

Saneantes

# Manual de Testes de Eficácia em Produtos Desinfestantes



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa



Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

# **Manual de Testes de Eficácia em Produtos Desinfestantes**

3ª Edição

Brasília-DF  
2009

Copyright © 2009 Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Todos os direitos reservados. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens desta obra é dos autores. A Anvisa, igualmente, não se responsabiliza pelas idéias contidas nesta publicação.

1ª edição

**Diretor-Presidente**

Dirceu Raposo de Mello

**Adjunto de Diretor-Presidente**

Norberto Rech

**Diretores**

Agnelo Santos Queiroz Filho  
Dirceu Aparecido Brás Barbano  
José Agenor Álvares da Silva  
Maria Cecília Martins Brito

**Adjuntos de Diretores**

Rafael Aguiar Barbosa  
Luiz Roberto da Silva Klassmann  
Neilton Araujo de Oliveira  
Luiz Armando Erthal

**Chefe de Gabinete**

Alúdíma Mendes

Elaboração, edição e distribuição:  
AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
SIA Trecho 5, Área Especial 57, Lote 200  
71205-050, Brasília – DF  
Tel.: (61) 3462-6000  
Home page: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)  
E-mail: [editora@anvisa.gov.br](mailto:editora@anvisa.gov.br)

**Assessora-Chefe de Divulgação e Comunicação Institucional**

Martha Nazaré Corrêa

**Gerente-Geral de Saneantes**

Tania Pich

**Grupo de Trabalho designado pela Gerência-Geral de Saneantes**

Alexandre Modesto  
Glaucio Machado  
Jair Rosa Duarte  
João Justí Junior  
Marcio Gava  
Marco Antonio Abla  
Levi Garcia  
João Paulo Gomes  
Verônica M. Horner Hoe  
Ubiracir Fernandes

Agradecimento especial à Dra. Ana Eugênia de Carvalho Campos, pela valiosa contribuição, e ao Dr. Flavio Puga, *in memoriam*.

---

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.  
Manual de Testes de Eficácia em Produtos Desinfestantes / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília:  
Anvisa, 2009.  
50 p.  
ISBN 978-85-88233-38-6  
1. Vigilância Sanitária. 2. Saúde Pública. I. Título.

---

# **Manual de Testes de Eficácia em Produtos Desinfestantes**



# SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....  | 7  |
| 2. TESTE DE EFICÁCIA PARA ISCAS BARATICIDAS .....  | 11 |
| 3. TESTE DE EFICÁCIA PARA REPELENTES SOBRE MOSQUITOS .....                                       | 13 |
| 4. TESTE DE EFICÁCIA EM AEROSSÓIS FRENTE A INSETOS RASTEIROS .....                               | 17 |
| 5. TESTE DE EFICÁCIA EM AEROSSÓIS FRENTE A INSETOS VOADORES.....                                 | 21 |
| 6. TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS DE CONTATO EM SUPERFÍCIES.....                               | 23 |
| 7. TESTE DE EFICÁCIA EM RODENTICIDAS SOB A FORMA DE ISCAS .....                                  | 27 |
| 8. TESTE DE EFICÁCIA EM RODENTICIDAS SOB A FORMA DE<br>PÓS DE CONTATO .....                      | 31 |
| 9. TESTE DE POTÊNCIA EM PRODUTOS LARVICIDAS BIOLÓGICOS .....                                     | 33 |
| 10. TESTE DE EFICÁCIA EM PRODUTOS LARVICIDAS BIOLÓGICOS.....                                     | 37 |
| 11. TESTE DE EFICÁCIA CURATIVO PARA CUPINS DE MADEIRA SECA.....                                  | 39 |
| 12. TESTE DE EFICÁCIA PREVENTIVO / RESIDUAL PARA CUPINS<br>DE MADEIRA SECA .....                 | 41 |
| 13. TESTE DE EFICÁCIA FRENTE A CUPINS SUBTERRÂNEOS .....   | 43 |
| 14. TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS FRENTE A PULGÕES .....                                      | 45 |
| 15. TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS FRENTE A COCHONILHAS .....                                  | 47 |
| 16. TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS SOB A FORMA DE ISCAS<br>FRENTE A FORMIGAS CORTADEIRAS ..... | 49 |



## Capítulo 1

# INTRODUÇÃO

Seguindo a filosofia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) – salvar a saúde da população mediante o controle dos produtos e serviços sujeitos à vigilância sanitária e garantir que os mesmos sejam adequados aos fins propostos – é que este trabalho foi desenvolvido, em conjunto com representantes do setor regulado, comunidade científica e laboratórios habilitados pela Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (Reblas), com o objetivo de preencher uma lacuna existente no país e no mundo: protocolos padronizados para avaliação da eficácia de produtos desinfestantes.

Se a segurança dos produtos advém do conhecimento de suas características toxicológicas, a comprovação da adequação para os fins propostos é feita por meio dos testes de eficácia.

São considerados produtos desinfestantes aqueles cuja venda é feita diretamente ao consumidor ou a empresas especializadas e que se destinam à aplicação em domicílios e suas áreas comuns, no interior de instalações, em edifícios públicos ou coletivo e seus ambientes afins, para o controle de insetos, roedores e outros vetores incômodos ou nocivos à saúde; incluem-se entre esses produtos, ainda, aqueles de venda livre para aplicação em jardins residenciais e plantas ornamentais (cultivadas sem fins lucrativos), a fim de controlar pragas e doenças, bem como aqueles destinados à revitalização e embelezamento das plantas.

A evolução da regulamentação sanitária para os produtos desinfestantes culminou, em 1997, com a publicação das Portarias nº 321 e 322 (a primeira delas revogada pela Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 326, de 7 de dezembro de 2005), que passaram a ser as principais ferramentas para a concessão do registro e suas alterações para esse tipo de produto. Tais atribuições são competência da Gerência-Geral de Saneantes (GGSAN) da Anvisa.

Os testes de eficácia são definidos como aqueles executados em laboratório ou em campo, em condições padronizadas, com o fim de comprovar a capacidade dos produtos para o controle de pragas urbanas e de jardim.

Até o momento da publicação da primeira revisão deste manual, o Brasil não possuía protocolos para testar estas categorias de produtos nem parâmetros para estabelecer variações dos resultados dos testes de um laboratório para outro, dificultando, assim, o estabelecimento de critérios para aceitação dos mesmos de acordo com as finalidades apregoadas para estes produtos.

A padronização envolve o estabelecimento de variáveis críticas para um dado teste, como por exemplo:

- ✓ número de espécimes por teste.
- ✓ número de repetições.
- ✓ forma física dos produtos.



- ✓ adoção de um produto padrão para verificar a suscetibilidade/resistência da população exposta ao teste.
- ✓ local e data de aplicação.
- ✓ dose e modo de aplicação.
- ✓ modo de criação das pragas.
- ✓ espécies representativas para a realização dos testes, dentre outros.

As pragas mais representativas do ponto de vista de saúde pública, no momento da execução deste trabalho, constam em cada um dos protocolos a seguir.

Isto não quer dizer que os produtos devam apresentar eficácia apenas frente a elas, ficando a critério dos fabricantes a apresentação de testes comprobatórios complementares, no momento da regularização do produto, executados através de metodologias validadas e reconhecidas oficialmente.

Nas tabelas 1 e 2 constam algumas pragas intra e peridomiciliares mais significativas do ponto de vista de ocorrência.

**TABELA 1: PRAGAS URBANAS (INTRA E PERIDOMICILIARES)**

| ESPÉCIE    | NOME CIENTÍFICO  | NOME COMUM                  |
|------------|--|-----------------------------|
| Ácaro      | <i>Dermatophagoides farinae</i>                            | Ácaro doméstico             |
|            | <i>Tyrophagus putrescentiae</i>                            |                             |
|            | <i>Chelacaropsis moorei</i>                                |                             |
| Aranha     | <i>Nesticoides rufipes</i>                                 | Aranha doméstica            |
|            | <i>Loxoscelis spp</i>                                      |                             |
| Barata     | <i>Blattella germanica</i>                                 | Barata francesinha ou alemã |
|            | <i>Periplaneta americana</i>                               | Barata de esgoto            |
| Broca      | <i>Lyctus spp &amp; Anobiun spp</i>                        | Broca de madeira seca       |
| Barbeiro   | <i>Triatoma spp, Rhodnius spp e Panstrongylus megistus</i> | Barbeiro                    |
| Borrachudo | <i>Simulium pertinax</i>                                   | Borrachudo                  |
| Carrapato  | <i>Rhipicephalus sanguineus</i>                            | Carrapato dos cães          |
|            | <i>Boophilus micropulus</i>                                | Carrapato bovino            |

| ESPÉCIE   | NOME CIENTÍFICO                             | NOME COMUM                         |
|-----------|---|------------------------------------|
| Cupim     | <i>Coptotermes gestroi</i>                  | Cupim de solo                      |
|           | <i>Cryptotermes spp</i>                     | Cupim de madeira seca              |
|           | <i>Nasutitermes spp</i>                     | Cupim de solo                      |
| Escorpião | <i>Tityus serrulatus</i>                    | Escorpião amarelo                  |
|           | <i>T. Bahiensis</i>                         | Escorpião marrom                   |
| Formiga   | <i>Monomorium pharaonis &amp; florícola</i> | Formiga faraó                      |
|           | <i>Solenopsis seivissima &amp; invicta</i>  | Formiga lavapé                     |
|           | <i>Camponotus spp</i>                       | Formiga carpinteira                |
|           | <i>Linepithema humile</i>                   | Formiga argentina                  |
|           | <i>Tapinoma melanocephalum</i>              | Formiga fantasma                   |
| Moscas    | <i>Musca domestica</i>                      | Mosca                              |
| Mosquito  | <i>Culex quinquefasciatus</i>               | Mosquito/pernilongo comum          |
|           | <i>Aedes aegypti e A.albopictus</i>         | Mosquito da dengue e febre amarela |
|           | <i>Anopheles spp</i>                        | Mosquito da malária                |
| Pulga     | <i>Ctenocephalides felis felis</i>          | Pulga dos gatos                    |
|           | <i>Ctenocephalides canis</i>                | Pulga dos cães                     |
| Roedores  | <i>Mus musculus</i>                         | Camundongo                         |
|           | <i>Rattus rattus</i>                        | Rato de telhado                    |
|           | <i>Rattus norvegicus</i>                    | Rato de esgoto (ratazana)          |
| Traça     | <i>Tinea pellionella &amp; bisselliella</i> | Traça de parede (casulo)           |
|           | <i>Lepisma saccharina</i>                   | Traça dos livros                   |

**TABELA 2: PRAGAS DE JARDIM**

| ESPÉCIE            | NOME CIENTÍFICO  | NOME COMUM                     |
|--------------------|--|--------------------------------|
| Ácaro              | <i>Tetranychus urticae</i>                             | Ácaro rajado                   |
|                    | <i>Polyphagotarsonemus latus</i>                       | Ácaro branco                   |
| Besouro            | <i>Diabrotica spp</i>                                  |                                |
|                    | <i>Costalimaita spp</i>                                |                                |
| Caracol            | <i>Achatina fulica</i> e <i>Biomphalaria spp,</i>      | Caramujo-gigante-africano      |
|                    | <i>Australorbis spp, Helix aspersa,</i>                | (espécie exótica) e caracóis   |
|                    | <i>Bradyboena similis, Bulimulus spp</i>               | (espécies Brasil)              |
|                    | <i>Stenogyra spp</i>                                   |                                |
| Cochonilha         | <i>Planococcus spp</i> e <i>Orthezia</i>               | Cochonilha                     |
| Formiga cortadeira | <i>Acromyrmex spp</i>                                  | Formiga-quenquém               |
|                    | <i>Atta spp</i>  | Saúva                          |
| Gafanhoto          | <i>Schistocerca spp</i> e <i>Rhammatocerus spp</i>     | Gafanhoto                      |
| Lagarta            | <i>Brassolis spp</i>                                   | Lagarta das palmeiras          |
| Lesma              | <i>Limax spp, Phyllocaulis spp</i>                     | Lesmas terrestres              |
|                    | <i>Strompheichelus oblongus, Sarasinula</i>            |                                |
|                    | <i>langsдорffii</i> e <i>Sarasinula linguaeformis,</i> |                                |
|                    | <i>Veronicellidae (família)</i>                        |                                |
| Mosca das frutas   | <i>Anastrepha spp, Ceratitis spp</i>                   | Mosca das frutas               |
| Percevejo          | <i>Nezara viridula</i> e <i>Leptoglossus spp</i>       | Percevejo verde (maria fedida) |
|                    |  | Percevejo-do-maracujá          |
| Pulgão             | <i>Aphis spp</i>                                       | Pulgão                         |
| Tripos             | <i>Frankliniella spp</i>                               | Tripos                         |

## Capítulo 2

# TESTE DE EFICÁCIA PARA ISCAS BARATICIDAS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de baraticidas sob a forma de isca.

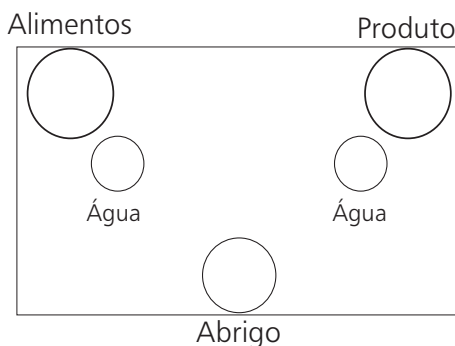
## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3s.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Arena de superfície lisa, não porosa, inerte, com dimensões de 1m x 1m x 10cm de altura, com o abrigo colocado em uma extremidade e a isca e a dieta em placa de Petri colocadas na outra extremidade, com água, de acordo com a Figura 1:

FIGURA 1



- 3.2. Ração para cachorros adultos.

- 3.3. Sistema-teste:
- 3.3.1. *Blatella germanica*, adultas, 3 a 4 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas em jejum por, no mínimo, 48 horas antes do estudo.
  - 3.3.2. *Blatella germanica*, ninfas de 3º e ou 4º instares, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas em jejum por, no mínimo, 48 horas antes do estudo.
  - 3.3.3. *Periplaneta americana*, adultas, 6 a 8 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas em jejum por no mínimo 12 horas antes do estudo.
- 3.4. Termohigrômetro.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
- 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento com a substância teste e um controle.
    - 4.1.2. Número de indivíduos por repetição:
      - 4.1.2.1. *Periplaneta americana* adultas, 50% machos e 50% fêmeas: 10 (dez);
      - 4.1.2.2. *Blatella germanica*, sendo 50% machos e 50% fêmeas: 20 (vinte);
      - 4.1.2.3. Ninfas de *Blatella germanica*, de 3º e ou 4º instares: 20 (vinte).
- 4.2. Específico
- 4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C, e a umidade relativa entre 50 e 70%.
  - 4.2.2. Inserir no interior da arena a substância-teste, na dose recomendada pelo fabricante, e a ração, conforme demonstrado na Figura 1.
  - 4.2.3. Introduzir a espécie do sistema-teste, separadamente, próximo ao abrigo.
  - 4.2.4. Realizar leituras de mortalidade em até 72 horas, ou de acordo com a recomendação do fabricante.

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o valor médio da mortalidade, calculado pela fórmula de Abbot, for de  $90 \pm 10\%$  em até 72 horas ou no tempo estabelecido pelo fabricante.

## Capítulo 3

# TESTE DE EFICÁCIA PARA REPELENTES SOBRE MOSQUITOS

## 1. OBJETIVO

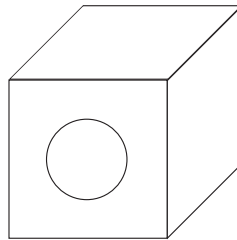
Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de produtos repelentes, sob a forma de espirais e volatilizantes líquidos e em pastilhas, com ou sem efeito *knockdown*.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. *Knockdown*: posição em que o inseto se encontra, sob efeito do produto aplicado, tombado sobre a superfície.
- 2.2. KT50: tempo que 50% da população dos insetos testados leva para ser afetada pela substância-teste.
- 2.3. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.4. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Câmara de teste com volume de 5,8 m<sup>3</sup> (Peet-Grady), sem fluxo forçado de ar.
- 3.2. Câmara – teste em vidro de espessura mínima de 0,5 cm, com dimensões de 70 x 70 x 70 cm.



- 3.3. Termohigrômetro.
- 3.4. Balança analítica ou semi-analítica.
- 3.5. Ventilador a pilha.
- 3.5. Recipiente plástico (diâmetro de 9,5 cm e altura de 4,5 cm).



- 3.6. Detergente alcalino.
- 3.7. Solução de acetona: 10% v/v (volume por volume) de acetona em álcool etílico.
- 3.8. Sistema-teste:
  - 3.8.1. *Aedes spp*, adultos com idade entre 3 e 5 dias, criados em biotério com temperatura e umidades controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente).
  - 3.8.2. *Culex quinquefasciatus*, adultos com idade entre 2 e 3 dias, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por no mínimo 12 horas antes do estudo.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições para o tratamento com a substância teste e um controle por espécie.
    - 4.1.1.2. Número de indivíduos/espécies por repetição: mosquitos – 50 (cinqüenta) fêmeas.
  - 4.1.2. A câmara deve ser limpa, entre cada teste, com detergente alcalino, seguido de enxágüe com água e exaustão.
  - 4.1.3. Deverá ser realizada uma validação, antes de conduzir o primeiro teste do dia, através de um teste em branco para verificar a ocorrência de *knockdown* dos insetos testados na câmara. Este ensaio, realizado com 20 indivíduos fêmeas, não pode apresentar um valor de *knockdown* superior a 5% da população testada. A observação deverá ser feita após 20 minutos, contados a partir da soltura.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Volatilizantes (líquidos que não necessitam de aquecimento)
    - 4.2.1.1. Utilizar a câmara de Peet-Grady para execução do teste.
    - 4.2.1.2. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C e a umidade relativa entre 50 e 70%.
    - 4.2.1.3. Coletar os insetos num recipiente plástico coberto com tela no mínimo 12 horas antes da condução do teste.
    - 4.2.1.4. Aplicar o produto no piso da câmara, na dose indicada pelo fabricante,
    - 4.2.1.5. Soltar os insetos na câmara e iniciar a contagem de tempo para o cálculo do *knockdown*.
    - 4.2.1.6. Medir o número de insetos em *knockdown* nos tempos de 0; 4; 8 e 11,5 horas e, em cada um destes, o *knockdown* nos tempos de 40s; 1min; 1min30s; 2min; 3min; 5min; 10min; 15min e 20min.
    - 4.2.1.7. Após 15 minutos da última leitura do *knockdown*, acionar o sistema de exaustão no interior da câmara.
    - 4.2.1.8. Medir e registrar a temperatura do aparelho.

- 4.2.1.9. Limpar a câmara com solução de acetona.
- 4.2.2. Volatilizantes (pastilhas e líquidos que necessitam aquecimento)
  - 4.2.2.1. Utilizar a câmara de Peet-Grady para execução do teste.
  - 4.2.2.2. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C e a umidade relativa entre 50 e 70%.
  - 4.2.2.3. Coletar os insetos num recipiente plástico coberto com tela no mínimo 12 horas antes da condução do teste.
  - 4.2.2.4. Registrar a voltagem e a temperatura do aparelho a ser usado no teste.
  - 4.2.2.5. Ligar o aparelho na tomada, sem o produto e fora da câmara.
  - 4.2.2.6. Manter ligado por 45 minutos para pré-aquecimento.
  - 4.2.2.7. Após este período, transferir o aparelho para o interior da câmara, colocar o produto e manter o conjunto ligado pelo período de 5 minutos para pastilhas e 40 minutos para líquidos, sendo estes apenas para contagem do tempo zero do ciclo.
  - 4.2.2.8. Soltar os insetos na câmara e iniciar a contagem de tempo para o cálculo do *knockdown*.
  - 4.2.2.9. Medir o número de insetos em *knockdown* nos tempos de 0; 4; 8 e 11,5 horas e, em cada um destes, o *knockdown* nos tempos de 40s; 1min; 1min30s; 2min; 3min; 5min; 10min; 15min e 20min.
  - 4.2.2.10. Após 15 minutos da última leitura do *knockdown*, acionar o sistema de exaustão no interior da câmara.
  - 4.2.2.11. Medir e registrar a temperatura do aparelho.
  - 4.2.2.12. Limpar a câmara com solução de acetona.
- 4.2.3. Espirais
  - 4.2.3.1. Utilizar a câmara de teste em vidro (item 3.2.) para execução do teste.
  - 4.2.3.2. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C, e a umidade relativa entre 50 e 70 %.
  - 4.2.3.3. Coletar os insetos num recipiente plástico coberto com tela.
  - 4.2.3.4. Pesar 0,5g da espiral, introduzi-la no suporte no interior da câmara e acender as duas extremidades, simultaneamente.
  - 4.2.3.5. Ligar o ventilador.
  - 4.2.3.6. Manter o produto na câmara até sua queima completa.
  - 4.2.3.7. Abrir a câmara de teste, desligar o ventilador e soltar os insetos no interior da mesma.
  - 4.2.3.8. Registrar o número de insetos em *knockdown* nos tempos de 40s; 1min; 1min30s; 2min; 3min; 5min; 10min; 15min e 20min.
  - 4.2.3.9. Ventilar a câmara 15 minutos após a última leitura do *knockdown*.
  - 4.2.3.10. Recolher os mosquitos.

## 5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O KT50 será obtido observando-se a regressão linear por meio do programa Probit.

## 6. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o KT50 for menor que  $25 \pm 5$  minutos, em cada um dos tempos avaliados.

## Capítulo 4

# TESTE DE EFICÁCIA EM AEROSSÓIS FRENTE A INSETOS RASTEIROS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de inseticidas sob a forma de aerossol frente a insetos rasteiros.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente de qualquer apêndice após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. *Knockdown*: posição em que o inseto se encontra, sob efeito do produto aplicado, tombado sobre a superfície.
- 2.3. KT50: tempo que 50% da população dos insetos testados leva para ser afetada pela substância-teste.
- 2.4. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.5. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Balança analítica ou semi-analítica.
- 3.2. Cilindro em aço inoxidável com 20cm de diâmetro e 60cm de altura.
- 3.3. Detergente alcalino.
- 3.4. Dosador automático
- 3.5. Recipiente plástico (diâmetro de 9,5cm e altura de 4,5cm).
- 3.6. Recipiente acrílico.
- 3.7. Sistema-teste:
  - 3.7.1. *Blatella germanica*, adultas, entre 3 e 4 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.7.2. *Periplaneta americana*, adultas, entre 6 e 8 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.

- 3.7.3. Formigas domésticas, adultas, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
- 3.7.4. Pulgas adultas, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
- 3.8. Solução de acetona a 10% v/v (volume por volume) em álcool etílico.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento com a substância-teste.
    - 4.1.1.2. Número/espécie de indivíduos por repetição:
      - 4.1.1.2.1. *Blatella germanica*: 10 (dez);
      - 4.1.1.2.2. *Periplaneta americana*: 10 (dez);
      - 4.1.1.2.3. Formigas: 100 (cem).
      - 4.1.1.2.4. Pulgas: 20 (vinte)
  - 4.1.2. O cilindro deve ser limpo, entre cada teste, com solução de acetona seguido de água e exaustão.
  - 4.1.3. Deverá ser realizada uma validação antes de conduzir o primeiro teste do dia, através de um teste em branco para verificar a ocorrência de *knockdown* nos insetos testados. O *knockdown* da população testada não poderá ultrapassar os seguintes valores:
    - 4.1.3.1. 20% até 10 indivíduos;
    - 4.1.3.2. 10% de 11 a 50 indivíduos;
    - 4.1.3.3. 5% superior a 51 indivíduos.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C e a umidade relativa entre 50 e 70%.
  - 4.2.2. Coletar os insetos num recipiente plástico coberto com tela no mínimo 12 horas antes da condução do teste.
  - 4.2.3. Transferir os insetos no recipiente acrílico com fundo em tela de aço inox para dentro do cilindro de metal.
  - 4.2.4. Após determinar a dosagem do aerossol, aplicar em dose única para cada repetição, conforme o quadro abaixo:

| INSETO              | MASSA DE PRODUTO |
|---------------------|------------------|
| <i>B. germanica</i> | 1.000 ± 50mg     |
| <i>P. americana</i> | 1.000 ± 50mg     |
| Formigas            | 1.000 ± 50mg     |
| Pulgas              | 1.000 ± 50mg     |

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$  em até 72 horas.





## Capítulo 5

# TESTE DE EFICÁCIA EM AEROSSÓIS FRENTE A INSETOS VOADORES

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de inseticidas sob a forma de aerossol frente a insetos voadores.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. *Knockdown*: posição em que o inseto se encontra, sob efeito do produto aplicado, tombado sobre a superfície.
- 2.2. KT50: tempo que 50% da população dos insetos testados leva para ser afetada pela substância-teste.
- 2.3. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente de qualquer apêndice após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.4. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.5. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Balança analítica ou semi-analítica.
- 3.2. Câmara de teste com volume de 5,8m<sup>3</sup> (câmara Peet-Grady/CSMA).
- 3.3. Detergente alcalino.
- 3.4. Dosador automático.
- 3.5. Recipiente plástico (diâmetro de 9,5cm e altura de 4,5cm).
- 3.6. Sistema-teste:
  - 3.6.1. *Musca domestica*, com idade entre 2 e 5 dias, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.6.2. *Aedes spp.*, adultos com idade entre 3 e 5 dias, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.

- 3.6.3. *Culex quinquefasciatus*, adultos com idade entre 3 e 5 dias, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
- 3.7. Solução de acetona a 10% v/v (volume por volume) em álcool etílico.
- 3.8. Termohigrômetro.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento com a substância-teste.
    - 4.1.1.2. Número/espécie de indivíduos por repetição:
      - 4.1.1.2.1. Mosquitos: 50 (cinquenta) fêmeas;
      - 4.1.1.2.2. Moscas: 100 (cem).
  - 4.1.2. A câmara deve ser lavada, entre cada teste, com detergente alcalino, seguido de enxágüe com água. No intervalo de cada aplicação, limpar a câmara com solução de acetona e exaustão.
  - 4.1.3. Deverá ser realizada uma validação antes de conduzir o primeiro teste do dia, realizando-se um teste em branco para verificar a ocorrência de *knockdown* dos insetos testados na câmara. Este ensaio, realizado com 20 indivíduos fêmeas, não pode apresentar um valor de *knockdown* superior a 5% da população testada. A observação deverá ser feita após 20 minutos, contados a partir da soltura.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C e a umidade relativa entre 50 e 70%.
  - 4.2.2. Coletar os insetos num recipiente plástico coberto com tela.
  - 4.2.3. Abrir a câmara de teste e soltar os insetos no interior da mesma.
  - 4.2.4. Aplicar uma dose da substância teste de  $1.000 \pm 50$ mg, em quatro disparos em pontos diametralmente opostos, de modo a simular sua aplicação espacial.
  - 4.2.5. Ventilar a câmara passados 15 minutos.
  - 4.2.6. Retirar os insetos.
  - 4.2.7. Levantar os insetos para o biotério e fornecer-lhes água e alimento.
  - 4.2.8. Registrar a mortalidade em até 72 horas.
  - 4.2.9. Limpar a câmara com detergente alcalino.

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$  em até 72 horas.

## Capítulo 6

# TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS DE CONTATO EM SUPERFÍCIES

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de inseticidas de contato em superfícies.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Efeito residual: produto que apresenta eficácia por um período preestabelecido pelo fabricante.
- 2.2. *Knockdown*: posição em que o inseto se encontra, sob efeito do produto aplicado, tombado sobre a superfície.
- 2.3. KT50: tempo que 50% da população dos insetos testados leva para ser afetada pela substância-teste.
- 2.4. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.5. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.6. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Balança analítica ou semi-analítica.
- 3.2. Dosador automático.
- 3.3. Placas de azulejo 15 x 15 cm.
  - 3.3.1. Caso o produto seja indicado para aplicação em outras superfícies, o teste deverá ser conduzido nas superfícies e dosagens recomendadas pelo fabricante.
- 3.4. Recipiente plástico (diâmetro de 9,5 cm e altura de 4,5 cm).
- 3.5. Sistema-teste:
  - 3.5.1. *Musca domestica*, com idade entre 2 e 5 dias, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.

- 3.5.2. *Aedes spp.*, adultos com idade entre 3 e 5 dias, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.3. *Blatella germanica*, adultas, entre 3 e 4 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.4. *Periplaneta americana*, adultas, entre 6 e 8 meses, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.5. Formigas domésticas adultas, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.6. Pulgas adultas, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.7. Carrapatos adultos, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (28 a 30°C e 80 a 90%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.8. Aranhas adultas, criadas em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectiva mente), alimentadas com dieta específica e aclimatadas por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
  - 3.5.9. Escorpiões adultos, criados em biotério com temperatura e umidade controladas (23 a 27°C e 50 a 70%, respectivamente), alimentados com dieta específica e aclimatados por, no mínimo, 12 horas antes do estudo.
- 3.6. Termohigrômetro.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento com a substância-teste.
    - 4.1.1.2. Número/espécie de indivíduos por repetição:
      - 4.1.1.2.1. Mosquitos fêmeas: 25 (vinte e cinco);
      - 4.1.1.2.2. *Blatella germanica*, 50% machos e 50% fêmeas: 10 (dez);
      - 4.1.1.2.3. *Periplaneta americana*, 50% machos e 50% fêmeas: 10 (dez);
      - 4.1.1.2.4. *Musca domestica*: 25 (vinte e cinco);
      - 4.1.1.2.5. Formigas domésticas: 100 (cem);
      - 4.1.1.2.6. Pulgas: 20 (vinte)
      - 4.1.1.2.7. Carrapatos: 20 (vinte)

4.1.1.2.8. Aranhas: 10 (dez)

4.1.1.2.9. Escorpiões: 10 (dez)

#### 4.2. Específico

4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste entre 23 e 27°C e a umidade relativa entre 50 e 70%, com exceção do carrapato (28 a 30°C e 80 a 90%).

4.2.2. AEROSSÓIS E LÍQUIDOS PARA PRONTO USO: aplicar, no caso de aerossóis, as doses abaixo descritas com auxílio de um dosador automático:

| INSETO                 | MASSA DE PRODUTO |
|------------------------|------------------|
| <i>B. germanica</i>    | 1000 ± 50 mg     |
| <i>P. americana</i>    | 1000 ± 50 mg     |
| <i>Musca domestica</i> | 1000 ± 50 mg     |
| Formigas domésticas    | 1000 ± 50 mg     |
| Mosquitos              | 1000 ± 50 mg     |
| Pulgas                 | 1000 ± 50 mg     |
| Carrapatos             | 1000 ± 50 mg     |
| Aranhas                | 1000 ± 50 mg     |
| Carrapatos             | 1000 ± 50 mg     |

4.2.3. LÍQUIDOS: preparar a calda na concentração indicada pelo fabricante e aplicar o produto.

4.2.4. SÓLIDOS: polvilhar o produto de acordo com a quantidade indicada pelo fabricante.

4.2.5. Armazenar as placas em ambiente com temperatura entre 23 e 27°C e umidade relativa entre 50 e 70%, mantendo ciclos claro/escuro de 12 horas.

4.2.6. Após a secagem natural do produto, retirar as placas para a realização do ensaio para o tempo zero.

4.2.7. Coletar os insetos em recipiente plástico coberto com tela.

4.2.8. Posicionar duas placas, uma com a substância- teste e outra sem.

4.2.9. Colocar o recipiente plástico contendo os insetos sobre a placa sem a substância- teste, posicionando as mesmas numa angulação de 45° para moscas e mosquitos e 0° para os demais.

4.2.10. Deslocar os insetos, após 5 minutos de aclimação, para a placa contendo a substância- teste.

4.2.11. Passados 20 minutos, retirar os insetos, levá-los para o biotério e fornecer água e alimento.

4.2.12. Registrar a mortalidade em até 72 horas.



4.2.13. Manter o tratamento controle (isento da substância-teste), com quatro repetições, para comparar a mortalidade.

4.2.14. Repetir o experimento tantas vezes quantas forem necessárias para comprovação do período de ação (efeito residual) indicado pelo fabricante.

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$  em até 72 horas.

## Capítulo 7

# TESTE DE EFICÁCIA EM RODENTICIDAS SOB A FORMA DE ISCAS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de rodenticidas sob a forma de iscas.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.2. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Balança analítica ou semi-analítica.
- 3.2. Detergente alcalino.
- 3.3. EPI apropriado para captura e manuseio dos animais.
- 3.4. Gaiola.
- 3.5. Potes para alimentação e água.
- 3.6. Ração padrão segundo a Organização Mundial da Saúde: açúcar cristalizado – 5%, milho triturado – 50%, farelo de trigo - 37%, óleo de milho - 5% e farinha de carne – 3%.
- 3.7. Termohigrômetro.
- 3.8. Sistema-teste:
  - 3.8.1. *Mus musculus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 10g de peso corpóreo, aclimatados por pelo menos 7 dias em biotério. As fêmeas não devem estar prenhas. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.
  - 3.8.2. *Rattus rattus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 100g de peso corpóreo, aclimatados por pelo menos 3 semanas em biotério. As fêmeas

não devem estar prenhas. Os animais devem ser pré-tratados para eliminar os ectoparasitas antes do período de aclimação. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.

- 3.8.3. *Rattus norvegicus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 100g de peso corpóreo, aclimatados por pelo menos 3 semanas em biotério. As fêmeas não devem estar prenhas. Os animais devem ser pré-tratados para eliminar os ectoparasitas antes do período de aclimação. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
- 4.1.1. Delineamento experimental:
- 4.1.1.1. Um controle com 10 (dez) - 5 fêmeas e 5 machos por espécie.
- 4.1.1.2. Número de indivíduos por repetição: 20 (vinte) - 10 fêmeas e 10 machos por espécie.
- 4.1.2. O teste só será válido se for conduzido com e sem opção alimentar, salvo seja alcançada, no teste com opção alimentar, a mortalidade mínima.
- 4.2. Teste com opção alimentar
- 4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste para  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  e a umidade relativa entre 30 e 70%.
- 4.2.2. Manter os animais em gaiola com dois potes de ração nas extremidades e água na posição central.
- 4.2.3. Retirar as demais fontes de alimentação. A água deve ser fornecida, sem restrições, durante o período do teste.
- 4.2.4. No terceiro dia, fornecer uma quantidade fresca e pesada da ração, em quantidade superior à fornecida normalmente.
- 4.2.5. Após 24 horas, a ração restante deverá ser pesada e a quantidade consumida por cada animal calculada. Deve ser assegurado que todos os animais estejam se alimentando normalmente da ração contida nos potes.
- 4.2.6. Colocar o produto num pote limpo, pesar e substituir por um dos potes que guarneciam a ração.
- 4.2.7. Após 24 horas, retirar o produto e pesar.
- 4.2.8. Repetir as etapas 4.2.6. e 4.2.7. por dois dias para raticidas de dose múltipla.
- 4.2.9. Recolocar a ração.
- 4.2.10. Observar os animais durante 14 dias, duas vezes ao dia, registrando a mortalidade e os sintomas toxicológicos observados.
- 4.2.11. Para ser válido, o teste deverá ser executado para as duas espécies de rato e uma de camundongos.
- 4.3. Teste sem opção alimentar
- 4.3.1. Regular a temperatura da sala de teste para  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  e a umidade relativa entre 30 e 70%.

- 4.3.2. Manter os animais em gaiola com a ração colocada na posição central.
- 4.3.3. Retirar as demais fontes de alimentação. A água deve ser fornecida, sem restrições, durante o período do teste.
- 4.3.4. No terceiro dia, fornecer uma quantidade fresca e pesada da ração, superior à fornecida normalmente.
- 4.3.5. Após 24 horas, a ração restante deverá ser pesada e a quantidade consumida por cada animal calculada. Deve ser assegurado que todos os animais estejam se alimentando normalmente da ração contida nos potes.
- 4.3.6. Colocar o produto num pote limpo, pesar e colocar na mesma posição onde anteriormente havia sido colocada a ração.
- 4.3.7. Após 24 horas, retirar o produto e pesar.
- 4.3.8. Repetir as etapas 4.3.6. e 4.3.7. por dois dias para raticidas de dose múltipla.
- 4.3.9. Recolocar a ração.
- 4.3.10. Observar os animais durante 14 dias, duas vezes ao dia, registrando a mortalidade e os sintomas toxicológicos observados.
- 4.3.11. Para ser válido, o teste deverá ser executado para as duas espécies de ratos e uma de camundongos.

## 5. RESULTADOS

O produto será considerado satisfatório se:

- 5.1. O teste com opção alimentar apresentar um consumo mínimo de 30% do produto em relação à ração e apresentar, dentro de 14 dias, uma mortalidade, calculada pelo método de Abbot, de  $90 \pm 10\%$ .
- 5.2. No caso de ser observada uma mortalidade inferior a  $90 \pm 10\%$ , deverá ser conduzido o teste sem opção alimentar, onde a mortalidade mínima observada deverá ser de  $90 \pm 10\%$ .



## Capítulo 8

# TESTE DE EFICÁCIA EM RODENTICIDAS SOB A FORMA DE PÓS DE CONTATO

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de rodenticidas sob a forma de pó de contato.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.2. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Balança analítica ou semi-analítica .
- 3.2. Caixas quadradas (duas) com 1 m<sup>2</sup> de área.
- 3.3. Detergente alcalino.
- 3.4. EPI apropriado para captura e manuseio dos animais.
- 3.5. Gaiola.
- 3.6. Potes para alimentação e água.
- 3.7. Ração padrão segundo a Organização Mundial da Saúde: açúcar cristalizado – 5%, milho triturado - 50%, farelo de trigo - 37%, óleo de milho - 5% e farinha de carne - 3%.
- 3.8. Sistema-teste:
  - 3.8.1. *Mus musculus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 10g de peso corpóreo, capturados no ambiente e aclimatados por pelo menos 7 dias em biotério. As fêmeas não devem estar prenhas. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.
  - 3.8.2. *Rattus rattus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 100g de peso corpóreo, capturados no ambiente e aclimatados por, pelo menos, 3 semanas em biotério. As fêmeas não devem estar prenhas. Os animais devem ser pré-tratados



para eliminar os ectoparasitas antes do período de aclimação. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.

- 3.8.3. *Rattus norvegicus*, adultos selvagens e saudáveis, com no mínimo 100g de peso corpóreo, capturados no ambiente e aclimatados por pelo menos 3 semanas em biotério. As fêmeas não devem estar prenhas. Os animais devem ser pré-tratados para eliminar os ectoparasitas antes do período de aclimação. A alimentação durante o período de aclimação deve ser a ração padrão.

- 3.9. Tubo de PVC com 1m de comprimento e diâmetro interno de 75mm.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Geral

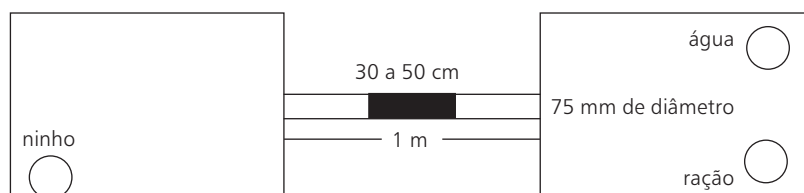
#### 4.1.1. Delineamento experimental:

- 4.1.1.1. Um controle com 10 (dez) - 5 fêmeas e 5 machos por espécie;  
4.1.1.2. Número de indivíduos por repetição: 20 (vinte) - 10 fêmeas e 10 machos por espécie.

### 4.2. Teste

- 4.2.1. Regular a temperatura da sala de teste entre  $21 \pm 2^\circ\text{C}$  e a umidade relativa entre 30 e 70%.

- 4.2.2. Montar o sistema conforme indicado no desenho abaixo:



- 4.2.3. Manter os animais durante 3 dias para reconhecimento do aparato.  
4.2.4. Pesar 20g do produto e distribuir uniformemente na parte central, ao longo de 30cm para o *Mus musculus* e 50cm para demais espécies (vide figura 4.2.2.).  
4.2.5. Manter os animais por períodos de 1 a 8 dias, certificando-se que ocorram três-passagens por dia de um lado para outro do sistema.  
4.2.6. Após o período de exposição, recolher os animais em gaiolas individuais e observar até 28 dias, registrando a mortalidade.

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se dentro de 28 dias a mortalidade **média** (machos e fêmeas), calculada pelo método de Abbot, for de  $90 \pm 10\%$ .

## Capítulo 9

# TESTE DE POTÊNCIA EM PRODUTOS LARVICIDAS BIOLÓGICOS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da potência, em UTI/mg, de larvicidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* e/ou *B. sphaericus*, sob condições de laboratório.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. CL50: concentração do biolarvicida (mg/L) capaz de matar 50% do número de insetos em teste em um período de tempo determinado (24 ou 48h segundo o biolarvicida).
- 2.2. Larva morta: aquela que não realiza deslocamento na coluna de água do recipiente-teste quando recebe estímulo táctil.
- 2.3. Potência larvicida da substância-teste expressa em UTI/mg: (potência do padrão) X (CL50 do padrão/ CL50 da substância-teste).
- 2.4. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos que se definam como objeto de estudo.
- 2.5. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.
- 2.6. UTI: Unidades Tóxicas Internacionais.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Agitador de tubos tipo "Vórtex".
- 3.2. Água destilada.
- 3.3. Balança analítica.
- 3.4. Marcador de recipientes e tubos.
- 3.5. Micropipetas automáticas e ponteiras.
- 3.6. Microtubos para 1,5 a 2 mL.
- 3.7. Padrão certificado da substância-teste.
- 3.8. Pérolas de vidro com diâmetro entre 4 e 6mm.
- 3.9. Pipetas tipo Pasteur (2 mL) descartáveis.
- 3.10. Proveta graduada de 100 mL.
- 3.11. Ração para gatos macerada.

- 3.12. Recipientes em plástico de cor branca com 7cm de diâmetro e altura, volume para 180-200 mL;
- 3.13. Sistema-teste:
  - 3.13.1. *Aedes aegypti*, larvas do 2º e 3º instar (cápsula cefálica de cor clara) ou de acordo com a indicação do fabricante, mantidas em insetário com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados, alimentados com dieta específica.
  - 3.13.2. *Culex quinquefasciatus*, larvas no início do 4º instar (cápsula cefálica de cor clara), mantidas em insetário com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados (24 a 28°C, 60 a 80% e 10:14h claro/escuro, respectivamente), alimentados com dieta específica.
- 3.14. Solução de álcool etílico a 70%.
- 3.15. Solução de hipoclorito de sódio a 2%.
- 3.16. Tubos para 15 a 20 mL.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Seis concentrações da substância-teste que promovam mortalidade dose-crescente entre 10 e 95%, e um controle não tratado, por ensaio;
    - 4.1.1.2. Três replicatas por concentração e por controle não tratado, por ensaio;
    - 4.1.1.3. Número de larvas por replicata: 10 (dez); usar lotes homogêneos de larvas.
    - 4.1.1.4. Realizar o mesmo procedimento com o padrão.
  - 4.1.2. Os ensaios deverão ser realizados em bancada higienizada com solução de álcool etílico a 70%, em sala individual sob as mesmas condições (temperatura, umidade e fotoperíodo) de manutenção das larvas.
  - 4.1.3. No grupo controle é aceitável uma mortalidade de 0 a 5% da amostra sem correção e de 5 a 10% mediante correção da mortalidade dos grupos tratados. Desconsiderar o ensaio quando a mortalidade for maior do que 10%.
  - 4.1.4. Descartar, ao término do ensaio, o conteúdo dos recipientes em balde contendo solução de hipoclorito de sódio diluída 100 (cem) vezes (Ex: para 5L de descarte, adicionar 50mL da solução de hipoclorito).
  - 4.1.5. Após 24h, descartar o material.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Preparar uma suspensão (A) da substância-teste a 5g/L (50mg da substância-teste + 10mL de água destilada) em tubo contendo 15 pérolas de vidro e manter sob agitação no Vórtex por 10 minutos.
  - 4.2.2. Preparar uma suspensão (B) a 50mg/L (0,1mL A + 9,9mL de água destilada) e manter sob agitação no Vórtex por 3 minutos. Alíquotas desta suspensão adicionadas aos recipientes correspondem às concentrações relacionadas na tabela abaixo:

| ALÍQUOTAS $\mu$ L SUSPENSÃO B (50 MG/L)* | CONCENTRAÇÃO (MG/L) FINAL NO RECIPIENTE* |
|--|--|
| 160                                      | 0,08                                     |
| 80                                       | 0,04                                     |
| 60                                       | 0,03                                     |
| 40                                       | 0,02                                     |
| 20                                       | 0,01                                     |
| 16                                       | 0,008                                    |
| 10                                       | 0,005                                    |

\* ESTAS CONCENTRAÇÕES SÃO SUGERIDAS COM BASE NA POTÊNCIA DO PADRÃO. OUTRAS CONCENTRAÇÕES PODERÃO SER UTILIZADAS COM BASE NA POTÊNCIA DA SUBSTÂNCIA-TESTE.

- 4.2.3. Preparar os recipientes contendo 100mL de água destilada e 20 (vinte) larvas e identificá-los com a concentração utilizada ou como controle.
- 4.2.4. Tratar cada recipiente distribuindo, lenta e uniformemente na superfície da água, a alíquota da suspensão B necessária para atingir a concentração final desejada.
- 4.2.5. Se a alíquota utilizada for superior a 1,0mL é necessário retirar, antes, o mesmo volume de água do recipiente.
- 4.2.6. Quando a substância-teste for à base de *Bacillus sphaericus*, adicionar uma pequena quantidade de ração.
- 4.2.7. A determinação da mortalidade das larvas nos recipientes é feita 24 ou 48 horas após a aplicação da substância-teste à base de *Bacillus thuringiensis* ou *B. sphaericus*, respectivamente, com base no número de larvas sobreviventes.
- 4.2.8. O número de larvas mortas em cada replicata é igual a 20 (vinte) menos o número de larvas vivas.

OBS: Isto só será válido para os casos em que não forem utilizadas larvas do 2° e 3° instar.

## 5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O cálculo da CL50 da substância-teste em cada ensaio é feito por regressão linear Log-Probit a partir da curva de concentração (mg/L) - mortalidade (%) obtida no ensaio.

## 6. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório quando a variação da potência declarada e obtida no ensaio for de  $\pm 10\%$  em três ensaios realizados em três datas diferentes.



## Capítulo 10

# TESTE DE EFICÁCIA EM PRODUTOS LARVICIDAS BIOLÓGICOS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de larvicidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* e/ou *B. sphaericus*, sob condições de laboratório.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Larva morta: aquela que não realiza deslocamento na coluna de água do recipiente-teste quando recebe estímulo táctil.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Recipientes-teste em plástico resistente, opaco, de cor escura, com dimensões aproximadas de 44cm de diâmetro e 58cm de altura, volume para 60 L, tampa com tela de nylon de malha fina.
- 3.2. Água de torneira desclorada (48 h).
- 3.3. Balança analítica.
- 3.4. Marcador de recipientes.
- 3.5. Etiquetas autocolantes.
- 3.6. Borrifador (tipo jardinagem).
- 3.7. Pipetas sorológicas (10 mL).
- 3.8. Pipetador automático ou “pêra”.
- 3.9. Cubas em plástico de cor branca, dimensões (cm) aproximadas de 10 (largura) X 20 (comprimento) X 4 (altura).
- 3.10. Ração para gatos macerada.
- 3.11. Solução de hipoclorito de sódio a 2%.

### 3.12. Sistema-teste:

3.12.1. *Aedes aegypti*, larvas no início do 4º instar (cápsula cefálica de cor clara), mantidas em insetário com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados (24 a 28°C, 60 a 80% e 10:14h claro/escuro, respectivamente), alimentados com dieta específica.

3.12.2. *Culex quinquefasciatus*, larvas no início do 4º instar (cápsula cefálica de cor clara), mantidas em insetário com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados (24 a 28°C, 60 a 80% e 10 - 14h claro/escuro, respectivamente), alimentados com dieta específica.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Geral

#### 4.1.1. Delineamento experimental:

4.1.1.1. Utilizar a concentração da substância-teste recomendada pelo fabricante para ser submetida à verificação da eficácia.

4.1.1.2. Quatro replicatas da concentração e do controle não tratado, por teste;

4.1.1.3. Número de larvas por replicata: 25 larvas de lotes homogêneos.

4.1.2. Os ensaios deverão ser realizados em sala sob as mesmas condições (temperatura, umidade e fotoperíodo) de manutenção das larvas.

4.1.3. No grupo controle é aceitável a mortalidade de até 10%; desconsiderar o ensaio quando a mortalidade for maior do que 10%.

4.1.4. Adicionar aos recipientes, ao término do ensaio, solução de hipoclorito de sódio diluída 100 vezes (ex: para 50L, adicionar 0,5L da solução de hipoclorito de sódio).

4.1.5. Após 24h, descartar o conteúdo dos recipientes.

### 4.2. Específico

4.2.1. Preparar a amostra da substância-teste segundo a “menor dose” recomendada pelo fabricante no rótulo (adaptar ao volume ou superfície do recipiente-teste).

4.2.2. Preparar a diluição da substância-teste de acordo com a indicação do fabricante, tanto para produtos sólidos como líquidos.

4.2.3. A determinação da mortalidade das larvas nos recipientes é feita 24 ou 48 horas após a aplicação da substância-teste à base de *Bacillus thuringiensis* ou *B. sphaericus*, respectivamente, com base no número de larvas sobreviventes coletadas com pipeta e transferidas para contagem em cubas.

## 5. RESULTADOS

O teste será considerado satisfatório se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$  nos recipientes-teste no período da avaliação.

## Capítulo 11

# TESTE DE EFICÁCIA CURATIVO PARA CUPINS DE MADEIRA SECA

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de cupinidas para uso em madeira seca como tratamento curativo.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Corpo de prova (madeira previamente infestada pela praga) medindo 50x10x1cm de comprimento, largura e espessura, respectivamente.
- 3.2. Pulverizador manual em aço inoxidável com vazão constante, pressão de 40lb/pol2 e bico leque 8002.
- 3.3. Dosador automático para aplicações de aerossol.
- 3.4. Termohigrômetro.
- 3.5. Pincel.
- 3.6. Seringas.
- 3.7. Tanques para imersão.
- 3.8. EPIs.
- 3.9. Sistema-teste:
  - 3.9.1. *Criptotermes brevis*



## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Geral

- 4.1.1. Separar 24 corpos de prova em ambiente controlado com temperatura entre 23 e 27°C e umidade relativa do ar entre 50 e 70% e ciclos claro/escuro de 12 horas.
- 4.1.2. Momentos antes do início do ensaio selecionar 12 corpos de prova para tratamento com a substância-teste e 12 com o controle.
- 4.1.3. Realizar a aplicação de acordo com a recomendação do fabricante, utilizando pulverização, aspersão de aerossol (doseamento automático), pincelamento, injeção ou imersão.
- 4.1.4. Realizar avaliações semanais de mortalidade até no máximo 60 dias.

OBS.: As avaliações devem ser realizadas através de aberturas parciais em cada um dos corpos de prova.

### 4.2. Específico

- 4.2.1. Líquidos: preparar a calda na concentração e indicações de uso informadas pelo fabricante. Poderá ser utilizado um pulverizador manual de vazão e pressão constantes de 40 lb/pol<sup>2</sup>, com bico de leque 8002. Realizar as aplicações a 30 cm da superfície a ser tratada.
- 4.2.2. Sólidos: polvilhar a substância-teste com a quantidade indicada pelo fabricante, utilizando um polvilhador manual ou a própria embalagem do produto. Aplicar a uma distância de 30 cm.
- 4.2.3. Aerossol: utilizar um dosador automático ou aplicar manualmente, com auxílio de um tubo de PVC de 30 cm de altura por 20 cm de diâmetro.
- 4.2.4. Pronto-uso: utilizar a própria embalagem, por exemplo, bomba tipo Flit ou pulverizador similar.
- 4.2.5. Imersão: imergir a madeira, utilizando a dose e volume de calda indicados pelo fabricante.

## 5. RESULTADOS

A substância-teste será considerada satisfatória se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$ , sendo calculada de acordo com a fórmula de Abbot.

## Capítulo 12

# TESTE DE EFICÁCIA PREVENTIVO/ RESIDUAL PARA CUPINS DE MADEIRA SECA

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de cupinidas para uso em madeira seca como tratamento preventivo/residual para cupins.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Corpo de prova 15 x 15 cm (madeira de *pinus* não infestada ou seguir a indicação do fabricante) medindo 50 x 10 x 1cm de comprimento, largura e espessura, respectivamente.
- 3.2. Pulverizador manual em aço inoxidável com vazão constante, pressão de 40 lb/pol<sup>2</sup> e bico leque 8002.
- 3.3. Dosador automático para aplicações de aerossol.
- 3.4. Termohigrômetro.
- 3.5. Pincel.
- 3.6. Seringas.
- 3.7. Tanques para imersão.
- 3.8. EPIs.
- 3.9. Sistema-teste:
  - 3.9.1. *Criptotermes brevis*

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Separar uma quantidade de corpos de prova de acordo com o tempo de efeito residual desejado, onde cada tempo deve conter quatro corpos de prova para o tratamento controle e quatro para o tratamento com a substância-teste.
  - 4.1.2. Aplicar o produto (vide 4.2.).
  - 4.1.3. Após a secagem dos corpos de prova, introduzir os mesmos em ambiente controlado com temperatura entre 23 e 27°C e umidade relativa do ar entre 50 e 70%.
  - 4.1.4. Separar 200 cupins previamente climatizados e realizar infestação de 25 insetos sobre as superfícies de cada uma das repetições.
  - 4.1.5. Manter em exposição durante 20 minutos, sendo retirados e introduzidos em madeiras isentas de tratamento para posteriores avaliações de mortalidade em 24, 48 e 72 horas.
  - 4.1.6. Avaliar semanalmente a mortalidade, dentro do tempo recomendado pelo fabricante, mantendo os corpos de prova tratados inicialmente em prateleiras, em ambiente com umidade e temperaturas controlados (23 a 27° C e 50 a 70 % de umidade relativa, respectivamente) e ciclos de claro-escuro de 12 horas.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Líquidos: preparar a calda na concentração e indicações de uso informadas pelo fabricante. Poderá ser utilizado um pulverizador manual de vazão constante e pressão de 40 lb/pol<sup>2</sup>, com bico de leque 8202. Realizar as aplicações a 30 cm da superfície a ser tratada.
  - 4.2.2. Sólidos: polvilhar a substância-teste de com a quantidade indicada pelo fabricante, utilizando um polvilhador manual ou a própria embalagem do produto. Aplicar a uma distância de 30 cm.
  - 4.2.3. Aerossol: utilizar um dosador automático ou aplicar manualmente, com auxílio de um tubo de PVC de 30 cm de altura por 20 cm de diâmetro.
  - 4.2.4. Pronto-uso: utilizar a própria embalagem, por exemplo, bomba tipo Flit ou pulverizador similar.
  - 4.2.5. Pincelamento: pincelar uniformemente a madeira, utilizando a dose e volume indicados pelo fabricante.
  - 4.2.6. Imersão: imergir a madeira, utilizando a dose e volume de calda indicados pelo fabricante.

## 5. RESULTADOS

A substância-teste será considerada satisfatória se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$ , sendo calculada de acordo com a fórmula de Abbot.

## Capítulo 13

# TESTE DE EFICÁCIA FRENTE A CUPINS SUBTERRÂNEOS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia, em laboratório, frente a cupins subterrâneos.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Corpo de prova 1 x 1 x 5 cm de largura, espessura e comprimento, respectivamente, madeiras pinus ou eucalipto, infestadas pela praga e isentas de tratamento.
- 3.2. Tubo de vidro de 2 cm de diâmetro interno por 6 cm de altura.
- 3.3. Funil plástico.
- 3.4. Placa de Petri.
- 3.5. Balde plástico.
- 3.6. Trado.
- 3.7. EPI.
- 3.8. Sistema-teste:
  - 3.8.1. *Nasutitermes sp.*
  - 3.8.2. *Coptotermes gestroi.*

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Aplicação da substância-teste
  - 4.1.1. Diluir a substância-teste de acordo com a recomendação do fabricante; com o auxílio de um funil, aplicar a calda em 1 metro linear sobre o solo, distribuindo este volume a cada 20 cm dentro de orifícios, medindo 10 mm de diâmetro por 20 cm de profundidade.
  - 4.1.2. 24 horas após a aplicação, com o auxílio de um trado, coletar porções de solo entre os orifícios que receberam a aplicação, sendo todo o conteúdo amostrado transferido para um balde plástico, sendo este solo homogeneizado e acondicionado em ambiente controlado com temperatura entre 23 e 27°C e umidade relativa do ar entre 50 e 70%.
- 4.2. Preparo de Ensaio
  - 4.2.1. Introduzir 20 g de solo previamente homogeneizado em tubos de vidro e posicionar verticalmente sobre uma placa de Petri.
  - 4.2.2. Introduzir os corpos de prova no interior dos tubos na parte superior do solo.
  - 4.2.3. Infestar sobre estes corpos de prova 48 operários e 2 soldados em cada repetição.
  - 4.2.4. Os insetos deverão ser incubados em ambiente controlado (temperatura entre 23 e 27°C e umidade relativa do ar entre 50 e 70%) e ciclos claro-escuro de 12 horas.
  - 4.2.5. Realizar avaliações do número de insetos vivos, mortos e sinais de ataque nos corpos de prova durante 15 dias.

## 5. RESULTADOS

A substância-teste será considerada satisfatória se o valor médio da mortalidade for de  $90 \pm 10\%$ , sendo calculada de acordo com a fórmula de Abbot. O ensaio será considerado válido se no tratamento controle ocorrerem sinais de ataque dos cupins e tendo como tolerância uma mortalidade máxima de 20% no período de 15 dias.

## Capítulo 14

# TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS FRENTE A PULGÕES

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de inseticidas frente a pulgões.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Placas de Petri com diâmetro de 3,5 cm
- 3.2. Balança analítica
- 3.3. Estufa incubadora
- 3.4. Microscópio estereoscópio
- 3.5. Pincel
- 3.6. Agar – água
- 3.7. Plantas de algodão da variedade DELTA OPAL entre 45-100 dias.
- 3.8. *Aphis gossypii* mantidas em plantas de algodão da variedade DELTA OPAL entre 45-100 dias após o plantio de idade, cultivadas em casa de vegetação livres de qualquer aplicação com pesticidas, mantidas em salas climatizadas a 25 + 1°C com fotoperíodo de 14 horas claro e UR de 60 + 10% até a realização do ensaio.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento e um controle.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Cortar discos de folhas do algodão com diâmetro de 3,5 cm e mergulhar na calda inseticida na concentração informada pelo cliente por um período de 10 segundos. Após este período, retirar os discos e manter os mesmos à temperatura ambiente até a secagem, completa.
  - 4.2.2. Após a secagem os discos de folhas devem ser transferidos para placas de Petri de 3,5 cm de diâmetro contendo uma camada fina de agar-água a 2%.
  - 4.2.3. Com auxílio do estereoscópio, transferir 10 pulgões por placa de Petri.
  - 4.2.4. Após a transferência, fechar as placas e colocá-las em estufa incubadora sob temperatura de 25+1°C e fotoperíodo de 14 horas.
  - 4.2.5. Registrar a mortalidade em até 72 horas.

## 5. RESULTADOS

A substância-teste será considerada satisfatória se a mortalidade for de 90 + 10% corrigida pela fórmula de Abbot em até 72 horas.

## Capítulo 15

# TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS FRENTE A COCHONILHAS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada, em escala de laboratório, para avaliação da eficácia de inseticidas frente a cochonilhas.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Mortalidade: situação em que o inseto se encontra sem nenhum movimento evidente, de qualquer apêndice, após observação por um período mínimo de 3 segundos.
- 2.2. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.3. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Estufa incubadora
- 3.2. Balança semi-analítica
- 3.3. Pulverizador
- 3.4. Agar – água
- 3.5. Plantas de limão cravo (*Citrus limonia*) de aproximadamente 40 cm de altura, produzidas e mantidas em tubetes plásticos de 50 ml.
- 3.6. Populações de *Orthezia praelonga* mantidas em plantas de limão cravo, cultivadas em casa de vegetação livres de qualquer aplicação com pesticidas, mantidas em salas climatizadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  com fotoperíodo de 14 horas claro e UR de  $60 \pm 10\%$  até a realização do ensaio.



## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Geral

#### 4.1.1. Delineamento experimental:

4.1.1.1. Quatro repetições por tratamento, cada uma representada por um tubete da planta, tendo cada um deles entre 20 e 50 cochonilhas, e um controle.

### 4.2. Específico

4.2.1. Pulverizar sobre os tubetes a amostra na dose recomendada pelo fabricante.

## 5. RESULTADOS

A substância-teste será considerada satisfatória se a mortalidade for de  $90 \pm 10\%$  corrigida pela fórmula de Abbot em até 72 horas.

## Capítulo 16

# TESTE DE EFICÁCIA DE INSETICIDAS SOB A FORMA DE ISCAS FRENTE A FORMIGAS CORTADEIRAS

## 1. OBJETIVO

Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de inseticidas sob a forma de iscas frente a formigas cortadeiras em condições de campo.

## 2. DEFINIÇÕES

- 2.1. Sistema-teste: qualquer animal, planta, microorganismo, bem como outro sistema celular, subcelular, químico ou físico, ou combinação destes, incluindo os sistemas ecológicos complexos, que se definam como objeto de estudo.
- 2.2. Substância-teste: qualquer espécie química, biológica ou biotecnológica, formulação ou metabólito, que está sob investigação em um estudo.

## 3. MATERIAIS E REAGENTES

- 3.1. Enxada
- 3.2. Balança semi-analítica
- 3.3. Porta-isca
- 3.4. Colônias ativas das espécies *Atta spp.* e *Acromyrmex spp.*

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

- 4.1. Geral
  - 4.1.1. Delineamento experimental:
    - 4.1.1.1. Localizar e identificar em campo colônias ativas, com área mínima de 2m<sup>2</sup> para *Atta spp.* e olheiros no caso de *Acromyrmex spp.*, para o tratamento e para o controle.
- 4.2. Específico
  - 4.2.1. Pesar as iscas e aplicá-las, de acordo com a dose indicada pelo fabricante, a 30 cm ao lado dos orifícios de abastecimento das colônias (olheiros) marcados previamente.

- 4.2.2. Depois de um período de 24h, as iscas não transportadas e devolvidas nos orifícios de abastecimento devem ser recolhidas e pesadas de modo a estimar, respectivamente, o carregamento e a devolução.
- 4.2.3. Avaliar a atividade de cada colônia após 1, 2, 3, 5, 7, 14, 28, 42, 63 e 84 dias, através da observação de movimento das formigas nos orifícios dos ninhos, renovação de terra solta e corte de folhas.

## 5. RESULTADOS

- 5.1. A eficiência percentual das iscas é calculada através da fórmula de Abbott:

$$E (\%) = [(C-T)/C] \times 100$$

onde:

C = número de colônias ativas no controle

T = número de colônias ativas no tratamento

- 5.2. O resultado somente será válido se ao final do teste forem avaliadas, no mínimo, quatro colônias.



