelhantes no tempo de repelência (Tabela 5; Figura 27).

Tabela 5. Resultados do teste não paramétrico, utilizando-se o teste de Wilcoxon.

Derivado	Grupo	N	p-valor
RSD38	Teste	6	0,375
	Controle	6	
RSD48	Teste	6	0,125
	Controle	6	

Teste = Mãos contendo substância derivada.

Controle = Mãos contendo repelente comercial 25% de DEET.

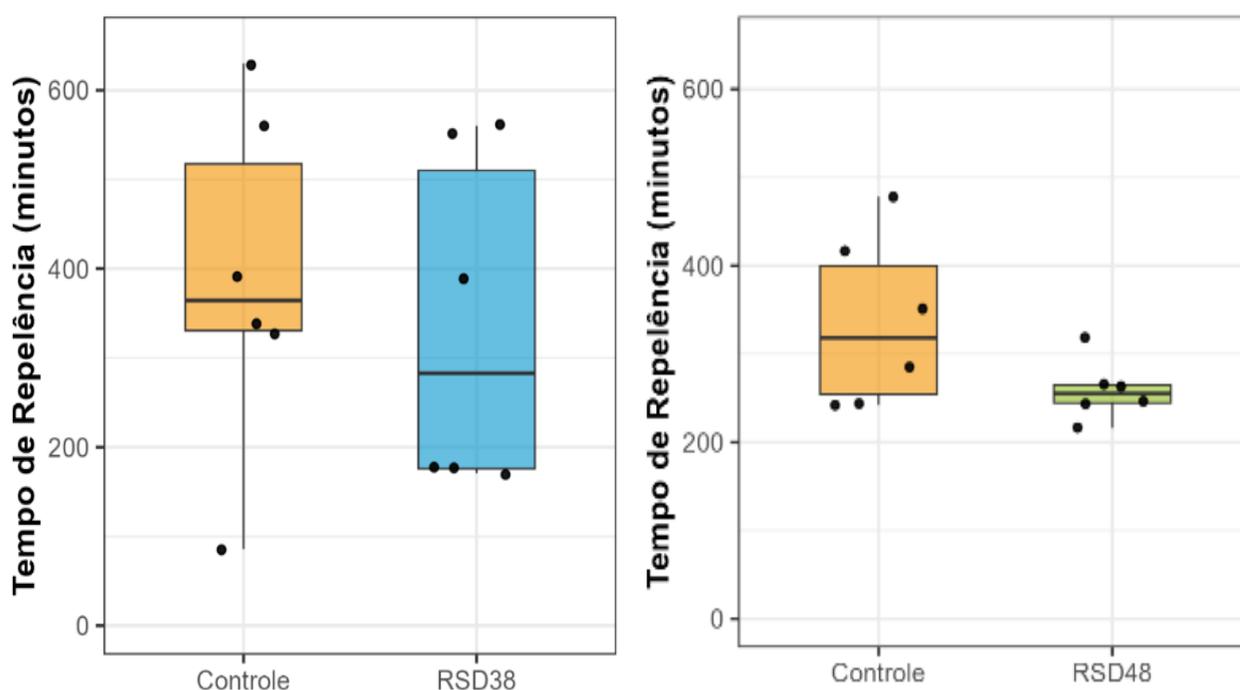


Figura 27. Comparação entre os tempos de repelência dos grupos controle e teste durante a avaliação dos derivados de ácido láctico RSD-38 (à esquerda) e o RSD-48 (à direita).

5. DISCUSSÃO

Nos primeiros meses do ano de 2024, houve um recorde de casos de dengue no Brasil em comparação aos anos anteriores, causando grande preocupação por parte do Governo Federal e o MS. O fenômeno *El Niño* está relacionado a esse aumento de casos, pois interfere na temperatura do mundo inteiro, propiciando uma explosão na população do mosquito *A. aegypti* (MS 2024). Por meio do Boletim Epidemiológico de 04 de julho de 2024, o Brasil registrou 6.245.967 casos de dengue, sendo 2.641 óbitos em investigação e 4.396 óbitos confirmados (MS 2024). Com a atual epidemia de dengue no Brasil, o uso de repelentes aumentou, principalmente por gestantes e crianças (MS 2024). Repelentes são usados como uma medida preventiva contra às picadas de fêmeas de *A. aegypti* e a OMS recomenda seu uso e apoia o desenvolvimento de novos repelentes, que apresenta menos efeitos colaterais e menor toxicidade (WHO 2009; Wylie *et al.* 2016).

Os derivados a base de octenol (RSD44, RSD45, RSD46, RSD47 e RSD49), quando avaliados em laboratório, não demonstrou atividade repelente sobre as fêmeas do mosquito *A. aegypti*. O que corrobora com o trabalho de Xu *et al.* (2015), que utilizou octenol como isca para capturar mosquitos em busca de hospedeiro para realizar a hematofagia. Os autores verificaram que as armadilhas com octenol capturaram mais fêmeas de *Anopheles gambiae* e *A. aegypti* do que as armadilhas controle. Porém, as armadilhas com octenol não conseguiram atrair o mosquito *Culex quinquefasciatus* e por meio de olfatomia, os autores demonstraram que o *C. quinquefasciatus* eram repelidos quando altas concentrações de octenol eram utilizadas. Além disso, quando os palpos das fêmeas foram removidos, os efeitos repelentes do octenol, em altas concentrações, permaneceram.

Xu *et al.* (2015) também demonstraram que além do receptor presente nos palpos, um outro receptor presente nas antenas, evidenciou atividade de repelência em altas concentrações de octenol. Portanto, o fato do octenol demonstrar repelência em *C. quinquefasciatus* e atratividade em *An. gambiae* e *A. aegypti*, pode justificar as falhas observadas durante as avaliações dos derivados a base de octenol em *A. aegypti* neste estudo. Vale ressaltar que Xu *et al.* (2015) quando utilizou uma concentração menor que 1% nos ensaios, não foi evidenciada a repelência. No entanto, quando foi utilizado a concentração de 1% a 10% observou-se resultados de atividade repelente sobre *C. quinquefasciatus*. Em nossos testes, foi utilizado a

concentração de 10% dos derivados a base de octenol e não se observou atividade repelente das fêmeas de *A. aegypti* avaliadas.

Em relação ao ácido láctico, a atratividade pode estar associada a quantidade de suor produzida e/ou ao sexo. De uma maneira geral os homens transpiram mais que as mulheres, apresentando uma maior quantidade de suor em relação as mulheres e isso pode variar em respostas fisiológicas e comportamentais sobre *A. aegypti* em relação a ácidos voláteis (Thurmon e Ottenstein 1952; Dekker *et al.* 2005; Potter 2019; Raji *et al.* 2019; Ray *et al.* 2023). O ácido láctico é encontrado naturalmente na pele humana e está presente no suor (Robinson e Robinson 1954; Kuno 1956; Gordon *et al.* 1971; Raji *et al.* 2019; Ray *et al.* 2023). Testes com diferentes concentrações de ácido láctico, pode ocasionar diferentes funções entre dois quimiorreceptores presentes nas fêmeas dos mosquitos *A. aegypti*, podendo explicar a atratividade, quanto a sua repelência (Davis e Sokolove 1976). A atração das fêmeas do mosquito *A. aegypti* pelo suor humano, foi observada nos estudos de Rudolfs (1922) e sua atividade de repelência por Smart e Brown (1956). Todavia, essa controvérsia também foi debatida por Skinner *et al.* (1968). Os resultados obtidos nas avaliações dos derivados de ácido láctico, sugerem uma diferença de atratividade entre os voluntários como odores e sua transpiração. Por meio de estudos que corrobora Ray *et al.* (2023), que observou que odores como ácido carboxílico, impulsionam a atração de fêmeas de *A. aegypti*, produzidos por micróbios presentes na pele humana e provavelmente atuado nos testes com derivados a base de octenol e ácido láctico, ocasionando em tempo de proteção diferenciados entre os voluntários.

Segundo o estudo de Brown *et al.* (1951), a atração de fêmeas do mosquito *A. aegypti* por meio de vapor de água, dióxido de carbono e outros compostos voláteis foi investigada usando um olfatômetro. Os autores observaram atratividade de até sete vezes maior de fêmeas de *A. aegypti* por meio de uma bola de algodão umedecida por meio de vapor de água, dióxido de carbono e outros compostos voláteis do que uma bola de algodão seca, além de evidenciarem resultados similares para bolas de algodão tingidas de preto. No entanto, a atratividade foi reduzida e até mesmo revertida em ambientes com umidades acima de 85%. A adição de 10% de dióxido de carbono em uma corrente de ar seco dobrou a capacidade de atrair os mosquitos a porta de entrada do olfatômetro (Brown *et al.* 1951).

No entanto, o próprio suor demonstrou ser significativamente atraente em concentrações abaixo de 1%, enquanto que se mostrou significativamente repelente

em concentrações acima de 1% (Brown *et al.* 1951; Dekker *et al.* 2005; Xu *et al.* 2015; Potter 2019). De acordo com avaliações no presente estudo, cinco derivados a base de octenol e três a base de ácido láctico foram avaliados e apenas dois dos três derivados a base de ácido láctico (RSD38 e RSD48) avaliados demonstraram atividade repelente contra fêmeas de *A. aegypti*. O derivado RSD36 a base de ácido láctico e os derivados RSD44, RSD45, RSD46, RSD47 e RSD49 a base de octenol não apresentaram atividade repelente contra fêmeas do mosquito *A. aegypti* e foram excluídos das etapas subsequentes do estudo.

A literatura científica relata que o ácido láctico atrai mosquitos (Acree *et al.* 1968; Smith *et al.* 1970; Eiras e Jepson 1994; Potter 2019; Raji *et al.* 2019; Ray *et al.* 2023). Entretanto, o ácido láctico obtido de lavagens com acetona de 800 braços humanos, evidenciou que o mesmo poderia atrair ou repelir fêmeas de *A. aegypti*, principalmente quando adicionado CO₂ (Acree *et al.* 1968; Smith *et al.* 1970; Eiras e Jepson 1994; Dekker 2005; Potter 2019; Raji *et al.* 2019; Ray *et al.* 2023). Avaliações em ratos e antebraços humanos tratados com L-LA evidenciaram repelência quando testados com mosquitos sem probóscide em estudo feito por Shirai *et al.* (2001). A concentração mínima de repelência foi calculada em 61,7 ppm, tanto em ratos como antebraços humanos quando tratados com ácido láctico e utilizado mosquitos sem probóscide observou-se atividade de repelência. Com isto, o ácido láctico atuou como repelente em pele tratada com L-LA a 1% (Shirai *et al.* 2001).

Para o derivado RSD38 e no repelente comercial a base de 25% de DEET observou-se atividade de repelência em ambos durante as avaliações deste estudo. Analisando os resultados obtidos para o derivado RSD38, observou-se que o teste realizado nos voluntários 5 e 6, excedeu o tempo de 480 minutos (8 horas), previamente estipulado, tendo como referência o tempo de 10 horas indicado na embalagem do produto utilizado como controle durante os testes. Ao comparar os resultados obtidos para o derivado RSD38 entre os voluntários, nota-se que o voluntário 1 obteve o terceiro maior tempo de repelência (390 minutos), resultado idêntico foi obtido no controle (390 minutos). Outro fato interessante é que os maiores tempos de repelência foram contabilizados nos voluntários do sexo feminino (1, 5 e 6) quando o derivado RSD38 foi avaliado, o que pode estar associado não somente ao sexo, mas também a transpiração, uma vez que de uma maneira geral as mulheres apresentam menor taxa de transpiração quando comparado aos homens (Thurmon e

Ottenstein 1952; Robinson e Robinson 1954; Kuno 1956; Gordon *et al.* 1971; Dekker 2005; Potter 2019; Raji *et al.* 2019; Ray *et al.* 2023).

Davis e Sokolove (1976), observaram durante seus estudos em um par de neurônios quimiorreceptores presentes nas antenas das fêmeas do mosquito *A. aegypti*, que um deles demonstrava atividade repelente, quando havia um aumento de 1% a 10% de ácido láctico. Enquanto o outro quimiorreceptor presentes nos palpos, apresentava uma resposta negativa, exibindo uma atratividade quando exposto ao ácido láctico (abaixo de 1%). A importância do ácido láctico no comportamento do mosquito em encontrar um hospedeiro é bastante discutida (Davis e Sokolove 1976; Dekker 2005).

Apesar do repelente comercial, utilizado como controle do estudo ter obtido um tempo de repelência maior, quando comparado ao derivado RSD38, as análises estatísticas, demonstraram não haver diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre o tempo médio de proteção do controle e do RSD38, evidenciando o potencial do derivado como repelente para as fêmeas de *A. aegypti*. O mesmo ocorreu quando foi comparado o tempo médio de repelência do repelente comercial e do derivado RSD48, evidenciando o potencial de ambos derivados para o desenvolvimento de um futuro repelente.

Apesar do controle demonstrar um maior percentual de proteção durante as avaliações, o repelente comercial utilizado como controle, apresenta 25% de DEET conforme descrito em sua embalagem. Enquanto que a concentração do derivado utilizado durante todos os testes foi de 10%, sendo a concentração do controle é 2,5x maior (25% de DEET). Além disso, o repelente comercial é um produto formulado pronto para uso, enquanto que os derivados avaliados é uma solução experimental (10% de derivado + 90% Etanol PA). No entanto, os testes com os derivados a base de ácido láctico RSD-38 e RSD-48 demonstraram uma atividade de repelência, evidenciando seu potencial sobre fêmeas do mosquito no futuro *A. aegypti*.

Nos testes realizados por Shirai *et al.* (2001) com mosquitos fêmeas com a proboscíde cortadas, impossibilitadas de picar e praticar a hematofagia em pele humana e camundongos, com concentrações de ácido láctico a 1%, os autores observaram ação de repelência. Assim, como testes executados por Dogan *et al.* (1999), que avaliou o DEET em mosquitos do gênero *Aedes* spp. e *Culex* spp., que se afastavam ao captar o repelente pelos seus receptores odoríferos. O DEET utilizado como controle deste estudo, age nos quimiorreceptores presentes nas

antenas das fêmeas dos mosquitos *A. aegypti*, o que lhe confere a menção de ser um dos melhores repelentes do mercado (Legeay *et al.* 2018).

Mapossa *et al.* (2021), investigou o potencial do poli (ácido lático) (PLA) como material alternativo sustentável e ecológico para desenvolver dispositivos repelentes de mosquitos. Fios de PLA contendo os repelentes DEET e/ou IR3535 por meio do processo de extrusão, onde esses repelentes também atuaram como plastificantes para o PLA. Os resultados indicaram a liberação dos repelentes avaliados a 50 °C e revelaram uma liberação inicial rápida seguida por uma taxa mais lenta e constante em tempos mais longos, corroborando como mecanismo de transporte observado. Esses resultados são promissores para o desenvolvimento de dispositivos repelentes de mosquitos duráveis, como pulseiras e tornozeleiras, feitos de PLA biodegradável. Os autores relataram que o PLA pode servir como alternativas ambientalmente seguras aos produtos existentes à base de petróleo, como o polietileno, proporcionando proteção contra picadas de mosquitos em regiões endêmicas de malária e outras doenças transmitidas por insetos.

O DEET atualmente é considerado o padrão ouro entre os repelentes (Legeay *et al.* 2018; Mapossa *et al.* 2021). Portanto, foi escolhido como o controle de todas as avaliações com os derivados a base de octenol e ácido lático, sendo que as avaliações seguiram todas as especificações contidas nas diretrizes sobre testes em pele humana, presentes na publicação da World Health Organization (WHO 2009) e utilizou-se de gaiolas confeccionadas com modificações, descritas por Tisgratog *et al.* (2016) em seus testes. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que a atividade repelente dos derivados RSD-38 e RSD-48, contra fêmeas do mosquito *A. aegypti*, foi estatisticamente semelhante ao controle do estudo.

O repelente a base de 25% de DEET, utilizado neste estudo, possui ação prolongada e confere uma proteção por até 10 horas, conforme indicação e descrição em sua embalagem. O DEET é o repelente mais comercializado no mundo desde 1957 (Fradin e Day 2002; Shelomi 2020), entretanto, sua toxicidade é a mais alta entre os repelentes atuais (Rodriguez *et al.* 2015; Portilla Pulido *et al.* 2022). O DEET pode causar vários danos em fibras sintéticas das roupas, plásticos e acrílicos, além de causar algumas formas de alergias cutâneas (Goodyer e Behrens 1998; Mcgready *et al.* 2001; Harris *et al.* 2010; Tavares *et al.* 2018; Portilla Pulido *et al.* 2022).

Há uma urgência em desenvolver repelentes de mosquitos que não tenham efeitos nocivos sobre crianças, grávidas e lactantes ou que agridam o meio ambiente.

Na última década, produtos naturais vêm ganhando destaque e força para novos repelentes de mosquitos devido à baixa toxicidade, taxas de biodegradação rápida e menor efeitos colaterais (Gideon *et al.* 2003; Portilla Pulido *et al.* 2022). Uma das vantagens do uso do ácido láctico é que as fêmeas do mosquito *A. aegypti* já se utilizam de substâncias atrativas como o ácido láctico para localizar o seu hospedeiro e praticar a hematofagia. E um repelente desenvolvido a base de ácido láctico, ocasionará em uma maior dificuldade em selecionar os resistentes. Portanto, os derivados a base de ácido láctico avaliados neste estudo, podem ser considerados uma alternativa viável para evitar o contato hospedeiro e vetor. Com isso, reduzindo a circulação do vírus da dengue e conseqüentemente diminuindo o número de casos das arboviroses veiculados pelo vetor, o mosquito *A. aegypti*.

6. CONCLUSÃO

Os derivados RSD38 e RSD48, têm o potencial de mitigar o risco de doenças arbovirais, impedindo que as fêmeas dos mosquitos *A. aegypti* se aproximem do ser humano e realize a hematofagia. Os derivados de ácido láctico (RSD38 e RSD48) utilizados neste estudo foram sintetizados a partir de uma molécula natural e de baixa toxicidade para humanos constituindo um aspecto positivo. Em testes futuros uma formulação similar ao controle e o aumento de 10% para 25% de princípio ativo, potencializará o efeito repelente dos derivados de ácido láctico. De tal modo, que beneficiará a população exposta as picadas das fêmeas do mosquito *A. aegypti* e poderá ser estendido para outros mosquitos hematófagos. Portanto, novos estudos são necessários visando a validação e a implementação deste novo método de prevenção.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCMED. 2016. Ácido láctico e exercícios físicos - efeitos no organismo. <<https://www.abc.med.br/p/vida-saudavel/1266213/acido-latico-e-exercicios-fisicos-efeitos-no-organismo.htm>>. Acesso em 17/01/2023.

Acree, F.Jr.; Turner, T.B.; Gouck, H.K.; Beroza, M.; Smith, N. 1968. L-lactic acid: a mosquito attractant isolated from humans. *Science*, 161:1346- 347.

Almeida, L.S.; Cota, A.L.S.; Rodrigues, D.F. 2020. Análise climática e a distribuição dos casos de dengue em Fortaleza. In: *Anais XVII Simpósio Brasileiro de Geografia Aplicada*. Campinas: UNICAMP, 2710-2714.

Andrade, C.F.S. 2008. Repelentes de Mosquitos – Base Técnica para Avaliação. Instituto de Biologia, *Departamento de Zoologia*, 9p. www.ib.unicamp.br/profs/ecoaplicada/. Acesso em 24/11/2022.

Annie, V. 2012. *Determinação Estrutural, Síntese e Aplicação de Compostos de Origem Botânica e ou Derivados Sintéticos Visando o Controle Populacional e o Efeito de Repelência do Mosquito Aedes aegypti*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. 92p.

Anuar, A.A.; Yusof, N. 2016. Methods of imparting mosquito repellent agents and the assessing mosquito repellency on textile. *Anuar and Yusof Fash Text*, 3:12.

ANVISA. 2022. Anvisa registra primeira vacina contra dengue no Brasil. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2016/anvisa-registra-primeira-vacina-contradengue-no-brasil>. Acesso em 10/03/2023.

ANVISA. 2023. Anvisa aprova nova vacina contra a dengue. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-nova-vacina-para-a-dengue>. Acesso em 03/04/2023.

Apergis, L.G. 2021. Estudo e aplicação de uma estratégia de controle ótimo na dinâmica populacional do *Aedes aegypti*. *Repositório Institucional da Universidade Estadual Paulista (Unesp)*. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/215582>. Acesso em 15/01/2023.

Bernier, U.R.; Tsikolia, M. 2011. Development of novel repellents using structure activity modeling of compounds in the USDA archival database. *Research Gate*, 1090:21–46.

Brasil. 2009. Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. <https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizesnacionaisprevencaocontroledengue.pdf> pncd_2002.pdf. Acesso em 28/11/2022.

Brasil. Ministério da Saúde, 2023. Ministério da Saúde incorpora vacina contra a dengue no SUS, <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2023/dezembro/ministerio-da-saude-incorpora-vacina-contra-a-dengue-no-sus>. Acesso em 07/01/2024.

Brown, A.W.A.; Sarkaria, D.S.; Thompson, R.P. 1951. Studies on the responses of the female *Aedes* mosquito. Part I. The search for attractant vapours. *Bulletin of Entomological Research*, 42:105-114.

Brown, M.; Hebert, A.A. 1997. Insect repellents: an overview. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 36:243-249.

Bueno, F.T.C.; García, M.; Moya, J.; Löwy, I.; Benchimol, J.L.; Cerqueira, R.C.; Cueto, M. 2017. Zika e *Aedes aegypti*: Antigos e novos desafios. *História, Ciências, Saúde Manguinhos*, 24:1161-1179.

BUTANTAN. 2022. Vacina da dengue do Butantan tem eficácia de 79,6%, mostram primeiros resultados da fase 3. *Portal do Butantan*, <https://butantan.gov.br/noticias/vacina-da-dengue-do-butantan-tem-eficacia-de-796-mostram-primeiros-resultados-da-fase-3>. Acesso em 12/01/2023.

BUTANTAN. 2023. Vírus da dengue tem 4 sorotipos e quase 20 genótipos; vacina do Butantan deve fornecer proteção global. *Portal do Butantan*, <https://butantan.gov.br/covid/butantan-tira-duvida/tira-duvida-noticias/virus-da-dengue-tem-4-sorotipos-e-quase-20-genotipos--vacina-do-butantan-deve-fornecer-protecao-global>. Acesso em 20/03/2023.

Choochote, W.; Chaitong, U.; Kamsuk, K.; Jitpakdi, A.; Tippawangkosol, P.; Tuetun, B. 2007. Repellent activity of selected essential oils against *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, 78:359–364.

Consoli, R.A.G.B.; Oliveira, R.L. 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil [online]. Rio de Janeiro: *Editora FIOCRUZ*, 228 p. ISBN 85-85676-03-5. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>. Acesso em 17/01/2023.

Costa, J. 2018. Potencial uso da manipueira no controle larvicida do *Aedes aegypti*. (<https://ciencia.ufs.br/conteudo/63128-subproduto-da-mandioca-pode-combater-aedes-aegypti>). Acesso em 16/01/2023.

Davis, E.E.; Sokolove, P.G. 1976. Lactic acid-sensitive receptors on the antennae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Comparative Physiology*, 105:43-54.

Dekker, T.; Geier, M.; Cardé, R.T. 2005. Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours. *Journal of Experimental Biology*. 208:2963-72.

Diaz, J.H. 2016. Chemical and plant-based insect repellents: efficacy, safety, and toxicity. *Wilderness Environ Medicine*, 27:153–63.

Di Lorenzo, M.L.; Longo, A. 2019. N, N-Diethyl-3-methylbenzamide (DEET): A mosquito repellent as functional plasticizer for poly (l-lactic acid). *Thermochimica Acta - Elsevier*. 677:180–185.

Dolan, M.C.; Panella, N.A. 2011. A review of arthropod repellents. *American Chemical Society*, 1090:1–19.

Do, T.T.T.; Martens, P.; Luu, N.H.; Wright, P.; Choisy, M. 2014. Climatic-driven seasonality of emerging dengue fever in Hanoi, Vietnam. *BMC Public Health*, 14:1-10.

Dogan, E.B.; Rossignol, P.A. 1999. An Olfactometer for Discriminating Between Attraction, Inhibition, and Repellency in Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36:788–793

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

Eiras, A.E. 2011. Culicidae *In*: Pereira Neves, Davi. Parasitologia humana. Edição 12^a, ed. Ateneu, São Paulo, 387-403p.

Esser, H.J.; Mögling, R.; Cleton, N.B.; *et al.* 2019. Risk factors associated with sustained circulation of six zoonotic arboviruses: a systematic review for selection of surveillance sites in non-endemic areas. *Parasites Vectors*, 12:265.

Feuser, Z.P. 2018. Eficácia dos ativos DEET, IR3535 e Picaridina usados como repelentes de uso tópico contra o *Aedes aegypti*. *Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva UNESC, Santa Catarina.*

Finkler, C.L.L. 2012. Controle de insetos: uma breve revisão, *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*, 8:169-189.

Forattini, O.P.; Lopes, O.S.; Rabello, E.X. 1968. Investigações sobre o comportamento de formas adultas de mosquitos silvestres no estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 2:111-173.

Fradin, M.S.; Day, J.F. 2002. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New England Journal of Medicine*, 4:13-18.

Furtado, A.N.R.; Lima, A.S.; Oliveira, A.S.; Teixeira, A.B.; Ferreira, D.S. 2019. Dengue e seus avanços. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 51:1-9.

Gideon, K.; Doreen, M. & Benoit, B. 2003. DEET- based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. *Canadian Medical Association Journal*, 169:209–212.

Goodyer, L.; Behrens, R.H. 1998. Short report: The safety and toxicity of insect repellents. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59:323–324.

Gordon, R.S.Jr.; Thompson R.H.; Muenzer, J.; Thrasher, D. 1971. Sweat lactate in man is derived from blood glucose. *Journal of Applied Physiology*, 31:713-716.

Guy, B.; Saville, M.; Siqueira, J.B.; Bricks, L.F. 2011. Desenvolvimento de uma vacina tetravalente contra dengue. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 2:14.

Harbach, R.E.; Tang, D.B.; Wirtz, R.A.; Gingrich, J.B. 1990. Relative repellency of two formulations of N, N-diethyl-3-methylbenzamide (deet) and permethrin-treated clothing against *Culex sitiens* and *Aedes vigilax* in Thailand. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 6:641-644.

Harris, A.F.; Rajatileka, S.; Ranson, H. 2010. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83:277-284.

Henrique, M.; Paiva, S. 2013. Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti*. Fundação Oswaldo Cruz, 195p.

Herrera, F.; Urdaneta, L.; Rivero, J.; Zoghbi, N.; Ruiz, J.; Carrasquel, G.; *et al.* 2006. Population genetic structure of the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Venezuela. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 101:625–633.

Higgs, S.; Vanlandingham, D. 2015. Chikungunya virus and its mosquito vectors. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 15:231-240.

Honório, N.A.; Câmara, D.C.P.; Calvet, G.A.; Brasil, P. 2015. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. *SCIELO Brasil*.

Ilsenmann, A.F. 2021. Princípios Químicos em Produtos Cosméticos e Sanitários. Edição 1ª, ed. Buqui, 469p.

Islam, J.; Zaman, K.; Duarah, S.; Raju, P.S.; Chattopadhyay, P. 2017. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. *Acta Tropica*, 167:216–230.

Kallas, E.G.; Precioso, A.R.; Palacios, R.; Thomé, B.; Braga, P.E.; Vanni, T.; *et al.* 2020. Safety and immunogenicity of the tetravalent, live-attenuated dengue vaccine Butantan-DV in adults in Brazil: a two-step, double-blind, randomised placebo-controlled phase 2 trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 20:839-850.

Khetarpal, N.; Khanna, I. 2016. Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. *Journal Immunology Research*, 60p.

Khongwichit, S.; Chansaenroj, J.; Chirathaworn, C.; Poovorawan, Y. 2021. Chikungunya virus infection: molecular biology, clinical characteristics, and epidemiology in Asian countries. *Journal of Biomedical Science*, 2:28-84.

Kumar, R.; Ahmed, S.; Parray, H.A.; Das, S. 2021. Chikungunya and arthritis: An overview. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 44:102-168.

Kuno, Y. 1956. *Human perspiration*. Thomas, C.C. Springfield, IL.

Legeay, S.; Clere, N.; Apaire-Marchais, V.; Faure, S.; Lapied, B. 2018. Unusual modes of action of the repellent DEET in insects highlight some human side effects. *European Journal of Pharmacology*, 825:92-98.

Louise, C.; Vidal, P.O.; Suesdek, L. 2015. Microevolution of *Aedes aegypti*. *Public Library of Science*, 11:10.

Lozano-Fuentes, S.; Hayden, M.H.; Welsh-Rodriguez, C.; et al. 2012. The Dengue Virus Mosquito Vector *Aedes aegypti* at High Elevation in México. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87:902–909.

Lupi, E.; Hertz, C.; Schlagenhauf, P. 2013. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp.: A literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 11:374–411.

Maia, P.C.R.; La Corte, R.; Pires, L.B.; Banfield, L.; Logan, J.G.; Lima-Camara, T.N. 2022. Increased Repellent Effect of DEET on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Field Population. *Journal of Medical Entomology*, 13:1368-1375.

Malavige, G.N.; Fernando, S.; Fernando, D.J.; Seneviratne, S.L. 2004. Dengue viral infections. *Postgraduate Medical Journal*, 80:588–601.

Mapossa, A.B.; López-Beceiro J.; Díaz-Díaz A.M.; Artiaga R.; Moyo D.S.; Mphateng T.N.; Focke W.W. 2021. Properties of Mosquito Repellent-Plasticized Poly (lactic acid) Strands. *Molecules*. *National Center for Biotechnology Information*, 28:26.

Mapossa, A.B.; Focke, W.W.; Tewo, R.K.; Androsch, R.; Kruger, T. 2021. Mosquito-repellent controlled-release formulations for fighting infectious diseases. *Malar Journal*, 24:165.

Martini, G. A. 2013. Avaliação da citotoxicidade do dietiltoluamida (DEET) em mexilhões perna, perna (Linnaeus, 1758) irradiados e não irradiados com radiação gama de 60Co. *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)*, São Paulo.

McGready, R.; Hamilton, K.A.; Simpson, J.A.; Cho, T. & Luxemburger, C. 2001. Safety of the insect repellent N, N-diethyl-M-toluamide (DEET) in pregnancy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65:285–289.

Melo, V.D.; Silva, J.S.; La Corte, R. 2019. Use of mosquito repellents to protect against Zika virus infection among pregnant women in Brazil. *Public Health*, 171:89–96

Ministério da Saúde. 2024. Secretaria de Vigilância em Saúde. www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses. Acesso em 27/04/2024.

Ministério da Saúde. Saúde de A a Z. 2022b. www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/c/chikungunya. Acesso em 30/11/2022.

Ministério da Saúde. Saúde de A a Z. 2022c. www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/z/zika-virus. Acesso em 30/11/2022.

Ministério da Saúde. Saúde de A a Z. 2022d. www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue. Acesso em 30/11/2022.

Ministério da Saúde. Saúde de A a Z. 2022f. www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-amarela. Acesso em 30/11/2022.

Monaghan, A.J.; Steinhoff, D.F.; Eisen, L. 2012. The dengue virus mosquito vector *Aedes aegypti* at high elevation in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87:902-909.

Monsalve, Y.; Triana-Chávez, O.; Gómez-Palacio, A. 2021. Population structure and ancestry prediction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) supports a single African origin of Colombian populations. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 9:116.

Moreira, L.A.; Iturbe-Ormaetxe, I.; Jeffery, J.A.; Lu, G.; Pyke, A.T.; *et al.* 2009. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and *Plasmodium*. *National Library of Medicine - PubMed*, 24:139.

Narayan, G.; Brian, J.J.; Sameer, M.D.; Gregor, J.D. 2021. Padrões de dengue no Nepal de 2010–2019 em relação à elevação e ao clima. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Edição 7, 115:741–749.

Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde. 2021. Dengue, Fact sheet. www.paho.org/pt/topicos/dengue. Acesso em 28/11/2022.

Paumgarten, F.J.R.; Delgado, I.F. 2016. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez. *Revista Visa em Debate*, 4:97–104.

Pego, C.; Santos, V; Lima, V. 2014. A dengue. *Revista de Saúde Pública*, 1:1-12.

Peterson, C.; Coats, J. 2001. Insect repellents - Past, present and future. *Journal Pesticide Outlook*, 12:154–158.

Pingxi, X.; Young-Moo, C.; Alyssa, D.L.R.; Walter, S.L. 2014. Receptor de odor de mosquito para DEET e metil jasmonato. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1417244111. Acesso em 29/11/2022.

Plourde, A.R.; Bloch, E.M. 2016. A Literature Review of Zika Virus. *Emerging Infectious Diseases*, 22:1185–1192.

Portilla Pulido, J.S.; Urbina Duitama, D.L.; Velasquez-Martinez, M.C.; Mendez-Sanchez, S.C.; Duque, J.E. 2022. Differentiation of action mechanisms between natural and synthetic repellents through neuronal electroantennogram and proteomic in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Scientific Reports*, 27:20397.

Potter C.J. 2019. Olfaction: Mosquitoes Love Your Acid Odors. *Current Biology*. 29:282-284.

Powell, J.R.; Gloria-Soria, A.; Kotsakiozi, P. 2018. Recent History of *Aedes aegypti*: Vector Genomics and Epidemiology Records. *Bioscience*, 68:854-860.

Raji, J.I.; Melo, N.; Castillo, J.S.; Gonzalez, S.; Saldana, V.; Stensmyr, M.C.; DeGennaro, M. 2019. *Aedes aegypti* Mosquitoes Detect Acidic Volatiles Found in Human Odor Using the IR8a Pathway. *Current Biology*. 22:29.

- Ray, G.; Huff, R.M.; Castillo, J.S.; Bellantuono, A.J.; DeGennaro, M.; Pitts, R.J. 2023. Carboxylic acids that drive mosquito attraction to humans activate ionotropic receptors. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 20:17.
- Ribas, J.; Carreño, A.M. 2010. Avaliação do uso de repelentes contra picada de mosquitos em militares na Bacia Amazônica. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85:33-38.
- Robinson, S.; Robinson, A.H. 1954. Chemical composition of sweat. *Physiological Reviews*, 34:202-220.
- Rodriguez, S.D.; Drake, L.L.; Price, D.P.; Hammond, J.I.; Hansen, I.A. 2015. The Efficacy of Some Commercially Available Insect Repellents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Science*, 15:140.
- Rudolfs, W. 1922. Chemotropism of mosquitoes. *Bull. N.J.Agric. Exp. Stn* , 367:5-23.
- Santos, M.A.V.D.M.; Regis, L.N.; Lopes, F.J.A.; Oliveira, C.M.F.D.; Barbosa, R.M.R.; Guedes, D.R.D.; Verçosa, C.J.; *et al.* 2017. Tecnologias integradas para controle biológico, mecânico e genético de *Aedes aegypti*. *Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde*, 28:58-63.
- Schreck, C.E.; McGovern, T.P. 1989. Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5:247-250.
- Sharma, V.; Sharma, M.; Dhull, D.; Sharma, Y.; Kaushik, S. 2020. Zika virus: an emerging challenge to public health worldwide. *Canadian of Journal Microbiology*, 66:87-98.
- Shelomi, M. 2020. Who's afraid of DEET? Fearmongering in papers on botanical repellents. *Journal Malaria - National library medicine*: 19:146.
- Shirai, Y.; Kamimura, K.; Seki, T.; Morohashi, M. 2001. L-lactic acid as a mosquito (Diptera: Culicidae) repellent on human and mouse skin. *Journal Medicine Entomology*, 38:1.

Silva, L.S.B.; Vasconcelos, A.S.V.; Sanches, A.L.; Cardoso, R.T.N.; Fernandes, J.L.A.; Eiras, A.E. 2019. Otimização Mono-objetivo no Controle do Mosquito *Aedes aegypti* por meio de um Modelo de Duas Populações com Influência da Precipitação. *Tendências em Matemática Aplicada e Computacional*, 20: 197 - 216 (www.scielo.br/tema). Acesso em 16/01/2023.

Siqueira, P.C.; Catão, R.C.; Gava, C.; Maciel, E.L.N.; Prado, T.N.D. 2021. Difusão espaço-temporal da febre amarela silvestre em um estado do Sudeste do Brasil em 2017. *Caderno de Saúde Pública*, 15:37-39.

Skinner, W.A.; Tong, H.; Johnson, H.; Maibach H.; Skidmore D. 1968. Human sweat components-attractancy and repellency to mosquitoes. *Experientia*, 24:679-680.

Smart, M.R.; Brown A.W.A. 1956. Studies on the responses of the female *Aedes* mosquito. Part VII. The effect of skin temperature, hue and moisture on the attractiveness of the human hand. *Bulletin of Entomological Research*, 47:89-100.

Smith, C.N.; Smith, N.; Gouck, H.K.; Weidhaas, D.E.; Gilbert, I.H.; Mayer, M.S.; Smittle, B.J.; Hofbauer, A. 1970. L-lactic acid as a factor in the attraction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to human hosts. *Annals of the Entomological Society of America*, 63:760–770.

Stefani, G.P.; Pastorino, A.C.; Castro, A.P.B.M.; Fomin, A.B.F.; Jacob, C.M.A. 2009. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. *Revista Paulista de Pediatria*, 27:81-89.

Subedi, D.; Taylor-Robinson, A. 2016. Epidemiology of dengue in Nepal: History of incidence, current prevalence and strategies for future control. *CQUniversity. Journal contribution*.

Tavares, M.; Da Silva, M.R.M.; De Siqueira, L.B. de O.; Rodrigues, R.A.S.; Bodjolle-D'Almeira, L.; Dos Santos, E.P.; Ricci Júnior, E. 2018. Trends in insect repellent formulations: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 539:190–209.

Tauil, P.L. 2010. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 44:555–558.

- Terra, M.R.; Da Silva, R.S.; Pereira, M.G.N.; Lima, A.F. 2017. *Aedes aegypti* e as arboviroses emergentes no Brasil. *Revista UNINGÁ Review*, 30:52-60.
- Tisgratog, R.; Kongmee, M.; Sanguanpong, U.; Prabaripai, A.; Bangs, M.J.; Chareonviriyaphap, T. 2016. Avaliação de um sistema de ensaio repelente de mosquito alternativo sem contato. *Jornal da Associação Americana de Controle de Mosquitos*, 32:177-184.
- Thurmon, F.M.; Ottenstein, B. 1952. Studies on the chemistry of human perspiration with especial reference to its lactic acid content. *Journal of Investigative Dermatology*, 18:333-339.
- Vairo, F.; Haider, N.; Kock, R.; Ntoumi, F.; Ippolito, G.; Zumla, A. 2019. Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention. *Infect Diseases Clinical North America*, 33:1003-1025.
- Valle, D.; Belinato, T.A.; Martins, A.D.J. 2015. Controle Químico de *Aedes aegypti*, Resistencia, Inseticidas e Alternativas. *Dengue: Teorias e práticas*. Editado por: Valle D.; Pimenta D.N.; Cunha R.V. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 93-126.
- Vasconcelos, P.F.C. 2003. Febre amarela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36:275–293.
- Vasconcelos, P.F.C. 2015. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? *SCIELO Brazil*.
- Venkatesh, P.M.; Sen, A. 2017. Laboratory Evaluation of Synthetic Blends of L- (+) - Lactic Acid, Ammonia, and Ketones as Potential Attractants for *Aedes aegypti*. *Journal the of American Mosquito Control Association*, 33:301-308.
- Weaver, S.C.; Charlier, C.; Vasilakis, N.; Lecuit, M. 2018. Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. *Annual Review of Medicine*, 69:395-408.
- WHO- World Health Organization. 2009. *Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skin*, Nº OMS/HTM/NTD/WHOPES/2009.4.
- Wong, S.S.Y.; Poon, R.W.S.; Wong, S.C.Y. 2016. Zika virus infection-the next wave after dengue? *Journal of the Formosan Medical Association*, 115:226–242.

Wylie, B.J.; Hauptman, M; Wood, A.N.D.; Goldman, R.H. 2016. Insect Repellents During Pregnancy in the Era of Zika Vírus. *Obstetrics e Gynecology*, 128:1111-1115.

Xu, P.; Zhu, F.; Buss, G.K.; Leal, W.S. 2015. 1-Octen-3-ol - the attractant that repels. *National Center for Biotechnology Information*,18:156.

Yun, S.I.; Lee, Y.M. 2017. Zika virus: An emerging flavivirus. *Journal of Microbiology*, 55:204-219.

Zara, A.L. de S.A.; Santos, S.M.; Fernandes-Oliveira, E.S.; Carvalho, R.G.; Coelho, G.E. 2016. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e serviços de saúde: Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil*, 25:391–404.

8. ANEXOS

8.1 Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa:

Desenvolvimento de novo repelente para mosquitos vetores de doenças humanas

Pesquisador: ROSEMARY A. ROQUE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57044622.9.0000.0006

Instituição Proponente:

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA/MCT/PR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.372.074

Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda ao projeto “**Desenvolvimento de novo repelente para mosquitos vetores de doenças humanas**” tem como responsável principal a pesquisadora Dra. Rosemary A. Roque, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. O estudo apresenta referencial teórico sobre repelentes, bem como sobre a epidemiologia da Dengue no Brasil, o mosquito (vetor) *Aedes aegypti*, responsável também pela transmissão Febre amarela urbana, Chikungunya e Zika. A próxima etapa deste estudo, consistirá na validação de resultados prévios obtidos. Os participantes da pesquisa posicionarão os dois antebraços (em um antebraço será aplicado o repelente teste, enquanto o outro receberá um repelente comercial) no interior de gaiolas contendo fêmeas de *A. aegypti* não infectadas, obtidas da colônia mantida no Laboratório de Malária e Dengue do INPA, as quais estão isentas dos vírus da Dengue, Chikungunya e Zika. O ensaio de validação segue as diretrizes da

Organização Mundial da Saúde (WHO 2009 - Guidelines for Efficacy Testing of Mosquito Repellents for Human Skin). A segurança do participante estará assegurada, uma vez que a referida diretriz “prevê a interrupção do teste quando houver “falha do teste” caracterizada como 2 ou mais mosquitos pousando na mão por até 5 segundos consecutivos ou se houver evidência de comportamento de sondagem para alimentação no mesmo intervalo de tempo (5 segundos), assim o teste será interrompido, garantindo a segurança do participante e reduzindo o risco de picadas.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo primário visa “Avaliar a atividade repelente de formulados a base de ácido láctico contra fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)”.

Os objetivos secundários são:

- (a) comparar a atividade de repelência de derivados de ácido láctico e do repelente comercial a base de DEET sobre as fêmeas de *A. aegypti*;
- (b) mensurar a porcentagem de proteção conferida pelos derivados de ácido láctico avaliados;
- (c) determinar o tempo de reaplicação dos derivados de ácido láctico analisados;
- (d) comparar o percentual de proteção dos derivados de ácido láctico entre os voluntários.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos envolvidos na pesquisa consistem na exposição das mãos dos participantes dentro de duas gaiolas contendo trinta fêmeas do mosquito *A. aegypti* durante o tempo do teste que terá até 3 minutos. No entanto, os insetos que serão utilizados neste estudo, são provenientes de colônia mantidas no Laboratório de Malária e Dengue do INPA, desde o ano de 2017, isentos dos vírus Dengue, Chikungunya e Zika. Para minimizar os riscos e/ou desconforto causado aos participantes, eles terão as mãos (tratamento e controle) expostas nas gaiolas, de acordo com as diretrizes, normas de segurança e exigências da Guidelines For Efficacy Testing of Mosquito Repellents For Human Skin (WHO 2009). Além disso, será oferecido ao participante assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa.

Benefícios: Aos participantes desta pesquisa, não será oferecido nenhum benefício direto, no momento de sua realização. Porém, os resultados contribuirão para o conhecimento sobre a resposta das fêmeas de *A. aegypti* a um método alternativo que visa minimizar o risco de transmissão de doenças. O uso de repelente pode impedir que o mosquito infectado transmita potenciais patógenos ao homem sadio durante o repasto sanguíneo, bem como evitará a contaminação do vetor quando ele realizar o repasto em um homem doente (viremia). Este estudo também possibilitará determinar o tempo de proteção conferida pelos repelentes a base de ácido láctico, bem como determinar o período de reaplicação, além de verificar se o percentual de proteção é variável entre os voluntários avaliados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta metodologia em concordância com os objetivos propostos, com critérios de inclusão e exclusão, cronograma exequível e encontra-se de acordo com a resolução 466/12 do CNS/MS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos foram apresentados pelo pesquisador responsável:

1. Folha de rosto com anuência da instituição proponente;
2. Protocolo básico;
3. Projeto completo;
4. Orçamento;
5. Cronograma;
6. Declaração de compromisso do pesquisador responsável;
7. Declaração de infraestrutura;
8. Termo de garantia de retorno de benefícios aos participantes da pesquisa;
9. Termo de garantia de ressarcimento aos participantes da pesquisa;
10. Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD);
11. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
12. Diretrizes “Guidelines for Efficacy Testing of Mosquito Repellents for Human Skin (WHO, 2009)”.

Recomendações:

Sem recomendações adicionais.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O referido protocolo de pesquisa encontra-se em consonância com a Resolução nº. 466, de 12 de dezembro de 2012.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_2139609_E1.pdf	19/05/2023 11:16:25	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_brochura_atualizado.pdf	19/05/2023 11:05:07	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Cronograma	Cronograma_de_atividades_atualizado.pdf	19/05/2023 10:58:22	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE_atualizado.pdf	19/05/2023 10:55:30	ROSEMARY A ROQUE	Aceito

Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.pdf	19/05/2023 10:55:30	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Outros	WHO_teste_repelencia_gui.pdf	19/05/2023 10:36:27	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Outros	Termo_de_garantia_de_Retorno_e_Beneficios_aos_Participantes.pdf	21/03/2022 18:18:42	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Outros	Termo_de_garantia_de_ressarcimento_aos_participantes.pdf	21/03/2022 18:18:14	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_Compromisso_do_Pesquisador.pdf	21/03/2022 18:15:07	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Outros	Termo_De_Compromisso_Para_Utilizacao_De_Dados_E_Prontuarios.pdf	21/03/2022 18:03:16	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_de_Infraestrutura.pdf	21/03/2022 17:49:52	ROSEMARY A ROQUE	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_CEP_Rosemary_Roque.pdf	21/03/2022 17:45:20	ROSEMARY A ROQUE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Manaus, 30 de maio de 2023.

Assinado por:

**Rogério Souza de Jesus
(Coordenador)**

8.2 Termo de Consentimento Livre Esclarecido

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO – TCLE

Eu, ROSEMARY APARECIDA ROQUE, venho me apresentar ao(s) senhor(es), como responsável pelo desenvolvimento do projeto de pesquisa que tem como título “**Desenvolvimento de novo repelente para mosquitos vetores de doenças humanas**” e pedir a sua participação no referido projeto. Vamos lhe apresentar a pesquisa.

Justificativa: Esta pesquisa se faz necessária em função da necessidade de se conhecer a atividade de um repelente feito de oito formulados a base de ácido láctico. O repelente tem como principal papel evitar o contato homem e vetor, afastando o inseto que estando contaminado faria a transmissão do vírus causador da Dengue, Chikungunya e Zika. A contaminação do vetor, ocorre durante a alimentação sanguínea em homem doente. Este mosquito, após um período transmitirá o vírus para outras pessoas saudas. Portanto, o uso do repelente irá impedir a transmissão dos vírus para o homem, bem como impedir a contaminação do mosquito.

Objetivo geral: Avaliar a atividade de repelência de oito derivados a base de octenol e ácido láctico contra fêmeas do mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae).

Metodologia da pesquisa: Para a realização dos testes foram utilizadas duas gaiolas de alumínio medindo 30 cm X 30 cm X 30 cm contendo trinta fêmeas do mosquito *A. aegypti*, em idade cronológica de 3 – 9 dias, copuladas e sem ter realizado repasto sanguíneo, ou seja, as fêmeas não estarão infectadas com o vírus da Dengue, Chikungunya e Zika. Os testes serão realizados no período diurno, respeitando a preferência para a atividade de hematofagia das fêmeas do mosquito *A. aegypti*. O tempo de duração de cada réplica dos testes será de três minutos e sendo registrado com o auxílio de um cronômetro digital. No final de cada teste, será registrado o número de pousos observado na mão direita que contém repelente comercial (controle) e na mão esquerda que contém o derivado a base de octenol ou ácido láctico (teste) de cada voluntário. Os testes iniciarão com as mãos do voluntário

sendo primeiramente higienizadas com detergente neutro e água corrente, em seguida secas com papel toalha.

Posteriormente, será realizado um teste negativo onde em ambas mãos não será aplicado nenhum derivado ou repelente. As mãos após higienização serão posicionadas na lateral de cada gaiola (controle e teste), no entanto, sem encostar, mantendo uma distância de cerca de três centímetro da lateral da gaiola. Esse teste se faz necessário para observar a atividade das fêmeas do mosquito *A. aegypti*. Após isso, a mão direita do voluntário (controle), será aplicado o repelente comercial a base de DEET, sendo aplicado 1g por toda sua área, essa quantidade será medida utilizando-se uma balança de precisão e uma colher dosadora de plástico. A mão esquerda (teste) será tratada com 1 mL da solução do derivado a ser testado e com o auxílio de uma pipeta que conterá 100 µl do derivado a base de octenol ou ácido láctico diluído em 900 µl de Etanol PA. Após esse procedimento, a mão direita (controle/repelente comercial), fechada será introduzida na gaiola para realização dos testes que terá a duração de 3 minutos.

O voluntário permanecerá sentado, ou seja, em posição de descanso, e com a mão esquerda (tratada/repelente a base de octenol ou ácido láctico) ao lado do corpo. Logo que finalizar o experimento (três minutos), a mão direita (controle) será retirada e colocada em descanso ao lado do corpo e a mão esquerda (teste) será introduzida em outra gaiola durante três minutos. Com a finalização da primeira réplica, haverá um intervalo de 60 minutos, para que as duas gaiolas utilizadas no experimento sejam higienizadas com detergente neutro e pano úmido. As fêmeas utilizadas em cada réplica e serão descartadas, e um novo grupo de trinta fêmeas de *A. aegypti* será utilizado para as réplicas seguintes. Objetivando-se determinar a atividade repelente, o tempo de reaplicação e comparando os com o controle do estudo e entre todos os voluntários avaliados.

Informar com exatidão a qual grupo de pesquisa o participante fará parte (Grupo Controle ou Experimental, quando aplicável). Cada participante participará dos dois grupos experimentais, sendo a mão esquerda avaliada na gaiola teste e a mão direita na gaiola controle.

Explicitar sobre o depósito da amostra biológica obtida ou dados obtidos:

Neste estudo não serão obtidas nenhum tipo de amostras biológicas de nenhum dos voluntários, sendo os participantes identificados por meio de códigos.

Explicitar os possíveis desconfortos e riscos decorrentes da pesquisa:

Os riscos envolvidos na pesquisa para a saúde do homem consistem na exposição dos membros superiores (mãos) dos voluntários próximos de duas gaiolas contendo trinta fêmeas do mosquito *A. aegypti* em cada uma delas. No entanto, os insetos que serão utilizados neste estudo, são provenientes de colônia mantidas no Laboratório de Malária e Dengue do INPA, desde o ano de 2017, portanto, não estão contaminados, ou seja, estão isentos dos vírus Dengue, Chikungunya e Zika. Todavia, tratamento gratuito será oferecido em caso de diagnóstico positivo. Além disso, será oferecido ao participante assistência integral e imediata, de forma gratuita.

Apresentar as providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas que possam causar dano, considerando características e contexto do participante da pesquisa:

Será indagado a todos os participantes se o mesmo possui alergia a picada de insetos, se está com sintomas gripais sugestivos de contaminação por COVID-19 ou se tratando de voluntária do sexo feminino, se a mesma esta grávida. No dia de realização do bioensaio será feito um teste em uma pequena área do antebraço do voluntário para verificar se o mesmo apresenta alguma alergia aos componentes dos formulados. Se o participante apresentar alguma reação alérgica, o repelente será removido primeiramente por lavagem com água/detergente neutro, em seguida será aplicado pomada anti-histamínica no local e o mesmo será retirado do estudo. Os voluntários que apresentarem, no dia de realização do bioensaio, qualquer sintoma(s) semelhante(s) ao(s) provocado(s) pela infecção pela Dengue, Chikungunya e Zika serão retirados do estudo.

Explicitar os possíveis benefícios esperados da participação na pesquisa:

Os formulados que serão avaliadas neste estudo, são à base de octenol e ácido láctico, substância presente no corpo humano. Os formulados quando aplicados na pele, bloqueiam temporariamente os receptores (antenas e nos palpos maxilares dos mosquitos), impedindo que a fêmea use sinais químicos exaladas pelo hospedeiro para se alimentar de sangue humano. Outro benefício importante é o fato dos derivados serem de substâncias (octeno/ácido láctico) já empregadas pelas fêmeas dos mosquitos para a localização de hospedeiros, e, com isso, as fêmeas terão maior dificuldade de desenvolver mecanismos de redução da eficiência desses derivados.

Os resultados obtidos, nesta pesquisa, não oferecerão nenhum benefício

direto ao participante, no momento de sua realização. Porém, irão contribuir para o conhecimento sobre a resposta das fêmeas de *A. aegypti* a um método alternativo que visa minimizar o risco de transmissão da doença, uma vez que o uso de repelente impede o contato homem vetor. Também será possível determinar o tempo de proteção conferida pelo produto, bem como determinar o período de reaplicação do mesmo.

Esclarecer sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa, inclusive considerando benefícios e acompanhamentos posteriores ao encerramento e/ou a interrupção da pesquisa (Se essa situação se aplica):

O participante, deste estudo, não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. No entanto, caso sejam identificados danos provenientes desta pesquisa, o mesmo terá assegurado o direito à indenização. Será oferecido ao participante assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário, em caso de danos decorrentes da pesquisa.

Explicitar garantia de plena liberdade ao participante da pesquisa, de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma:

O participante terá esclarecimentos sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar em qualquer momento e sem quaisquer prejuízos, valendo a desistência a partir da data de assinatura deste termo. A participação é voluntária, e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o participante será atendido pelo pesquisador, que tratará a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados obtidos pela pesquisa estarão à disposição dos participantes quando a mesma for finalizada.

Explicitar garantia de manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa:

O nome ou o material que indique a participação não será disponibilizado sem a permissão do participante. Os pesquisadores tratarão a identidade dos participantes com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e

científicos. Os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre.

Explicitar garantia de que o participante da pesquisa receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais que deverá ser rubricada em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, assim como pelo pesquisador responsável. Uma das vias será arquivada pelo pesquisador responsável, no Laboratório de Malária e Dengue - LMD (Prédio 102), Campus I do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA e a outra será fornecida ao participante. Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos no LMD Prédio 102 do INPA e após esse tempo serão destruídos.

Explicitar sobre a garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa:

Caso sejam identificados danos provenientes desta pesquisa, o participante terá assegurado o direito à indenização, conforme decisão judicial ou extra judicial. Também será oferecido ao participante assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário, em caso de eventuais danos decorrentes da pesquisa. O tratamento contra Dengue, Chikungunya e Zika, será realizado gratuitamente pelo SUS, nos postos de saúde onde o participante for diagnosticado.

O Laboratório de Malária e Dengue do INPA será responsável pelo ressarcimento e indenização, neste caso, conforme esta prevista na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, uma vez que é a instituição proponente.

Explicitar sobre a garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes:

Para participar deste estudo o participante não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. No entanto, todas as suas despesas referentes à participação no projeto, como transporte e alimentação, serão ressarcidas pelo pesquisador responsável pelo projeto.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá, ainda:

a) conter declaração do pesquisador responsável que expresse o cumprimento das exigências contidas nos itens apresentados.

b) ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada (s), devendo as páginas de assinaturas estarem na mesma folha. Em ambas as vias deverão constar o endereço e contato (email e telefônico) dos responsáveis pela pesquisa e do CEP local e da CONEP, quando pertinente.

Os resultados da pesquisa serão analisados e divulgados, porém sua identidade será mantida em sigilo para sempre. Se você quiser saber mais detalhes e os resultados da pesquisa faça contato com o(a) pesquisador(a) pelo telefone (92) 99150-0301- (92) 3643-3364 ou pelo E- mail: rosemary.roque@inpa.gov.br.

O participante da pesquisa também poderá entrar em contato, caso tenha interesse, com o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, situado na sede Av. André Araújo, 2936, Prédio da Diretoria, térreo, Sala-CEP, telefone (92)3643-3287 ou pelo e-mail: cep.inpa@inpa.gov.br.

Consentimento Após-Informação

Eu, _____, por me considerar devidamente informado e esclarecido sobre o conteúdo deste documento e da pesquisa a ser desenvolvida, livremente dou meu consentimento para inclusão como participante da pesquisa e atesto que me foi entregue uma via desse documento.

Assinatura do participante

Pesquisadora Responsável

____/____/____
Data

8.3 Termo de Autorização de Uso de Imagem

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE USO DE IMAGEM

Eu, _____, portadora do CPF nº _____, AUTORIZO o uso de qualquer material entre fotos e vídeos e/ou documentos, a serem utilizados no Projeto intitulado: “**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE DE DERIVADOS DE OCTENOL E ÁCIDO LÁTICO CONTRA FÊMEAS DO MOSQUITO *Aedes (Stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE)**”, a nível Nacional e Internacional por prazo indeterminado pelo Laboratório de Malária e Dengue – LMD do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA.

Assinatura do Voluntário(a)

Manaus, ____ de _____ de _____.