

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 Justi 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 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 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 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>Stromphecheilus 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
Tripes	<i>Frankliniella spp</i>	Tripes

## 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.

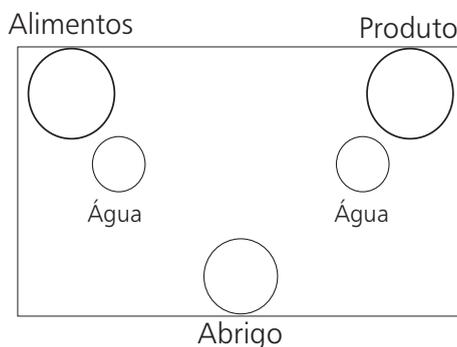
## 2. DEFINIÇÕES

- 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 REPELENTE SOBRE MOSQUITOS

## 1. OBJETIVO

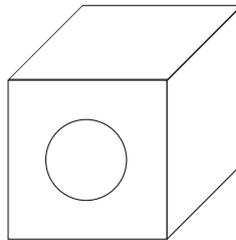
Estabelecer a metodologia a ser adotada para avaliação da eficácia de produtos repelentes, sob a forma de espirais e volatilizantes líquidos e em pastilhas, com ou sem efeito *knockdown*.

## 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. *Blattella 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

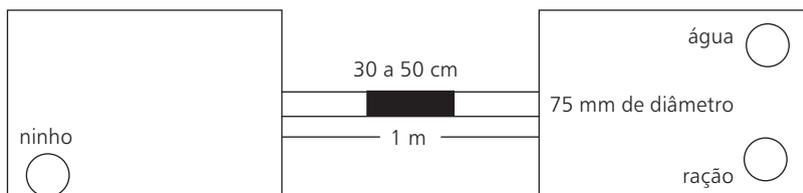
#### 4.1.1. Delineamento experimental:

- 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.



