

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS ERECHIM
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL E SANITARIA**

STEPHANIE TOUSSAINT

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO BIOINSETICIDA VECTOBAC® NO
COMPORTAMENTO DE PEIXES-ZEBRA**

ERECHIM

2025

STEPHANIE TOUSSAINT

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO BIOINSETICIDA VECTOBAC® NO
COMPORTAMENTO DE PEIXES-ZEBRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Engenheira Ambiental e Sanitarista.

Orientadora: Prof. Dra. Marília Hartmann

Co-orientadora: Dra. Aline Pompermaier

ERECHIM

2025

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Toussaint, Stephanie

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO BIOINSETICIDA VECTOBAC® NO
COMPORTAMENTO DE PEIXES-ZEBRA / Stephanie Toussaint. --
2025.

30 f.

Orientadora: Prof. Dra. Marilia Hartmann

Co-orientadora: Dra. Aline Pompermaier

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária,
Erechim,RS, 2025.

1. Aedes aegypti; produtos biológicos; organismos
não-alvo; peixes.. I. Hartmann, Marilia, orient. II.
Pompermaier, Aline, co-orient. III. Universidade Federal
da Fronteira Sul. IV. Título. |

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

STEPHANIE TOUSSAINT

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO BIOINSETICIDA VECTOBAC® NO
COMPORTAMENTO DE PEIXES-ZEBRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental E Sanitária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Engenheira Ambiental e Sanitarista.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 16/06/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Marília Hartmann – UFFS
Orientadora

Prof. Dr.^a Carla Alves - IFRS
Avaliador

Prof. Dr.^a Helen Treichel – UFFS
Avaliador

RESUMO

O controle de vetores é uma medida essencial na saúde pública, visando prevenir e reduzir a transmissão de doenças causadas por organismos como mosquitos e moscas, que atuam como vetores de diversos patógenos. Diversas estratégias de controle podem ser aplicadas rotineiramente para combater mosquitos e moscas de interesse em saúde. Como principal alternativa, estão sendo realizadas aplicações de larvicidas em locais de reprodução do mosquito. Um dos produtos utilizados é o larvicida biológico VectoBac® 12 AS, que pode ser aplicado diretamente na água para combater as larvas do mosquito. Embora seja um bom meio de combate ao mosquito, ainda não se sabe se ele pode causar efeitos negativos para os organismos não-alvo. Portanto, aqui avaliamos o efeito da exposição ao larvicida VectoBac® 12 AS no comportamento do peixe-zebra. Realizamos uma exposição de peixes-zebra durante 30 minutos, as concentrações de 1.5, 2.5 e 10 µg/L do produto, para avaliar comportamento exploratório e preferência social. A exposição ao bioinseticida causou um efeito ansiolítico nos peixes, mas não alterou a preferência social. Esses achados demonstram que mesmo produtos biológicos podem impactar negativamente as espécies aquáticas. Além disso, reforça a necessidade de avaliação da toxicidade dos produtos biológicos para verificar se de fato eles não são tóxicos para o ambiente.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; produtos biológicos; organismos não-alvo; peixes.

ABSTRACT

Vector control is an essential measure in public health, aimed at preventing and reducing the transmission of diseases caused by organisms such as mosquitoes and flies, which act as vectors for various pathogens. Various control strategies can be routinely applied to combat mosquitoes and flies of public health concern. As a key strategy, larvicides are being applied to mosquito breeding sites. One such product is the biological larvicide VectoBac® 12 AS, which can be applied directly to water to target mosquito larvae. Although effective against mosquitoes, its potential adverse effects on non-target organisms remain unclear. Here, we evaluated the impact of VectoBac® 12 AS exposure on zebrafish behavior. Fish were exposed for 30 minutes to concentrations of 1.5, 2.5, and 10 $\mu\text{g/L}$, followed by assessments of exploratory behavior and social preference. Exposure to bioinsecticide induced an anxiolytic effect in zebrafish but did not alter social preference. These findings demonstrate that even biological products can negatively impact aquatic species. Moreover, they highlight the need for toxicity assessments of biological agents to confirm their environmental safety.

Keywords: *Aedes aegypti*; biological products; non-target organisms; zebrafish.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
ACE	Agente de Controle de Endemias
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ACS	Agente Comunitário de Saúde
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CNM	Confederação Nacional de Municípios
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
FHD	Febre Hemorrágica de Dengue
FISPQ	Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PEAa	Plano de Erradicação do <i>Aedes aegypti</i>
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
SCD	Síndrome de Choque de Dengue
UNICEF	Fundo Internacional de Emergência das Nações
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	OBJETIVOS.....	14
3	METODOLOGIA.....	15
4	RESULTADOS.....	18
3	DISCUSSÃO	20
4	CONCLUSÃO.....	23
	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

Os vetores são organismos vivos que transmitem agentes infecciosos entre humanos ou de animais para humanos. O controle de vetores é uma medida essencial na saúde pública, visando prevenir e reduzir a transmissão de doenças causadas por organismos como mosquitos, que atuam como vetores de diversos patógenos. No Brasil, o controle de vetores tem se mostrado desafiador devido às condições climáticas favoráveis, urbanização acelerada e falhas nos sistemas de saneamento básico (Brasil, 2016).

Diversos gêneros de mosquitos apresentam importância médica significativa devido à sua capacidade vetorial. Os mosquitos do gênero *Anopheles*, especialmente *Anopheles gambiae* na África e *Anopheles darlingi* nas Américas, são os principais vetores da malária, doença causada por protozoários do gênero *Plasmodium* (Sinka *et al.*, 2012; Venkatesan, 2024). No Brasil, são conhecidas cerca de 50 espécies de mosquitos *Anopheles*, e os principais transmissores da malária são *A. darlingi* (principal vetor) *A. aquas*, membros do complexo *A. albitarsis*, *A. cruzii* e *A. Bellator* (Baia-da-Silva *et al.*, 2019). A transmissão ocorre pela picada da fêmea do mosquito, infectada por *Plasmodium* (Bentes; Costa; Teixeira, 2017).

Alguns gêneros são menos conhecidos, como *Psorophora* e *Culiseta*, que também possuem relevância epidemiológica. Espécies como *Psorophora ferox* e *Psorophora columbiae* foram relacionadas à transmissão de arbovírus como o da encefalite equina venezuelana e o vírus Rocio (Consoli Rotraut A. G. B.; Lourenço de Oliveira Ricardo, 1994; Ruiz-Garcia *et al.*, 2003). Foram encontrados mosquitos de *Psophora ferox* no Brasil com alta carga viral para Febre Amarela, o que pode indicar que essa espécie também pode ser um vetor dessa doença (Caleiro *et al.*, 2025; Wilk-da-Silva *et al.*, 2020). Já *Culiseta melanura* é o principal vetor enzoótico do vírus da encefalite equina oriental em ambientes silvestres (Armstrong & Andreadis, 2013)

O gênero *Culex*, como *Culex quinquefasciatus*, é um mosquito cosmopolita no Brasil, e está associado à transmissão de filariose linfática, encefalite japonesa e vírus do Nilo Ocidental (Farajollahi *et al.*, 2011; Fonseca *et al.*, 2006), sendo um importante vetor de arboviroses (Reis *et al.*, 2023). Estudos demonstram a resistência deste mosquito a organofosforados, carbamato, DDT, piretróides e biolarvicídeos em localidades distintas do país (Lopes; Lima; Martins, 2019), o que mostra que a forma de controle ou pelo menos as substâncias, deve ser mudada.

Os borrachudos, *Simulium pertinax* são conhecidos também como moscas negras, e estão relacionados principalmente à transmissão da oncocercose e mansonelose em humanos (Docile *et al.*, 2015). Os hábitos altamente antropófilos podem desencadear condições

irritativas e alérgicas, o que pode afetar a qualidade de vida e a produtividade dos trabalhadores rurais ou em áreas periurbanas associadas a córregos (Lis *et al.*, 2025).

Os mosquitos do gênero *Aedes* são vetores das arboviroses consideradas de maior importância médica: dengue, febre amarela, Zika e chikungunya. Duas espécies são os principais vetores dessas doenças: *A. albopictus* e *A. aegypti*. No entanto, *A. aegypti* destaca-se por sua adaptação a ambientes urbanos e pela proximidade com populações humanas (Brady *et al.*, 2012). Sua primeira manifestação epidêmica relevante ocorreu durante o surto histórico de febre amarela, conforme apontado por (Consoli & oliveira, 1994). *A. aegypti* é um mosquito diurno, especialmente ativo nas primeiras horas da manhã e ao entardecer (FIOCRUZ, 2019). Sua reprodução ocorre em recipientes abandonados ao ar livre, assim como em reservatórios de água e outros locais onde a água permanece parada (Zara *et al.*, 2016). O ciclo de desenvolvimento do mosquito, desde a eclosão do ovo até a fase adulta dura cerca de 10 dias, sendo significativamente afetado por fatores como a temperatura, que pode acelerar esse processo (FIOCRUZ, 2019). A presença e a dinâmica populacional desses mosquitos vetores estão diretamente relacionadas a fatores ambientais, como a presença de água parada, temperatura elevada, ausência de controle ambiental e urbanização desordenada, que favorece a proliferação de criadouros (Costa *et al.*, 2023; Honório *et al.*, 2019).

Atualmente, a dengue é uma das arboviroses mais importantes em nível mundial. Aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas estão em risco de contrair a doença, especialmente em países tropicais e subtropicais (Lara, 2022). No Brasil, a dengue ocorre de forma sazonal, com maior número de casos registrados nos primeiros cinco meses do ano, período em que o clima é mais quente e úmido, característico das regiões tropicais. Alterações demográficas e o intenso movimento migratório do campo para a cidade contribuíram para o crescimento urbano desordenado, a carência de saneamento básico adequado e, como consequência, a proliferação do vetor da dengue (Braga & Valle, 2007).

Com o passar dos anos, a doença se tornou incontrolável no país. A cada ano, o número de pessoas infectadas e os óbitos aumentam continuamente (Shepard *et al.*, 2014). No mundo, a dengue se espalhou, infectando milhões de pessoas anualmente, resultando em alta mortalidade e prejuízos econômicos significativos (Vieira & Bastos, 2021). Esse cenário epidemiológico global motivou o governo brasileiro a colaborar com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), especialmente no fortalecimento da vigilância epidemiológica, no controle de vetores e na implementação de estratégias de prevenção e resposta a surtos.

No primeiro trimestre de 2024, o Brasil registrou mais de 2,5 milhões de casos, recorde histórico no período, com mais de 1.000 mortes (Medeiros,2024). Existem quatro sorotipos distintos do vírus da dengue: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Nasim *et al.*, 2013), todos presentes nas Américas e já identificados simultaneamente no Brasil. Essa enfermidade pode manifestar-se com sintomas variados, desde febre e dores no corpo até complicações neurológicas, e podem ser fatais, como a dengue hemorrágica que pode levar à morte (WHO, 2024). O quadro epidemiológico dessa doença está se tornando cada vez mais suscetível a epidemias e ao aumento das formas graves da doença, aumentando o risco de óbitos e da taxa de letalidade (ANVISA, 2024). Além disso, há uma crescente preocupação com o aumento de casos entre os jovens, incluindo crianças, um cenário que já foi observado em outros países (FIOCRUZ, 2024).

De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, é essencial que a população se vacine, tendo em vista a existência de uma vacina recomendada para indivíduos de 5 a 60 anos, desenvolvida por um laboratório selecionado devido ao elevado número de hospitalizações por dengue no Brasil (Governo Do Distrito Federal, 2020). Apesar da disponibilidade da vacina, ainda é necessário enfrentar desafios relacionados à sua distribuição, acesso e aceitação para garantir um impacto efetivo na redução da incidência da doença. Segundo o Ministério da Saúde, estão sendo realizados investimentos na produção de uma vacina nacional, que já se encontra na fase final de desenvolvimento e será produzida pelo Instituto Butantan (BRASIL, 2024a).

A dengue representa um grave problema de saúde pública devido à sua capacidade de causar surtos extensos e à necessidade de intervenções amplas para controle da transmissão (Mendonça *et al.*, 2009). Por esse motivo, medidas emergenciais são necessárias para conter a pandemia, pois, uma vez estabelecida, o controle do vetor se torna ainda mais difícil. Embora exista uma vacina contra a dengue, sua aplicação é limitada a uma faixa etária específica. Assim, o controle do vetor continua sendo a principal estratégia para prevenir e combater não apenas a dengue, mas também outras arboviroses urbanas, como a Chikungunya (Severini *et al.*, 2018) e o Zika vírus (Boyer *et al.*, 2018).

Diversas estratégias de controle podem ser aplicadas rotineiramente para combater mosquitos de interesse em saúde. Algumas são realizadas pelos próprios moradores em suas residências, enquanto outras ficam sob responsabilidade dos Agentes de Controle de Endemias (ACE) ou dos Agentes Comunitários de Saúde (ACS). As ações podem ser agrupadas em quatro principais categorias: mecânicas, legais, químicas e biológicas (Braga; Valle, 2007).

O controle mecânico consiste em ações que visam impedir a reprodução do vetor, por meio da eliminação ou proteção dos criadouros. Essas atividades, sob orientação dos ACE/ACS, devem ser preferencialmente executadas pelos moradores. A gestão municipal também pode colaborar com o controle mecânico, por meio da ampliação dos serviços de coleta de resíduos sólidos, da destinação adequada de pneus em parceria com a iniciativa privada e da vedação de depósitos de água com tampas ou capas apropriadas (Medronho, 2008).

O controle legal refere-se à criação e aplicação de normas municipais que fortaleçam as ações de combate ao *A. aegypti*. Entre essas medidas, estão a responsabilização de proprietários de terrenos baldios e a autorização legal para que os ACE/ACS tenham acesso a imóveis fechados ou abandonados (Carvalho *et al.*, 2017).

O controle químico compreende o uso de inseticidas conforme as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS). A aplicação dessas substâncias deve ser feita com responsabilidade, de forma a minimizar impactos ambientais e reduzir o risco de seleção de resistência nos mosquitos aos compostos utilizados (Benelli *et al.*, 2016).

Diante dos impactos ambientais e da resistência adquirida pelos mosquitos a inseticidas químicos, os inseticidas biológicos surgem como alternativa eficaz e sustentável. O controle biológico baseia-se no uso de agentes naturais, como predadores (peixes e invertebrados aquáticos) e patógenos (bactérias, fungos e parasitas), para reduzir a população de mosquitos (Braga & Valle, 2007; Brasil, 2024b). Os produtos biológicos são formulados a partir de microrganismos ou substâncias naturais com capacidade de controlar pragas sem afetar organismos não-alvo (Glare *et al.*, 2012). Os inseticidas biológicos têm a vantagem de serem menos tóxicos ao meio ambiente, não deixarem resíduos perigosos e de apresentarem menor risco de induzir resistência nos vetores. Além disso, representam uma alternativa ambientalmente segura aos inseticidas químicos convencionais (Lacey, 2007; Regis *et al.*, 2001).

Os principais bioinseticidas utilizados para combate de vetores mosquitos e moscas são a base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) (Lacey, 2017), que atuam de forma seletiva sobre larvas da família Culicidae. O (Bti) é amplamente utilizado em programas de controle vetorial devido à sua eficácia e baixa toxicidade para organismos não alvo (Boyce *et al.*, 2013). O Bti é eficaz no controle de diversas espécies de mosquitos, como *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta* e *Psorophora*. Sua ação ocorre ainda na fase larvária, impedindo que as larvas completem seu desenvolvimento e se tornem insetos adultos (Setha *et al.*, 2016). Assim, o Bti interrompe o ciclo reprodutivo desses vetores, contribuindo significativamente para a redução de surtos de doenças transmitidas por mosquitos, como dengue, zika,

chikungunya e malária.

Um dos agentes biológicos com BTI utilizados no combate dos vetores é o VectoBac® 12 AS, com formulação do tipo AS – solução aquosa de pronto uso, cujo princípio ativo é o *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelense* (Bti) Cepa AM65-52 . Sua ação ocorre ainda na fase larvária, impedindo que as larvas completem seu desenvolvimento e se tornem insetos adultos. O tratamento deve ser realizado diretamente em corpos d'água ou sistemas de distribuição onde há eficácia de larvas, interrompendo seu desenvolvimento e reduzindo a população do vetor (Sumitomo Chemical, 2023).

O VectoBac® 12 AS é valorizado por várias razões, incluindo sua aplicação prática e descomplicada, a eficácia seletiva na eliminação de larvas de mosquitos e a longa duração de seus efeitos. Em termos de toxicidade, o VectoBac® 12 AS é classificado como de toxicidade aguda por via oral e dérmica na Categoria 5. A toxicidade aguda por inalação é considerada irrelevante, pois o produto não é gasoso. Além disso, é classificado como corrosivo e irritante à pele, pertencendo à Categoria 3 (Sumitomo Chemical, 2023). Esse produto é eficaz no controle de diversas espécies de mosquitos, e a indicação muda dependendo do documento. Na ficha técnica da Fitosistema (Fitosistema, 2024) e na autorização de venda (Direção-Geral da Saúde, 2016) está escrito que pode ser usado para estágios larvares L1 a L4 de *Aedes* sp., *Anopheles* sp., *Culex* sp., *Culiseta* sp. e *Ochlerotatus* sp. e larvas em todos os estágios em mosquitos da família Simuliidae (mosca negra *Simulium* sp.). No folheto de divulgação, consta que é para *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta* e *Psorophora* (Kenogard, 2019). Em um folder e na Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ, 2019) consta que é para o controle de *A. aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e *Simulium pertinax*. Em outra ficha técnica, o mesmo produto é indicado apenas para borrachudos, sem referência ao gênero, embora informe na descrição a toxicidade para *A. aegypti* (Sumitomo Chemical, 2023).

1.1 PEIXE-ZEBRA

Na Universidade de Oregon, nos Estados Unidos, George Streisinger, biólogo e professor foi reconhecido por introduzir o peixe-zebra como um modelo animal na pesquisa científica. Ele identificou as vantagens do uso deste peixe em estudos genéticos e, em 1981, publicou um artigo na revista Nature que é considerado um marco na medicina translacional (Streisinger, 1981). Além disso, pesquisas envolvendo o peixe-zebra resultaram na conquista de dois prêmios Nobel. No Brasil o peixe-zebra é conhecido também como Paulistinha, devido às semelhanças com as listras da bandeira de São Paulo (Gheno *et al.*, 2016).

O peixe-zebra (*Danio rerio*) é um pequeno peixe de água doce nativo do sudeste da Ásia. Ele mede geralmente cerca de 3 a 4 cm de comprimento (Silveira *et al.*, 2012), é nativo de rios, riachos e corpos d'água com correnteza na Índia, Paquistão, Bangladesh, Nepal e Myanmar. Possui listras horizontais que se estendem da cabeça à cauda (Ribeiro *et al.*, 2022). Cerca de 70% dos genes do peixe-zebra têm homólogos humanos (Howe *et al.*, 2013), tornando-o útil para estudos genéticos e de doenças humanas (Ghenot *et al.*, 2016).

Ao longo dos anos, o peixe-zebra tornou-se um dos organismos modelo mais utilizados em várias áreas de pesquisa. Este pequeno peixe tem sido fundamental em estudos de genética, ecotoxicologia, toxicologia, biologia do desenvolvimento, teratologia, biomedicina, etologia e carcinogênese, entre outros. A sua popularidade e utilidade como modelo de estudo são amplamente reconhecidas (Ribeiro *et al.*, 2022), (inclusive para estudos sobre a contaminação ambiental especificando efeitos da exposição a hormônios (Fortuna *et al.*, 2024; Tamagno *et al.*, 2022) agrotóxicos (Chaulet *et al.*, 2019) fármacos (Alves *et al.*, 2023; Kalichak *et al.*, 2019) e demais poluentes emergentes.

O comportamento é um excelente parâmetro de monitoramento ambiental, pois alterações comportamentais ocorrem de forma direta e podem nos demonstrar o efeito imediato da contaminação das águas (Pompermaier *et al.*, 2020). O teste do tanque novo avalia parâmetros de locomoção, exploração e ainda o comportamento de medo ou ansiedade dos peixes. Através desse teste conseguimos avaliar a tendência natural do animal para explorar ou evitar um novo ambiente. Esse teste é amplamente utilizado em peixes-zebra (Kysil *et al.*, 2017). O teste da preferência social é realizado no mesmo aparato experimental do tanque novo, no entanto, avalia a preferência do peixe pelo cardume. Através das análises desse teste conseguimos entender se determinado composto pode alterar a preferência do animal em estar com seus co-específicos, e os impactos dessas alterações comportamentais (Kirsten *et al.*, 2018). Por ser um modelo amplamente utilizado em estudos relacionados à toxicologia e a contaminação ambiental, o peixe-zebra é uma excelente opção para pesquisas que exijam a exposição a substâncias diluídas em água, ajudando nas avaliações dos impactos de diversos poluentes (Brito *et al.*, 2022), incluindo o inseticida como o VectoBac® 12 AS.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se o bioinseticida VectoBac® 12 AS altera o comportamento exploratório e anti-predatório de peixes-zebra adultos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar se a contaminação da água com o bioinseticida VectoBac® 12 AS altera o comportamento exploratório dos peixes-zebra adultos.

Avaliar se a contaminação da água com o bioinseticida VectoBac® 12 AS altera a preferência social dos peixes-zebra adultos.

3. METODOLOGIA

3.1 LOCAL DO ESTUDO

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Erechim.

3.2 ORGANISMO MODELO E CONDIÇÕES DE MANUTENÇÃO

Foram utilizados para este projeto peixes-zebra adultos, adquiridos comercialmente, do fenótipo selvagem, com idade entre 6-12 meses. Os peixes foram aclimatados por um período de 40 dias, antes de serem utilizados nos testes. Nesse período eles permaneceram na densidade de um exemplar para cada 1,5 litro de água, em aquários com 40 litros de capacidade. A aeração foi constante, a temperatura controlada (26°C), e com fotoperíodo artificial de 14h (claro) / 10 h escuro). Os animais foram alimentados com ração comercial (42% de proteína bruta, 3400 kcal/Kg) 2 vezes ao dia (08h e 17h). As condições físico-químicas da água foram verificadas periodicamente e adequadas conforme necessidade.

3.3 EXPOSIÇÃO

Foi utilizada para exposição o bioinseticida VectoBac® 12 AS, com uma amostra concedida pela Vigilância Ambiental na cidade Erechim, RS. Sua formulação é baseada na bactéria *Bacillus thuringiensis*, sorotipo *israelenses*, cepa AM65-52, apresentando uma concentração de 1200 UTI/mg ou 923,96 g/L, (Sumitomo Chemical, 2023).

O VectoBac® é aplicado em doses de 0,5 a 25 ppm por 1 minuto, 0,05 a 2,5 ppm por 10 minutos em água corrente, ou 0,25 – 2,5 L/há. Para esse estudo foram consideradas as doses mais baixas de 1,5 L/ha e mais altas de 2,5 L/ha para mosquitos, seguindo a Ficha Técnica do produto, e calculado para o tamanho do bequer de 1 L, que foi usado para a exposição. Por esse cálculo, chegamos à indicação de 1,42 e 2,37 µ/L. Como não foram encontrados estudos com peixes, nos baseamos no estudo de Gutierrez-Villagomez *et al.* (2021) com anfíbios, que também realizou cálculos a partir da taxa de aplicação do produto, testando entre 0,25 a 10 µ/L. Dessa maneira, optamos pelas concentrações de 1,5, 2,5 e 10 µ/L de Vectobac,

A exposição dos animais foi realizada de forma aguda em béckeres de 1L, um peixe por vez, por 30 minutos (Pompermaier *et al.*, 2020). Logo após a exposição, os animais foram colocados nos aquários para teste. O grupo controle foi colocado em água, sem o

produto, também em bécker de 1 L. A água do tanque de teste (descrição abaixo) não continha nenhuma substância e foi trocada para cada peixe testado.

3.4 AVALIAÇÕES COMPORTAMENTAIS

Os testes do tanque novo e da preferência social foram realizados de forma conjunta, conforme descrito em Kirsten *et al.* (2018). O tanque novo foi realizado primeiro e consistiu em colocar um peixe em um tanque de teste (24×8×20 cm; largura x profundidade x altura) que possuía duas laterais fechadas por partições opacas posicionadas entre os tanques. O comportamento do animal foi filmado por seis minutos (1 min aclimatação + 5 min exploração) e os parâmetros avaliados foram: distância percorrida no topo e no fundo (m), latência no topo (m), número de entradas no topo (m), tempo na zona superior e no fundo (s), distância total percorrida (m) e ângulo de giro. Para o tanque novo, o aquário foi dividido virtualmente em três quadrantes horizontais (topo, meio e fundo).

Ao final do teste do tanque novo, as partições laterais foram cuidadosamente removidas para avaliar a preferência social do peixe de modo que em um lado do tanque ficou apenas como água e outro lado, 15 co-específicos de sexos mistos. O aquário foi dividido em três quadrantes verticais, sendo o primeiro segmento o mais próximo aos co-específicos e o terceiro segmento, o mais próximo ao aquário somente com água. O comportamento do animal foi filmado por 60 segundos para avaliar sua preferência pelo lado vazio ou pelos co-específicos. Para a preferência social. Os parâmetros avaliados para os testes da preferência social são as entradas no segmento próximo ao cardume, o tempo próximo ao cardume, a latência para o segmento próximo ao cardume, distância total percorrida, distância próxima ao cardume. Foram avaliados 20 peixes por grupo, sem repetição. Os vídeos foram gravados com uma webcam Logitech 920c e analisados no software EthoVision XT.

3.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos foram analisados pelo software estatístico GraphPad® Prism versão 8.01 (GraphPad, EUA). Para analisar o comportamento dos animais foi utilizada ANOVA de uma via, seguida do teste post-hoc de Duunet (para dados paramétricos) ou Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc de Dunn (para dados não-paramétricos). O valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

O presente projeto foi submetido para análise da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Fronteira Sul, conforme orientação do Conselho Nacional de

Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado sob nº 1269041024.

4 RESULTADOS

4.1 Teste do Tanque Novo

A exposição ao VectoBac® na concentração de 10 $\mu\text{g/L}$ aumentou a distância percorrida no topo (Fig. 1C), reduziu a latência para o topo (Fig. 1E), aumentou o número de entradas no topo (Fig. 1F) e elevou o tempo na zona superior (Fig. 2G). Os demais parâmetros distância total percorrida (Fig. 1A), distância percorrida no fundo (Fig. 1B), ângulo de giro absoluto (Fig. 1D) e tempo no fundo (Fig. 1H) não foram alterados pela exposição.

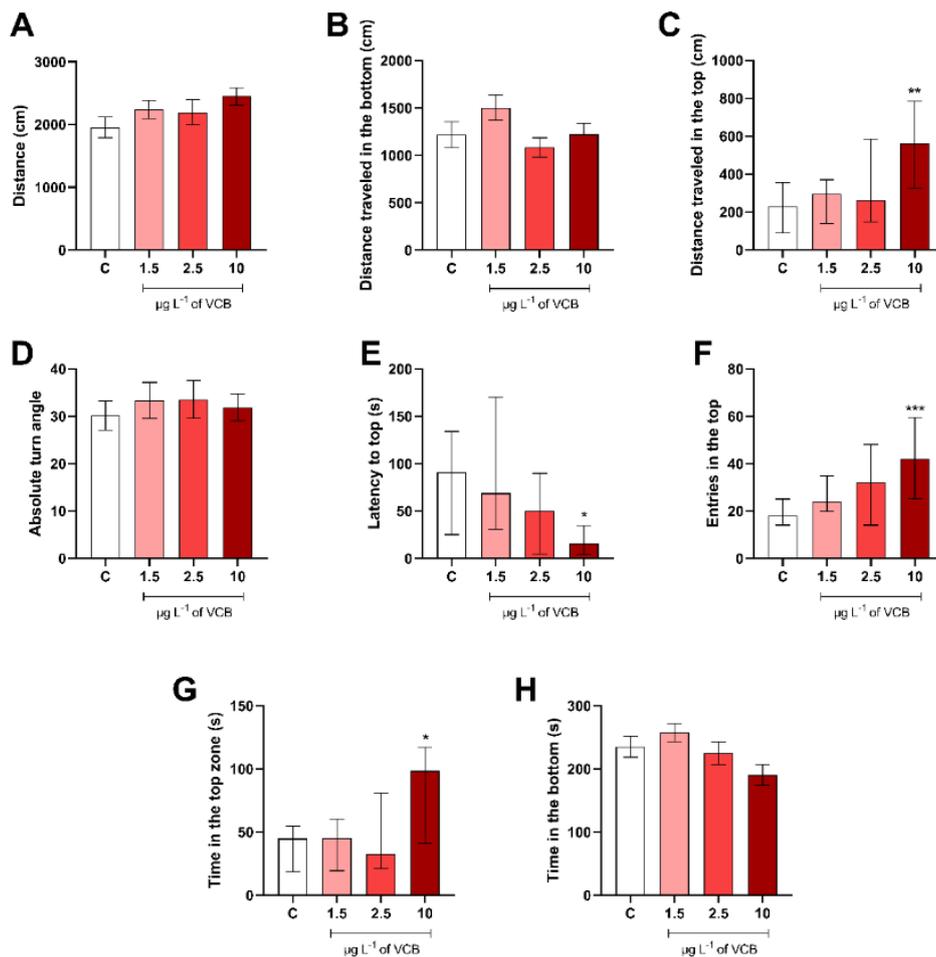


Figura 1. Teste do tanque novo em peixes-zebra expostos a diferentes concentrações de VectoBac® (VCB). Os asteriscos indicam diferenças estatísticas sobre o grupo controle (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$; $N = 20$). Os dados dos painéis A, B, D e H foram avaliadas por anova de uma via seguido de Dunnet's e são representados pela média +SEM. Os dados dos painéis C, F, G e E foram avaliados por Kruskal-Wallis seguido de Dunn's e os dados são representados pela média e intervalo interquartil.

4.2 Teste de preferência social

A exposição ao VectoBac® diminuiu as entradas no segmento próximo ao cardume na concentração 1,5 $\mu\text{g/L}$ (Fig. 2C), aumentou o tempo próximo ao cardume na concentração 10 $\mu\text{g/L}$ (Fig. 2D), e diminuiu a latência para o segmento próximo ao cardume em todas as concentrações testadas (Fig. 2E). A exposição ao produto biológico não alterou a distância total percorrida (Fig 1A) e a distância próxima ao cardume (Fig 1B).

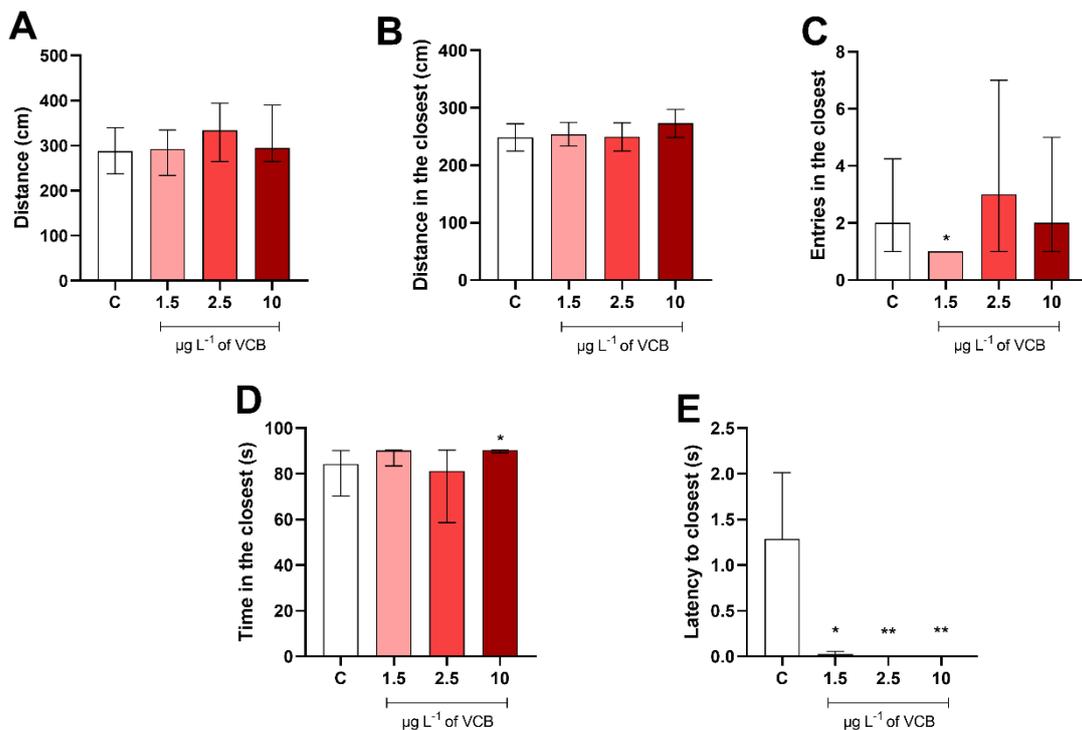


Figura 2. Teste de interação social em peixes-zebra expostos a diferentes concentrações de VectoBac® (VCB). Os asteriscos indicam diferenças estatísticas sobre o grupo controle (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$; $N = 20$). Os dados do painel B foram avaliados por anova de uma via seguido de Dunnett's e são representados pela média +SEM. Os dados dos painéis A, C, D e E foram avaliados por Kruskal-wallis seguido de Dunn's e os dados são representados pela média e intervalo interquartil.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, demonstramos que a exposição ao produto biológico VectoBac® 12AS provocou alterações no comportamento exploratório do peixe-zebra, sugerindo um claro efeito ansiolítico, sem comprometer a preferência social. No teste do tanque novo (NTT) os peixes expostos a concentração de 10 µg/L tiveram menor latência para o topo, entraram mais vezes no topo, percorreram maior distância e ficaram mais tempo no topo. A menor latência para o topo indica uma resposta comportamental menos inibitória frente ao desafio do novo ambiente que representa o NTT. Além disso, o aumento da distância percorrida no topo pode refletir um estado de maior exploração e menor inibição locomotora, reforçando o perfil comportamental observado.

No NTT espera-se que os peixes apresentem maior latência para subir ao topo, já que precisam reconhecer o ambiente antes de explorá-lo e evitar possíveis riscos que esse ambiente novo pode oferecer. Nessa linha, também se espera uma maior permanência no fundo, como uma resposta defensiva e representa um comportamento típico de evitação (Jhonson *et al.*, 2023). Além disso, espera-se também um menor número de entradas, tempo e distância no topo, pois a área do topo é considerada como uma área de risco para os peixes (Kysil *et al.*, 2017; Bridi *et al.*, 2017). De fato, todos esses parâmetros foram alterados com a exposição ao VectoBac®.

O comportamento exploratório e defensivo dos peixes está diretamente ligado à sobrevivência, alterações como essas podem ter consequências ecológicas relevantes, tomando os indivíduos potencialmente mais vulneráveis à predação devido à maior visibilidade ou percepção reduzida de áreas de risco (Mesa *et al.* 1994; Weis *et al.* 2001). Quando ocorrem prejuízos em comportamentos padrões dos peixes, o predador pode ser favorecido, o que acaba por diminuir a aptidão das espécies de presas e, conseqüentemente, afetar a cadeia alimentar (Stewart *et al.* 2013; Colwill & Creton 2011).

Além disso, efeitos ansiolíticos em concentrações ambientais relevantes sugerem que mesmo produtos classificados como biológicos, como o VectoBac®, podem influenciar vias neurocomportamentais sensíveis, afetando o equilíbrio de espécies não-alvo. Esses achados reforçam a importância de considerar respostas subletais e comportamentais em avaliações ecotoxicológicas, uma vez que elas podem preceder efeitos mais graves em nível populacional e ecossistêmico.

Nessa linha, outros estudos têm investigado o efeito de produtos à base de *Bacillus* nos peixes. A exposição a mistura larvicida de inibidor de tripsina de *Leucaena leucocephala* e

protoxinas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) em embriões de peixe-zebra revelou que a exposição não causou mortalidade nem alterações morfológicas no desenvolvimento embrionário e larval, mas ela foi capaz de inibir fortemente a atividade das proteases intestinais (tripsina) do peixe, mesmo em concentrações próximas às usadas como larvicidas (Gonçalves *et al.*, 2023). Outro estudo avaliou um biopesticida à base de *B. thuringiensis* (Bt) em *Arapaima gigas* e os animais sofreram alterações histopatológicas no fígado e nos rins que variaram de leves a graves e foram caracterizadas pela presença de vacuolização citoplasmática, hipertrofia e atrofia nuclear, centros de melanomacrófagos e necrose, e no intestino, alterações no número de vilosidades e células calciformes (Mariano *et al.*, 2021). Além disso, um estudo com larvas de peixe-zebra expostas a um biopesticida a base de *B. thuringiensis israelensis* (BTI) demonstrou que a exposição ao BTI afetou a resposta optomotora dos peixes (Padilha *et al.*, 2024).

Ainda são escassos os estudos que demonstram o efeito dos produtos à base de *Bacillus* nos peixes e demais organismos aquáticos não-alvo, inclusive que elucidem os possíveis mecanismos envolvidos nos efeitos observados sobre os peixes. Aqui nós não avaliamos os níveis moleculares da atuação do VectoBac®, e reconhecemos isso como uma limitação do nosso estudo, no entanto, sabemos que os agrotóxicos possuem ação direta sobre o efeito da enzima acetilcolinesterase (AChE) (Pompermaier *et al.*, 2022; Tamagno *et al.*, 2023). Contudo, por mais que os produtos à base *Bacillus* não possuam a mesma composição química que os agrotóxicos convencionais, não podemos descartamos possíveis impactos sobre o estresse oxidativo, AChE, ou até mesmo que o VectoBac® possa ser um desregulador endócrino do eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HPI), tendo em vista que os efeitos aqui observados se alinham com alterações observadas para importantes herbicidas comerciais como o glifosato (Chaulet *et al.*, 2019, Pompermaier *et al.*, 2022).

Quanto à avaliação da preferência social, apenas os peixes expostos à concentração de 1,5 µg/L tiveram diminuição das entradas no segmento mais próximo ao cardume. Não foram observadas alterações na distância total percorrida, movimentação no fundo, ângulo de giro absoluto ou tempo na zona inferior do tanque, o que sugere que o VectoBac® não comprometeu a atividade locomotora dos animais, reforçando que os efeitos observados são específicos do comportamento exploratório. Apesar de não termos observados alterações claras de prejuízo no comportamento social, não podemos ignorar que em outras concentrações e em um tempo maior de exposição esse parâmetro pode ser prejudicado.

Os achados do presente trabalho indicam que a exposição ao bioinseticida pode induzir um efeito ansiolítico nos peixes, o que pode torná-los mais suscetíveis à predação, facilitando sua captura. Em condições normais, o peixe-zebra apresenta um padrão comportamental

previsível ao ser introduzido em um ambiente novo. No entanto, alterações nesse comportamento, como as observadas em nosso estudo, podem comprometer sua capacidade de defesa, aumentando sua vulnerabilidade à predação e, conseqüentemente, colocando a espécie em risco (Thapa *et al.*, 2024), além de gerar impactos negativos sobre o equilíbrio do ecossistema. Estudos indicam que os esporos viáveis de BTI podem persistir por meses no ambiente após um tratamento (Duchet *et al.*, 2014, Poulin *et al.*, 2022) o que pode impactar organismos não alvo. Concordamos com Bordalo *et al.*, (2021) que a investigação ecotoxicológica sobre o Bti precisa de ser mais aprofundada, devido ao risco potencial para vários organismos aquáticos e à aplicação regular em campo, muitas vezes múltiplas vezes e em quantidades elevadas.

6 CONCLUSÃO

Aqui demonstramos que o VectoBac®, um biopesticida utilizado no controle de mosquitos e moscas, induzem efeitos ansiolíticos significativos em peixes-zebra mesmo em baixas concentrações de 1,5 µg/L, alterando comportamentos essenciais para a sobrevivência e manutenção da espécie. Apesar de ter como características o baixo risco ambiental e a não acumulação no meio ambiente os efeitos aqui observados podem resultar em um impacto ambiental significativo a longo prazo e ressaltam a necessidade de estudos que avaliem a toxicidade de compostos orgânicos sobre os organismos não-alvo, principalmente a fauna aquática que pode ser exposta a essas substâncias.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C. *et al.* Neurotoxicological effects of venlafaxine on *Caenorhabditis elegans* and *Danio rerio*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 271, p. 109658, 2023.
- ANVISA. **Todos juntos para combater o mosquito *Aedes aegypti***. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2024/todos-juntos-para-combater-o-mosquito-aedes-aegypti>. Acesso em: 27 maio 2024.
- ARMSTRONG, Philip M.; ANDREADIS, Theodore G. Eastern Equine Encephalitis Virus — Old Enemy, New Threat. **New England Journal of medicine**, v. 368, n. 18, p. 1670–1673, 2 maio 2013.
- BAIA-DA-SILVA, D. C. *et al.* Current vector control challenges in the fight against malaria in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. e20180542, 2019.
- BENELLI, G.; JEFFRIES, C. L.; WALKER, T. Biological control of mosquito vectors: Past, present, and future. **Insects**, v. 7, n. 4, p. 1–18, 2016.
- BENTES, Aline Almeida; COSTA, Gabriela Araujo; TEIXEIRA, Daniela Caldas. Population dynamics, structure and behavior of *Anopheles darlingi* in a rural settlement in the Amazon rainforest of Acre, Brazil. **Boletim Científico**, v. 44, 7 abr. 2017.
- BORDALO, M. D. *et al.* Responses of benthic macroinvertebrate communities to a Bti-based insecticide in artificial microcosm streams. **Environmental pollution**, v. 282, p. 117030, 2021.
- BOYCE, R.; LENHART, A.; KROEGER, A.; VELAYUDHAN, R.; ROBERTS, B.; HORSTICK, O. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review. **Tropical Medicine & International Health, Oxford**, v. 18, n. 5, p. 564–577, 2013.
- BOYER, S. *et al.* An overview of mosquito vectors of Zika virus. **Microbes and Infection**, v. 20, n. 11–12, p. 646–660, 2018.
- BRADY, O. J. *et al.* Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 8, e1760, 2012.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** 2007, v. 16, n. 2, p. 113–118, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde MS. Boletim Epidemiológico. v. 55, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-11.pdf/view>. Acesso em: 20 de jun 2024.

BRASIL. COMBATE À DENGUE: entenda o que é e o que faz o Centro de Operações de Emergência de Saúde Pública. 2024b. Disponível em: /saude/pt-br/assuntos/saude-com-ciencia/noticias/2024/fevereiro/combate-a-dengue-entenda-o-que-e-e-o-que-faz-o-centro-de-operacoes-de-emergencia-de-saude-publica. Acesso em: 28 de mai 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde anuncia estratégia de vacinação contra a dengue. 2024a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/janeiro/ministerio-da-saude-anuncia-estrategia-de-vacinacao-contr-a-dengue>. Acesso em: 28 de mai 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 158 p. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf. Acesso em: 23 maio 2025.

BRIDI, D.; ALTENHOFEN, S.; GONZALEZ, J. B.; REOLON, G. K.; BONAN, C. D. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. **Toxicology**, v. 392, p. 32–39, 2017.

BRITO, R. *et al.* Transgenic zebrafish (*Danio rerio*) as an emerging model system in ecotoxicology and toxicology: Historical review, recent advances, and trends. **Science of the Total Environment**, v. 848, n. July, p. 157665, 2022.

CALEIRO, Giovana Santos *et al.* Yellow Fever Virus (YFV) Detection in Different Species of Culicids Collected During an Outbreak in Southeastern Brazil, 2016–2019. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 10, n. 5, p. 118, 24 abr. 2025.

CARVALHO, M. S. *et al.* *Aedes aegypti* control in urban areas: A systemic approach to a complex dynamic. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–15, 2017.

CHAULET, F. DA C. *et al.* Glyphosate- and Fipronil-Based Agrochemicals and Their Mixtures Change Zebrafish Behavior. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 3, p. 443–451, 2019.

COLWILL, R. M.; CRETON, R. Locomotor behaviors in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. **Behavioural Processes**, v. 86, p. 222–229, 2011.

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

COSTA, E. A. P. A. *et al.* *Aedes aegypti* in Southern Brazil: spatiotemporal distribution dynamics and association with climate and environmental factors. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, Basel, v. 8, n. 2, p. 77, 2023.

DELNAT, Vienna *et al.* Daily temperature variation magnifies the toxicity of a mixture consisting of a chemical pesticide and a biopesticide in a vector mosquito. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 33–40, 1 abr. 2019.

DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. SUMITOMO CHEMICAL. *VectoBac® 12AS: ficha técnica*, 2016. Disponível em: <https://fitosistema.com/wp-content/uploads/2021/03/vectobac->

12AS_DGS.pdf. Acesso em: 28 mai. 2025.

DOCILE, Tatiana N.; FIGUEIRÓ, Ronaldo; GIL-AZEVEDO, Leonardo H.; NESSIMIAN, Jorge L. Water pollution and distribution of the black fly (Diptera: Simuliidae) in the Atlantic Forest, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 63, n. 3, p. 683–693, 2015.

DUCHET, C. *et al.* Persistence and recycling of bioinsecticidal *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* spores in contrasting environments: evidence from field monitoring and laboratory experiments. **Microbial ecology**, v. 67, p. 576–586, 2014.

FARAJOLLAHI, Ary *et al.* “Bird biting” mosquitoes and human disease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 7, p. 1577–1585, out. 2011.

FIOCRUZ. **ciclo_de_vida_aedes_aegypti**. 2019. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/pergunta/o-aedes-aegypti-so-se-alimenta-de-sangue>>. Acesso em: 29 mai 2024.

FISPQ. Sumitomo chemical do brasil. Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos: VectoBac® 12AS. Revisão 07. São Paulo: Sumitomo Chemical do Brasil, 2019. 13 p. Disponível em: https://sumitomochemical.com/wp-content/uploads/2019/12/FISPQ_VectoBac-12AS_Rev.07.pdf. Acesso em: 1 jun. 2025.

FITOSISTEMA. vectobac® 12as **ficha técnica**, 2024. Disponível em: <<https://fitosistema.com/vectobac-12-as/>>. Acesso em: 28 maio. 2025.

FONSECA, Dina M.; SMITH, Julie L.; WILKERSON, Richard C.; FLEISCHER, Robert C. Pathways of expansion and multiple introductions illustrated by large genetic differentiation among worldwide populations of the southern house mosquito. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 2, p. 284–289, fev. 2006.

FORTUNA, Milena, *et al.* Transgenerational Effects of the Levonorgestrel-Based Birth Control Pill in Zebrafish Offspring. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, vol. 110, p. 104540, 2024.

GHENO, E. M. *et al.* Zebrafish in Brazilian Science: Scientific Production, Impact, and Collaboration. **Zebrafish**, v. 13, n. 3, p. 217–225, 2016.

GLARE, T. R. *et al.* **Have biopesticides come of age?** *Trends in Biotechnology*, v. 30, n. 5, p. 250–258, 2012.

GONÇALVES, Íris Flávia Sousa *et al.* An innovative insecticidal approach based on plant protease inhibitor and Bt protoxins inhibits trypsin-like activity in zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 267, p. 109556, 1 maio 2023.

GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL. **Plano para enfrentamento da dengue e outras arboviroses (2020-2023)**. p. 1–46, 2020. Disponível em: https://www.saude.df.gov.br/documents/37101/0/Plano-de-enfrentamento-arboviroses_231222_161225+%281%29.pdf/3061d8c1-7d45-cb9b-7584-

5f49f9f73aff?t=1703339749606. Acesso em: 3 de jun 2024.

GUTIERREZ-VILLAGOMEZ, Juan Manuel; et al. Frogs respond to commercial formulations of the biopesticide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, especially their intestine microbiota. **Environmental Science & Technology**, v. 55, n. 18, p. 12504–12516, 2021.

HONÓRIO, N. A. et al. Impacto da urbanização na ecologia de mosquitos vetores de doenças. **Revista de Saúde Pública**, v. 53, p. 52, 2019.

HOWE, K. et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498–503, 2013.

JOHNSON, Andréa; et al. Examining behavioural test sensitivity and locomotor proxies of anxiety-like behaviour in zebrafish. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2023.

KALICHAK, F. et al. Persistent and transgenerational effects of risperidone in zebrafish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 25, p. 26293–26303, 2019.

KENOGARD. *VectoBac® 12AS: folheto informativo*. São Paulo: Sumitomo Chemical do Brasil, 2019. Disponível em: https://fitosistema.com/wp-content/uploads/2021/03/vectobac-12AS_G_folheto.pdf. Acesso em: 29 mai. 2025.

KIRSTEN, K. et al. Characterization of sickness behavior in zebrafish. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 73, n. April, p. 596–602, 2018.

KYSIL, E. V. et al. Comparative Analyses of Zebrafish Anxiety-Like Behavior Using Conflict-Based Novelty Tests. **Zebrafish**, v. 14, n. 3, p. 197–208, 2017.

LACEY, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Mount Laurel, v. 23, n. 2 Suppl, p. 133–163, 2007.

LACEY, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 33, n. 4, p. 241–286, 2017.

LARA, J. T. DE. The emergence of dengue as a virological challenge: from phantom disease to “pet” endemic, 1986-1987. **Historia, Ciências, Saude - Manguinhos**, v. 29, n. 2, p. 317–336, 2022.

LIS, Paula C. et al. Susceptibility of Simuliidae (Diptera) larvae to a new Bti-based solid formulation in Cascavel, Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 42, 2025.

LOPES, Ramon Pereira; LIMA, José Bento Pereira; MARTINS, Ademir Jesus. Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 in Brazil: A review. **Parasites and Vectors** BioMed Central Ltd. 18 dez. 2019.

- Mariano, W. S., *et al.* "Can a Biopesticide Based on *Bacillus thuringiensis* Affect the Physiology and Histomorphology of *Arapaima gigas*?" **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol. 93, suppl. 4, e20201715, 2021.
- Medeiros EA. Desafios no controle da epidemia da dengue no Brasil [editorial]. *Acta Paul Enferm.* 2024.
- MEDRONHO, R. D. A. Dengue no Brasil: Desafios para o seu controle. **Cadernos de Saude Publica**, v. 24, n. 5, p. 948–949, 2008.
- MENDONÇA, F. DE A.; SOUZA, A. V. E; DUTRA, D. DE A. Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. **Sociedade & Natureza**, v. 21, n. 3, p. 257–269, 2009.
- MESA, M. G.; POE, T. P.; GADOMSKI, D. M.; *et al.* Are all prey created equal? A review and synthesis of differential predation on prey in substandard condition. **Journal of Fish Biology**, v. 45, p. 81–96, 1994.
- NASIM, A. *et al.* Clinical presentation and outcome of dengue viral infection in live-related renal transplant recipients in Karachi, Pakistan. **Transplant Infectious Disease**, v. 15, n. 5, p. 516–525, 2013.
- Padilha, R. M. O., *et al.* Assessment of Toxicity of Pyriproxyfen, *Bacillus thuringiensis*, and Malathion and Their Mixtures Used for Mosquito Control on Embryo-Larval Development and Behavior of Zebrafish. **Environmental Science and Pollution Research**, vol. 31, 2024, pp. 42672–42685, 2024.
- POMPERMAIER, A. *et al.* Waterborne agrichemicals compromise the anti-predatory behavior of zebrafish. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 31, p. 38559–38567, 2020.
- POMPERMAIER, A., TAMAGNO, W. A., ALVES, C., & BARCELLOS, L. J. G. Persistent and transgenerational effects of pesticide residues in zebrafish. 2022. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 262. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109461>.
- POULIN, B. *et al.* Long-term persistence and recycling of *Bacillus thuringiensis israelensis* spores in wetlands sprayed for mosquito control. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 243, p. 114004, 2022.
- REGIS, L. *et al.* Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. **Trends in Parasitology, Oxford**, v. 17, n. 8, p. 377–380, 2001.
- REIS, Lúcia Aline Moura *et al.* Genus *Culex* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae) as an Important Potential Arbovirus Vector in Brazil: An Integrative Review. **LifeMultidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)**, , 1 nov. 2023.
- RIBEIRO, O. *et al.* O peixe-zebra (*Danio rerio*) como modelo emergente na ecotoxicologia. **Revista de Ciência Elementar**, v. 10, n. 2, p. 1–10, 2022.
- RUIZ-GARCIA, Manuel; RAMIREZ, Diana; BELLO, Felio; ALVAREZ, Diana. *Psorophora*

columbiae and *Psorophora toltectum* (Diptera: Culicidae) Colombian populations cannot be differentiated by isoenzymes. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 2, n. 2, p. 229–259, 30 jun. 2003.

SETHA, To *et al.* Bacterial Larvicide, *Bacillus thuringiensis israelensis* Strain AM 65-52 Water Dispersible Granule Formulation Impacts Both Dengue Vector, *Aedes aegypti* (L.) Population Density and Disease Transmission in Cambodia. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, 14 set. 2016.

SEVERINI, F. *et al.* Vector competence of Italian *Aedes albopictus* populations for the chikungunya virus (E1-226V). **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 4, p. 1–14, 2018.
SHEPARD, D. S. *et al.* Approaches to Refining Estimates of Global Burden and Economics of Dengue. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 11, p. 18–20, 2014.

SILVEIRA, T. R. DA; SCHNEIDER, A. C.; HAMMES, T. O. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 2, p. 4–5, 2012.

SINKA, Marianne E. *et al.* A global map of dominant malaria vectors. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 69, 2012.

STEWART, W. J.; CARDENAS, G. S.; MCHENRY, M. J. Zebrafish larvae evade predators by sensing water flow. *Journal of Experimental Biology*, v. 216, p. 388–398, 2013.

STREISINGER, George; WALKER, Charline; DOWER, Nancy; KNAUBER, Donna; SINGER, Fred. Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*. **Macmillan Journals Ltd.** v. 291, p. 293–296, 28 maio 1981.

SUMITOMO CHEMICAL. Ficha de Dados de Segurança: VectoBac® 12AS. São Paulo: Sumitomo Chemical Brasil, nov. 2023. Disponível em: https://www.sumitomochemical.com/wp-content/uploads/2023/11/Vectobac_12AS_FDS.pdf. Acesso em: 23 maio 2025.

TAMAGNO, W. A. *et al.* Synthetic estrogen bioaccumulates and changes the behavior and biochemical biomarkers in adult zebrafish. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 92, n. December 2021, 2022.

TAMAGNO, W. A.; *et al.* Household based-pyrethroids on adult zebrafish (*Danio rerio*) exert behavioral and cholinergic changes in different brain regions. **NeuroToxicology**, v. 96, 2023.

THAPA, Himal *et al.* Background predation risk induces anxiety-like behaviour and predator neophobia in zebrafish. **Animal Cognition**, v. 27, n. 1, p. 69, 23 out. 2024.

VENKATESAN, Priya. The 2023 WHO World malaria report. **The Lancet Microbe**, v. 5, n. 3, p. e214, mar. 2024.

VIEIRA, R. DA S.; BASTOS, P. R. H. D. O. Impacto Econômico do Tratamento de Pacientes com Dengue no Brasil: uma Revisão Sistemática. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 5- esp., p. 678–683, 2021.

WEIS, J. S.; SMITH, G.; ZHOU, T.; *et al.* Effects of contaminants on behavior: biochemical mechanisms and ecological consequences: killifish from a contaminated site are slow to capture prey and escape predators; altered neurotransmitters and thyroid may be responsible for this behavior, which may produce population changes in the fish and their major prey, the grass shrimp. **BioScience**, v. 51, p. 209–217, 2001.

Wilk-da-Silva, Ramon, *et al.* "Influence of Landscape Composition and Configuration on the Richness and Abundance of Potential Sylvatic Yellow Fever Vectors in a Remnant of Atlantic Forest in the City of São Paulo, Brazil." **Acta Tropica**, vol. 204, p. 105385, 1 Apr. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Dengue and severe dengue**. 2024.
Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
Acesso em: 31 maio 2025.

ZARA, A. L. DE S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Único de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.