

Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" (UNESP)
Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campus de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia

ISABEL FERREIRA BONFIM

**Avaliação da atratividade de flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae)
para um *blend* de compostos orgânicos voláteis emitidos por cães infectados com
*Leishmania infantum***

Araraquara
2025

ISABEL FERREIRA BONFIM

**Avaliação da atratividade de flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae)
para um *blend* de compostos orgânicos voláteis emitidos por cães infectados com
*Leishmania infantum***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Parasitologia.

Área de concentração: Análises clínicas

Orientadora: Dra. Mara Cristina Pinto

Coorientador: Dr. Jairo Torres Magalhães Junior

Araraquara
2025

-
- B713a** Bonfim, Isabel Ferreira.
Avaliação da atratividade de flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) para um *blend* de compostos orgânicos voláteis emitidos por cães infectados com *Leishmania infantum* / Isabel Ferreira Bonfim – Araraquara, 2025.
45 f. : il.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de concentração: Análises clínicas.
- Orientadora: Mara Cristina Pinto.
Coorientador: Jairo Torres Magalhães Junior.
1. Flebotomíneos. 2. Atração. 3. Semioquímico. 4. Cairomônio.
I. Pinto, Mara Cristina, orient. II. Magalhães Junior, Jairo Torres, coorient. III. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030081P7
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: “Avaliação da atratividade de flebotômíneos *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae) para um blend de compostos orgânicos voláteis emitidos por cães infectados com *Leishmania infantum*”

AUTORA: ISABEL FERREIRA BONFIM

ORIENTADORA: MARA CRISTINA PINTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARA CRISTINA PINTO (Participação Presencial)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da Unesp

Profa. Dra. EUNICE APARECIDA BIANCHI GALATI (Participação Virtual)
Departamento de Epidemiologia / Faculdade de Saúde Pública – FSP/USP

Dr. REGINALDO PEÇANHA BRAZIL (Participação Virtual)
Doenças Parasitárias / Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ

Araraquara, 17 de julho de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua infinita graça e misericórdia. Louvado seja! À minha orientadora, Profa. Dra. Mara Cristina Pinto,

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Jairo Torres Magalhães Junior,

Aos meus pais, Ana e Wandilson, e aos meus irmãos, Wanderson e Victor, À minha noiva, Esthefany,

Aos meus sobrinhos, Elisa e Lucas,

Aos amigos-irmãos Ney, Thailan e Mireya,

Aos parceiros de laboratório Jociel e Matheus, e a todos os amigos do Laboratório de Parasitologia da FCFar,

Ao Prof. Dr. João Aristeu,

Ao Prof. Dr. Christhiann Tosta e ao IFSP – Matão,

A todos os professores, técnicos e terceirizados da UNESP-FCFar.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Esse livro está repleto de areias pontudas...”
Rubem Alves

RESUMO

Cães infectados com *Leishmania infantum* produzem diferença nos compostos orgânicos voláteis emitidos em relação aos cães não infectados e são mais atrativos ao seu principal vetor, *Lutzomyia longipalpis*. Propõe-se que compostos atrativos são mais eficientes se apresentados em proporções aproximadas àsquelas encontradas naturalmente. O propósito deste trabalho foi avaliar a atratividade de flebotomíneos para um *blend* de cairomônios emitidos por cães infectados com *L. infantum*. A partir de um estudo prévio, foram identificados seis compostos biomarcadores nos pelos de cães infectados com *L. infantum*, e destes, cinco tiveram suas proporções estimadas a partir de cromatogramas. A formulação obtida destes cinco compostos: nonanal, decanal, octanal, heptadecano e 2-etilhexil salicilato foi avaliada quanto a sua atratividade para fêmeas de *Lu. longipalpis* em testes de atratividade em túnel de vento e em condições de campo. Fêmeas de *Lu. longipalpis* foram mais ativadas e atraídas pelo *blend* sintético quando apresentado nas concentrações a 50% e pura nos experimentos laboratoriais, quando comparado com o controle e octenol, conhecido como atrativo para flebotomíneos. A campo, armadilhas luminosas do tipo CDC obtiveram uma captura 2,08 vezes maior quando associadas ao *blend* puro como isca química. Das seis espécies de flebotomíneos identificadas após os experimentos de captura, *Lutzomyia longipalpis* foi a mais frequente nas armadilhas. Os compostos utilizados para simular o odor de cães infectados por *Leishmania infantum* parece influenciar o comportamento de fêmeas de *Lu. longipalpis*, como demonstrado anteriormente para o odor natural, tanto em condições controladas quanto em campo.

Palavras-chave: flebotomíneos; atração; semioquímico; cairomônio.

ABSTRACT

Dogs infected with *Leishmania infantum* emit distinct volatile organic compounds (VOCs) compared to uninfected dogs, making them more attractive to their primary vector, *Lutzomyia longipalpis*. It is hypothesized that attractive compounds are most effective when presented in proportions mimicking their natural occurrence. This study aimed to assess the attractiveness of sand flies to a synthetic blend of kairomones derived from *L. infantum* infected dogs. Building on a previous study, six biomarker compounds were identified in the hair of infected dogs; the proportions of five of these were estimated from chromatograms. The resulting blend of these five compounds: nonanal, decanal, octanal, heptadecane, and 2-ethylhexyl salicylate was evaluated for its attractiveness to female *Lu. longipalpis* in both wind tunnel assays and field conditions. In laboratory experiments, female *Lu. longipalpis* showed increased activation and attraction to the synthetic blend when presented at 50% and full (pure) concentrations, when compared to control groups and octenol. In field trials, CDC light traps baited with the pure blend captured 2.08 times more sand flies. Among the six sand fly species identified, *Lutzomyia longipalpis* was the most frequently captured in the baited traps. The synthetic odor of *Leishmania infantum* infected dogs appears to influence the behavior of female *Lu. longipalpis*, consistent with observations, for natural odors in both controlled and real-world environments.

Keywords: sand flies; attraction; semiochemical; kairomone.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Três dos quinze cromatogramas realizados em amostras de pelos de cães infectados por *L. infantum* utilizados para calcular a área relativa dos compostos de interesse para formulação do *blend* sintético. 21
- Figura 2 – Proporção da área dos picos integrados no cromatograma realizado nos pelos de cães infectado por *L. infantum*. 22
- Figura 3 – Esquema do túnel de vento utilizado nos testes de atratividade em condições laboratoriais. 24
- Figura 4 – Frasco tipo Drechsel com capacidade de 500 ml conectado ao fluxo de ar e acoplado na entrada de odor do túnel de vento. Seta vermelha: liberador. 24
- Figura 5 – Vista aérea completa da área de estudo correspondente a Fazenda Escola da Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB. 26
- Figura 6 – Vista aérea da área dos pontos de captura delimitados para os testes de atratividade com o *blend* de compostos biomarcadores da infecção por *L. infantum*. 26
- Figura 7 – Armadilha luminosa, tipo CDC, iscada com o *blend* formulado com Compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção po *L. infantum*. 27
- Figura 8 – Flebotomíneos capturados em armadilha luminosa, tipo CDC, iscada com *blend* formulado com compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum*. 28
- Figura 9 – Percentual médio de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* ativadas em túnel de vento pelo *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum* (Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferença significativa $p<0,05$). 29
- Figura 10 - Percentual médio de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* atraídas em túnel de vento pelo *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum* (Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferença significativa $p<0,05$). 30

Figura 11 – Gráfico de floresta indicando a Razão de Captura de flebotomíneos utilizando armadilhas do tipo CDC, com ou sem luz, iscadas ou não com blend sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum*. Losango e barras azuis representam a Razão de Captura e intervalos de confiança de 95%. Linha vermelha tracejada em Razão de Captura = 1 indica ausência de efeito.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diluições do *blend* de Compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum* usadas em testes de atratividade em túnel de vento. 23

Tabela 2 – Número total de flebotomíneos capturados em armadilhas CDC, iscadas ou não, com diferentes diluições do *blend* de Compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum*. 30

Tabela 3 – Espécies de flebotomíneos capturados utilizando armadilhas do tipo CDC, com ou sem luz, iscadas ou não com *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum*. 32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC	Center of Disease Control
CI	Composto de interesse
COV	Compostos orgânicos voláteis
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry
LV	Leishmaniose visceral
LT	Leishmaniose tegumentar
PAHO	Pan American Health Organization
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Odor do hospedeiro e atratividade	14
1.2. Manipulação olfativa: uma estratégia de atração vetorial	16
1.3. Atratividade para <i>blends</i> de compostos	17
2. JUSTIFICATIVA	19
3. OBJETIVOS	20
3.1. Gerais	20
3.2. Específicos	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Proporção dos compostos biomarcadores identificados nos pelos de cães infectados por <i>Leishmania infantum</i>	21
4.2. Compostos	22
4.3. <i>Blend</i> e Diluições	22
4.4. Colônia de flebotomíneos	23
4.5. Atratividade em túnel de vento	23
4.6. Liberação do composto	24
4.7. Experimentos de atratividade em túnel de vento	25
4.8. Atratividade em condições de campo	25
4.8.1. Área de estudo	25
4.8.2. Atrativos e liberação	27
4.8.3. Investigação da atratividade em campo	27
4.9. Análises estatísticas	28
5. RESULTADOS	29
5.1. Fórmula do <i>blend</i>	29
5.2. Atratividade em túnel de vento	29

5.3. Atratividade em condições de campo	30
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	36
8. REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*. As representações clínicas da enfermidade, leishmaniose tegumentar (LT) e leishmaniose visceral (LV), são definidas pela espécie do parasita infectante e pelo tipo de resposta imune apresentada pelo hospedeiro.

A LT é subdividida em cutânea, mucocutânea e disseminada; tais formas são caracterizadas, respectivamente, por lesões cutâneas ulceradas na pele, lesões desfigurantes das mucosas nasal e oral e lesões polimórficas difusas. No Brasil, foram identificadas oito espécies de *Leishmania* envolvidas em casos de LT, são elas: *Leishmania (Vianna) braziliensis*; *Leishmania (Vianna) guyanensis*; *Leishmania (Leishmania) amazonensis*; *Leishmania (Vianna) lainsoni*; *Leishmania (Vianna) naiffi*; *Leishmania (Vianna) lindenberg*; *Leishmania (Vianna) shawi* e *Leishmania (Vianna) utingensis* (Brasil, 2017; Almeida *et al.*, 2021). As três primeiras são as de maior importância epidemiológica no Brasil.

A leishmaniose visceral é uma doença potencialmente fatal, caracterizada pelo acometimento de órgãos internos como fígado, baço, medula óssea e tecidos linfáticos, possui alta morbidade e mortalidade, sendo fatal em 95% dos casos em que não ocorre o diagnóstico precoce e tratamento adequado. Na região das Américas treze países notificaram casos da doença entre 2001 e 2023, com uma média anual de 3,178 novos casos. Apesar da redução no número de notificações desde 2017, dos 1,604 casos de LV notificados nas Américas em 2023, 91% ocorreram no Brasil (PAHO/WHO, 2024).

A infecção é causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) infantum* (sin = *Leishmania chagasi*) e possui caráter zoonótico; nas zonas urbanas seu principal reservatório são os cães. A infecção ocorre a partir do repasto sanguíneo das fêmeas infectadas do flebotomíneo *Lutzomyia. longipalpis* (Lutz e Neiva, 1912), espécie de insetos hematófagos pertencentes à ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae, considerado o principal vetor do parasita no Brasil (Brasil, 2014).

A vigilância entomológica realizada através da captura de insetos é utilizada para caracterização da população de flebotomíneos em determinadas áreas e para o seu monitoramento. O principal método utilizado para captura de flebótomos são as armadilhas luminosas, ou seja, que utilizam fontes de luz como fator de atração, no entanto, a inespecificidade e a seleção de espécies de flebotomíneos fototrópicas interferem na eficiência desse tipo de armadilha (Alexander, 2000).

Na busca de alternativas de aprimoramento dos métodos de vigilância e controle de flebotomíneos em áreas endêmicas para LV, diversos estudos baseados na utilização de substâncias atrativas vêm sendo desenvolvidos com resultados bastante interessantes (Andradre *et al.*, 2008; Pinto *et al.*, 2011; Magalhães-Junior *et al.*, 2014a; 2019; Machado *et al.*, 2015; 2020; Mikery *et al.*, 2024). Os métodos se baseiam na utilização de cópias sintéticas de semioquímicos, moléculas que modulam a comunicação entre seres vivos, podendo ser de maneira intraespecífica, no caso dos feromônios, e interespecífica, no caso dos aleloquímicos. Aleloquímicos são classificados conforme suas funções e o tipo de estímulo provocado em: cairomônios, beneficiam o receptor em detrimento do emissor; alomônio, beneficiam o emissor; sinomônios, beneficiam tanto o emissor quanto o receptor (Bakthavatsalam, 2016).

Para a espécie *Lu. longipalpis* os estudos com feromônios têm se mostrado promissores como estratégia para monitoramento com o aumentando das capturas (Bray *et al.* 2010; González *et al.*, 2021; Hamilton, 2022) assim como em ações de controle quando associados a inseticidas residuais (Courtenay *et al.*, 2019). Entretanto, *Lu. longipalpis* trata-se de um complexo de espécies tendo sido identificados, até o momento, cinco feromônios diferentes (Hickner *et al.*, 2020). Devido a essas variações na composição química dos feromônios dentro do complexo de espécies *Lu. longipalpis*, sua utilização apresenta limitações territoriais que dificultam sua aplicação (Spigel *et al.*, 2016). Assim, é evidenciada a importância de estudos baseados no uso dos cairomônios, que são mais abrangentes, em relação aos feromônios, como atrativos potenciais para essa importante espécie de flebotomíneo.

1.1. Odor do hospedeiro e atratividade

Os insetos hematófagos utilizam os cairomônios exalados por hospedeiros vertebrados para localização dessas fontes de sangue, o CO₂ (dióxido de carbono), composto liberado na respiração de humanos e outros animais, é uma das principais substâncias atuantes para esse comportamento (Nicolas; Sillans, 1989; Kelly; Dye, 1997; Logan; Birkett, 2007). O ácido láctico, ácido capróico e amônia, compostos presentes no odor humano, também são atrativos conhecidos para culicídeos, havendo inclusive iscas comerciais produzidas especialmente para esta família de insetos (Kröckel *et al.* 2006; Chaves *et al.*, 2020).

Para flebotomíneos, um estudo de campo, realizado no Paraná, empregando odor natural de um humano adulto e CO₂, sendo liberado em taxas naturais ao ser humano, demonstrou que o CO₂ é responsável por cerca de 45% da atração desses insetos a suas fontes de sangue (Pinto *et al.*, 2001). No Egito, armadilhas luminosas iscadas com CO₂ foram 34% mais atrativas que as não iscadas para *Phlebotomus papatasi*, vetor da leishmaniose cutânea em diversas regiões

do mundo como África e Oriente Médio (Hoel *et al.*, 2018). Grande parte dos experimentos empregando o CO₂ como atrativo para flebotomíneos utilizam fontes como o gelo seco ou em cilindros, com resultados relevantes de atração, no entanto o acesso a esses produtos é dispendioso e, por vezes, sua utilização é pouco prática (Sukumaran *et al.*, 2016; Benante *et al.*, 2018).

Octenol é um álcool secundário, encontrado nos voláteis de diversas fontes biológicas, principalmente fungos (Combet *et al.*, 2006). Em razão da sua liberação direta no odor de hospedeiros vertebrados, como humanos (Xue *et al.*, 2008) e bovinos (Hall *et al.*, 1984), seu uso como atrativo químico de insetos, em especial os hematófagos, é amplamente difundido (Dormont *et al.*, 2021). A investigação da atratividade de octenol para flebotomíneos a campo, utilizando armadilhas do tipo CDC iscadas com diferentes taxas de liberação: 0,5, 27 e 43 mg/h, concluiu que armadilhas com iscas do caiomônio (com ou sem luz) capturaram duas vezes mais flebótomos *Nyssomyia neivai* que aquelas não iscadas (Pinto *et al.*, 2011). Corroborando os resultados obtidos em Brejo de Motumbal, Minas Gerais, em que flebotomíneos *Nyssomyia intermedia* foram mais atraídos para armadilhas iscadas com octenol (Andrade *et al.*, 2008), em ambos os trabalhos a resposta foi dose-depende.

A eletroantenografia de fêmeas *Lu. longipalpis*, revelou a presença de receptores químicos específicos na antena desses insetos que os possibilitam detectar, de forma crescente, octenol em correntes de ar, evidenciando o potencial de estudos utilizando o álcool para a espécie (Sant'Ana *et al.*, 2002). A avaliação da atratividade de octenol para *Lu. longipalpis* em ensaios de túnel de vento, demonstrou o relevante potencial atrativo do álcool para esta espécie. Porém, a campo, armadilhas iscadas com o composto não demonstraram a mesma capacidade para *Lu. longipalpis* que o observado em laboratório e para espécies como *Ny. neivai* e *Ny. intermedia* (Andrade *et al.*, 2008; Magalhães-Junior *et al.*, 2014a). Os dados reforçam que espécies diferentes respondem de forma distinta ao mesmo composto.

Estudos de atratividade aliados à técnica de cromatografia gasosa associada a espectrometria de massas (CG-MS) são realizados com a finalidade de identificar compostos específicos no odor de determinados hospedeiros vertebrados, que atuam, em maior ou menor grau, no direcionamento de vetores hematófagos aos seus respectivos hospedeiros (Machado *et al.*, 2020). Um estudo recente identificou, por meio de CG-MS, 49 compostos orgânicos voláteis extraídos dos pelos de homens adultos, dos quais, 4 desencadearam resposta de ativação (2-fenilacetaldeído; 6-metilhept-5-en-2-ona; nonadecano e icosano) e atração (6-metilhept-5-en-2-ona; fenilacetaldeído e icosano) em fêmeas *Ny. intermedia* (Tavares *et al.*, 2018).

Dos 16 Compostos orgânicos voláteis identificados no extrato das glândulas de odor de raposas (*Vulpes vulpes*), conhecidas por serem um reservatório da *L. infantum* em ambiente silvestre, 3 (benzaldeído, 4-metil-2-pentanona e 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona) induziram resposta de atração para *Lu. longipalpis* (Dougherty *et al.*, 1992). Dos 35 compostos orgânicos voláteis extraídos do pelo de cães selecionados em uma região endêmica para LV, 6 foram indicados como possíveis biomarcadores da infecção por *L. infantum* (β -hidroxietilfenil éter, nonanal, heptadecano, 2-etilhexil-salicilato, decanal e octanal) e, pelo menos, 3 deles (octanal, nonanal e decanal) demonstraram relevante potencial de atração para espécie de flebotomíneos *Lu. longipalpis* (Magalhães-Júnior *et al.*, 2019).

1.2. Manipulação do odor hospedeiro: uma estratégia de atração vetorial

Quando se trata da interação parasita-hospedeiro-vetor, estudos têm sugerido uma possível alteração no odor do hospedeiro causada pelo parasita para elevar a atração de vetores e garantir a perpetuação da infecção, comportamento bem relatado na relação parasita-hospedeiro entre *Anopheles gambiae* e *Plasmodium falciparum*, respectivamente, vetor e protozoário associados à malária (Lacroix *et al.*, 2005; Emami *et al.*, 2017).

Estudos têm investigado esse comportamento para flebotomíneos *Lu. longipalpis*. Em um ensaio de atratividade com voláteis exalados por hamsters, fêmeas de *Lu. longipalpis* foram mais atraídas para compostos extraídos de hamsters infectados *L. infantum* (Nevatte *et al.*, 2018).

Em testes de atratividade de escolha em olfatômetro de tubo em Y, flebotomíneos machos e fêmeas da espécie *Lu. longipalpis* foram submetidos ao odor de pelos de cães, extraídos do Headspace por microextração em fase sólida (SPME), em diferentes estágios fisiológicos da infecção por *L. infantum*. Os autores observaram que $65,7 \pm 1,1\%$ das fêmeas responsivas do flebotomíneo foram significativamente mais responsivas ao odor de cães infectados em comparação com $50,3 \pm 0,6\%$ dos machos. Para os autores, tal comportamento é um claro exemplo de manipulação parasitaria, dado que as fêmeas são as únicas que realizam hematofagia o que as tornam imprescindíveis para transmissão do parasita (Staniek; Hamilton, 2021).

A análise de 35 compostos orgânicos voláteis, por SPME e GC-MS, dos pelos de cães infectados e não infectados, identificou dez cairomônios cujo perfil de expressão divergiu conforme o estado fisiológico e carga parasitária dos cães infectados. A observação da área total de pico desses analitos revelou que pelo menos seis deles podem atuar como biomarcadores da infecção por *L. infantum*, são eles: β -hidroxietilfenil éter, nonanal, heptadecano, 2-etilhexil-salicilato, decanal e octanal (Magalhães-Júnior *et al.*, 2014b).

Em testes de atratividade em túnel de vento com os compostos biomarcadores octanal, nonanal e decanal, apresentados isoladamente, foi observada ativação e atração significativamente de machos de *Lu. longipapis*, já fêmeas foram mais responsivas a decanal e nonanal (Magalhães-Júnior *et al.*, 2019).

1.3. Atratividade para *blends* de compostos

Em análises eletrofisiológicas realizadas em antena de insetos foi constatada a presença de neurônios receptores odoríferos (ORNs) que respondem individualmente a concentrações muito baixas de determinadas substâncias, sendo que, o estímulo sincronizado desses neurônios, frente a um *blend* de compostos, permite aos insetos, em meio à mistura de odores ambientais, a localização de pistas químicas relevantes para direcionamento a espécie hospedeira (Bruce *et al.*, 2011).

Para culicídeos, a formulação de quatro aldeídos encontrados na pele de hospedeiros vertebrados associadas ao CO₂ dobrou o número de capturas em armadilhas luminosas sem luz quando comparadas às armadilhas iscadas somente com o CO₂. Outra observação pertinente foi a diminuição na atratividade dos insetos quando os compostos foram utilizados separadamente (Tchouassi *et al.*, 2013).

Culex pipiens molestus e *C. quinquefasciatus* foram responsivos ao odor sintético de frangos, formulado com compostos em proporções aproximadas ao encontrado naturalmente, e ao odor natural de frango em testes de olfatômetro de escolha. A campo, armadilhas iscadas com o mesmo odor sintético associado ao CO₂ foi mais eficiente na captura de culicídeos que àquelas com iscas individuais (Spanoudis *et al.*, 2022). Em estudo comportamental, o extrato total das glândulas de odor de raposas (*Vulpes vulpes*) foi mais atrativo para *Lu. longipalpis* do que compostos isolados identificados por CG-MS no mesmo órgão (Dougherty *et al.*, 1992).

Para flebotomíneos a maioria dos trabalhos empregando o odor de hospedeiros foi realizada em condições laboratoriais, quase que exclusivamente com cópias sintéticas isoladas ou formulações com partes iguais das concentrações mais atrativas obtidas em testes com os compostos isolados (Pinto *et al.*, 2011; Magalhães-Junior *et al.*, 2014a; Tavares *et al.*, 2018; Machado *et al.*, 2020); ou mesmo com a utilização de cabaiais ou combinações desconhecidas de compostos (Nevatte *et al.* 2018; Staniek; Hamilton, 2021).

A campo, os estudos são ainda mais escassos. Recentemente, iscas comerciais (BGLure® e BG-Sweetscent®) elaboradas para captura de culicídeos, contendo ácido láctico, amônia e ácido capróico, foram avaliadas quanto ao seu potencial atrativo para flebotomíneos no Acre. O sistema BGLure® aumentou relativamente a captura de insetos *Ny. whitmani*

quando associado a luz (Ortiz *et al.*, 2019). Isso foi observado para *Lu. longipalpis* em experimentos anteriores realizados em Brejo de Montubal-MG (Andrade *et al.*, 2008). Ao se comparar a atratividade de CO₂ liberado em taxas aproximadas às encontradas naturalmente com os odores liberados por um humano adulto, foi observado que os odores humanos atraíram mais flebotomíneos *Ny. whitmani* e *Ny. intermedia* que CO₂ isoladamente, constatando a importância do efeito dos odores naturais dos hospedeiros para atração desses insetos (Pinto *et al.*, 2001).

2 JUSTIFICATIVA

A vigilância entomológica é um ponto crucial para as metodologias de controle das leishmanioses. Seu papel se concentra na identificação, levantamento e monitoramento vetorial em áreas ativas ou suspeitas para transmissão dessa parasitose. Os dados obtidos nesses levantamentos auxiliam na tomada de decisões eficientes para controle da transmissão nesses locais. As armadilhas luminosas do tipo CDC são as mais empregadas atualmente para captura de flebotomíneos pela efetividade e praticidade da sua utilização, embora, como visto anteriormente, apresentem limitações a serem superadas.

Apesar dos avanços no estudo da utilização de semioquímicos como atrativos para flebotomíneos, particularmente aqueles voltados aos feromônios de agregação sexual da espécie *Lu. longipalpis*, poucos experimentos foram realizados para avaliar a atratividade de caimônios em formulações baseadas por concentrações encontradas naturalmente nas amostras biológicas, em especial, as de hospedeiros vertebrados.

A compreensão da dinâmica de interação desses insetos com tais substâncias químicas pode resultar no aprimoramento de métodos para monitoramento e controle do vetor da leishmaniose visceral.

Assim, o objetivo desse estudo foi, a partir da obtenção do perfil quantitativo de compostos orgânicos voláteis determinado por GC-MS, avaliar a atratividade de flebotomíneos para um *blend* sintético de compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *Leishmania infantum* em cães. A investigação da atratividade ocorreu em condições laboratoriais, com um túnel de vento, e a campo, utilizando o *blend* sintético como uma isca química associada às armadilhas luminosas.

3 OBJETIVOS

3.1. Gerais

- ✓ Avaliar o potencial atrativo de um *blend* formulado com compostos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *Leishmania infantum* identificados nos pelos de cães, para flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis*.

3.2. Específicos

- ✓ Desenvolver um *blend* composto por proporções de cairomônios equivalentes às encontradas em amostras de pelos de cães infectados por *L. infantum*;
- ✓ Realizar testes de atratividade de flebotomíneos *Lu. longipalpis* para o *blend* de odores de cães em túnel de vento;
- ✓ Determinar a concentração mais atrativa do *blend* para fêmeas *Lu. longipalpis*;
- ✓ Avaliar a atratividade das concentrações do *blend* com as melhores respostas em túnel de vento em condições de campo.

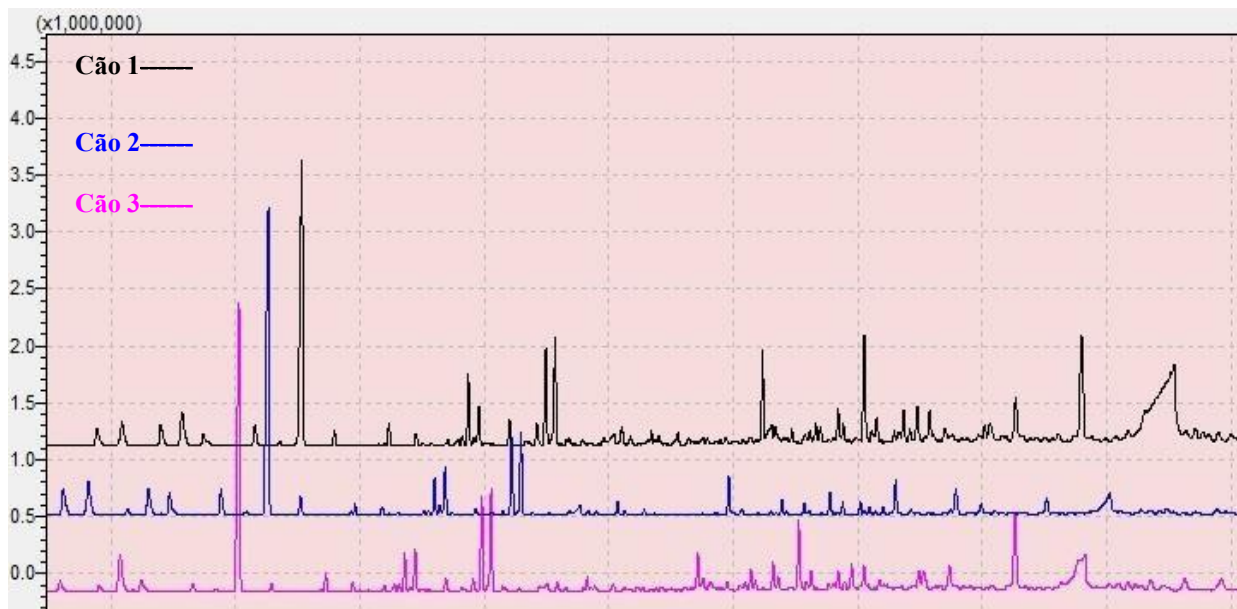
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Proporção dos compostos biomarcadores identificados nos pelos de cães infectados por *Leishmania infantum*

A estimativa da proporção dos compostos nos pelos de cães infectados com *L. infantum*, baseou-se em um artigo que utilizou a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) para identificação desses voláteis. Sendo eles: nonanal, decanal, octanal, heptadecano, 2-etilhexil salicilato e β -hidroxietil fenil éter (Magalhães-Junior *et al.*, 2014b).

A partir de 15 cromatogramas, gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Jairo Torres Magalhães Junior, foram obtidas as áreas relativas dos compostos biomarcadores identificados nas amostras de pelos de cães infectados. A área relativa corresponde à razão entre a área do composto de interesse e área total de picos integrados no cromatograma (Figuras 1 e 2) (Bylesjö *et al.*, 2009).

Figura 1– Três dos quinze cromatogramas realizados em amostras de pelos de cães infectados por *L. infantum* utilizados para calcular a área relativa dos compostos de interesse para formulação do *blend* sintético (Magalhães-Junior *et al.*, 2014).



Fonte: Magalhães-Junior *et al.* (2014).

Figura 2 – Proporção da área dos picos integrados no cromatograma realizado nos pelos de cães infectado por *L. infantum*.

Peak#	Area	Area%
1	3124491	10.84
2	22651811	78.54
3	2020037	7.01
4	696484	2.42
5	344022	1.19

$$\text{Area (peak 2)} = \frac{22651811}{(3124491 + 22651811 + 2020037 + 696484 + 344022)} * 100$$

$$= 78.54\%$$

Fonte: Adaptado de: CHROMacademy (2025)

Após a análise de 15 cromatogramas, (cinco cães com três réplicas) determinou-se a média da proporção estimada de cada composto biomarcador presente nas amostras de pelos analisadas. Os cromatogramas foram processados pelo software LabSolutions 3CMSsolution (versão 4.20, Shimadzu).

4.2. Compostos

O *blend* utilizado nos testes de atratividade foi formulado a partir das proporções médias de cinco dos seis compostos identificados como biomarcadores da infecção por *L. infantum* em cães: nonanal (95% de pureza); decanal ($\geq 98\%$); octanal (99%); heptadecano (99%) e 2-etilhexil salicilato (99%). Todos os compostos utilizados foram adquiridos comercialmente (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, EUA).

4.3. Blend e Diluições

A produção do *blend* foi realizada com o auxílio de micropipetas com as quais cada um dos compostos biomarcadores foram transferidos para frascos de vidro devidamente limpos com hexano. O volume de cada composto foi equivalente ao de sua respectiva proporção, previamente calculada (item 4.1 e item 5.1). Após homogeneização da substância, seguiu-se para os demais procedimentos.

Além de puro, quatro diluições do *blend* foram avaliadas quanto à sua atratividade. Para isso o *blend* foi diluído em solvente hexano em concentrações preparadas para um volume total 2 ml (Tabela 1).

Octenol, anteriormente considerado atrativo para *Lu. longipalpis* em túnel de vento (Magalhães-Junior *et al.*, 2014b), foi utilizado como controle positivo, enquanto hexano foi considerado o controle negativo. Todas as substâncias foram utilizadas num volume total de 2 ml por teste.

Tabela 1 – Diluições do *blend* de compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum* usadas em testes de atratividade em túnel de vento.

Diluição	Blend (ml)	Hexano (ml)	Volume total (ml)
1:1000	0,002	1,998	2,0
1:100	0,020	1,980	2,0
1:10	0,200	1,800	2,0
1:1	1,0	1,0	2,0
Puro	2,0	0	2,0

Fonte: Bonfim (2025).

4.4. Colônia de flebotomíneos

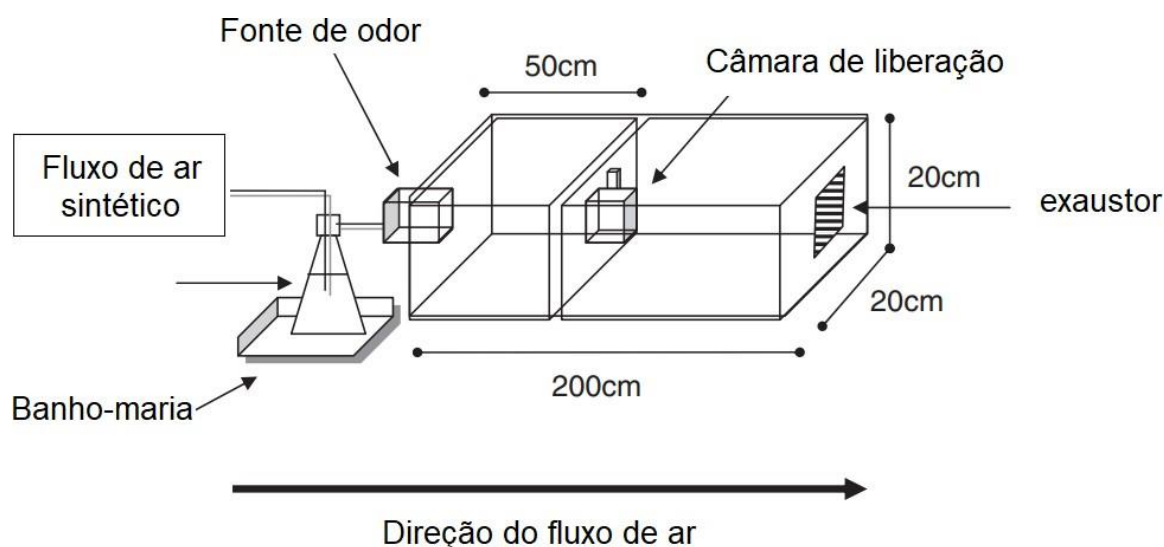
Os flebotomíneos, trazidos do Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos (LFIH) da Universidade Federal de Minas Gerais (Laboratório do Dr. Nelder Gontijo) e inicialmente coletados no estado do Piauí – Brasil, foram mantidos por 6 gerações no insetário do Laboratório de Parasitologia da FCFar/Unesp/Araraquara, de acordo com a metodologia adaptada de Modi e Teshi (1983). Os insetos eram mantidos em gaiolas de tecido voil e recebiam solução de sacarose a 30%, nas condições de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 80–90% de umidade relativa e fotoperíodo 12:12 (L:D).

Para os testes de atratividade em túnel de vento foram utilizadas fêmeas *Lu. longipalpis*, de até seis dias, sem alimentação sanguínea prévia.

4.5. Atratividade em túnel de vento

Um túnel de vento foi utilizado para avaliação da atratividade do *blend* sintético em condições laboratoriais. O equipamento é feito de material acrílico transparente nas dimensões de 20X20cm e 200cm de extensão. Possui fluxo de ar na extremidade de introdução do odor, obtido de um cilindro de ar comprimido de alta pureza, umedecido por banho-maria (36°C) e regulado por um fluxômetro. Enquanto na extremidade oposta, há um exaustor (Figura 3). Os parâmetros utilizados em cada teste foram adaptados de estudos anteriores (Pinto *et al.*, 2012). Sendo, temperatura a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, fluxo de ar a $1,0 \text{ L min}^{-1}$, umidade relativa de 60- 70% e exaustor gerando 1.150 rotações por minuto. Antes de todos os testes o túnel foi devidamente higienizado com hexano.

Figura 3 – Esquema do túnel de vento utilizado nos testes de atratividade em condições laboratoriais.



Adaptado de: PINTO *et al.* (2012).

4.6. Liberação dos compostos

Para os ensaios no túnel de vento, optou-se pelo sistema de liberação por capilaridade adaptado de Van Essen *et al.* (1994). Que consiste em frasco de vidro com capacidade de 4 ml, fechado com tampa septada transpassada por um pavio revestido com plástico PTFE (Figura 4). Buscando manter a concentração dos compostos mais estável, o liberador, contendo 2 ml de substância, foi posicionado dentro de um frasco tipo Drechsel com capacidade de 500 ml acoplado ao fluxo de ar e posicionado na entrada do túnel (Figura 4).

Figura 4 – Frasco tipo Drechsel com capacidade de 500 ml conectado ao fluxo de ar e acoplado na entrada de odor do túnel de vento. Seta vermelha: liberador.



Fonte: Bonfím (2024).

4.7. Experimentos de atratividade em túnel de vento

O experimento foi realizado em triplicata. Em cada repetição, a atratividade do composto puro e das quatro diluições, além dos controles positivo e negativo, foi testada para 30 fêmeas, sendo então 90 fêmeas avaliadas por tratamento.

No início de cada teste, os insetos eram transferidos em grupos de três para gaiolas de liberação para aclimação durante um período de 30 minutos. Após os quais a gaiola era alocada no túnel de vento, a 50 cm de distância da entrada do odor.

As fêmeas de *Lu. longipalpis* eram liberadas e avaliadas quanto aos comportamentos de ativação, quando o inseto deixava a gaiola, e atração, quando o inseto alcançava a fonte de odor. Cada grupo foi monitorado por um período de dois minutos, totalizando dez repetições por tratamento.

Ao final do experimento, 630 fêmeas de *Lu. longipalpis* foram avaliadas.

4.8. Atratividade em condições de campo

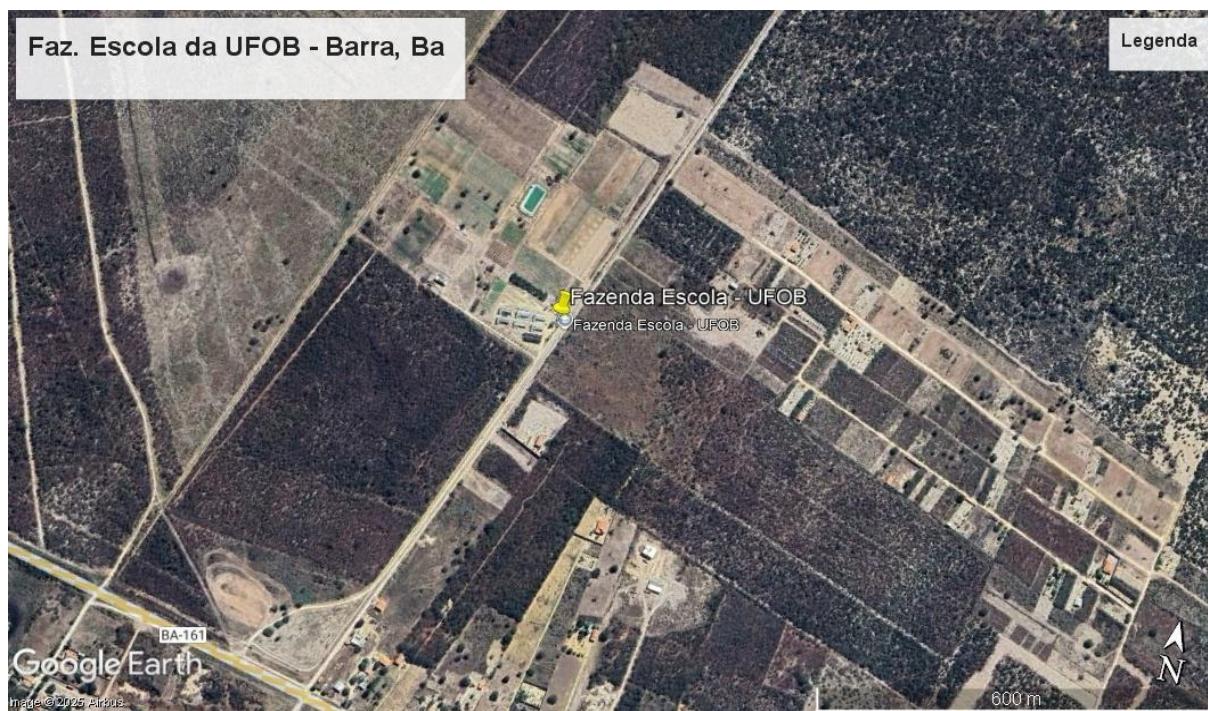
4.8.1. Área de estudo

O experimento de campo ocorreu no município de Barra, região Oeste do estado da Bahia, localizado a cerca de 675 Km da capital do estado, Salvador (10°43'56"S 42°48'10"W). A área foi previamente caracterizada como endêmica para leishmaniose visceral, com presença reconhecida de flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis*.

Em razão das suas características bioecológicas e facilidade de acesso, o local escolhido para montagem das armadilhas, foram as instalações da Fazenda Escola da Universidade Federal do Oeste da Bahia. A fazenda fica localizada no perímetro periurbano do município, a cerca 4,7 Km do centro da cidade. Sua área é caracterizada pela presença de vegetação nativa e áreas de cultivo experimental (Figura 5).

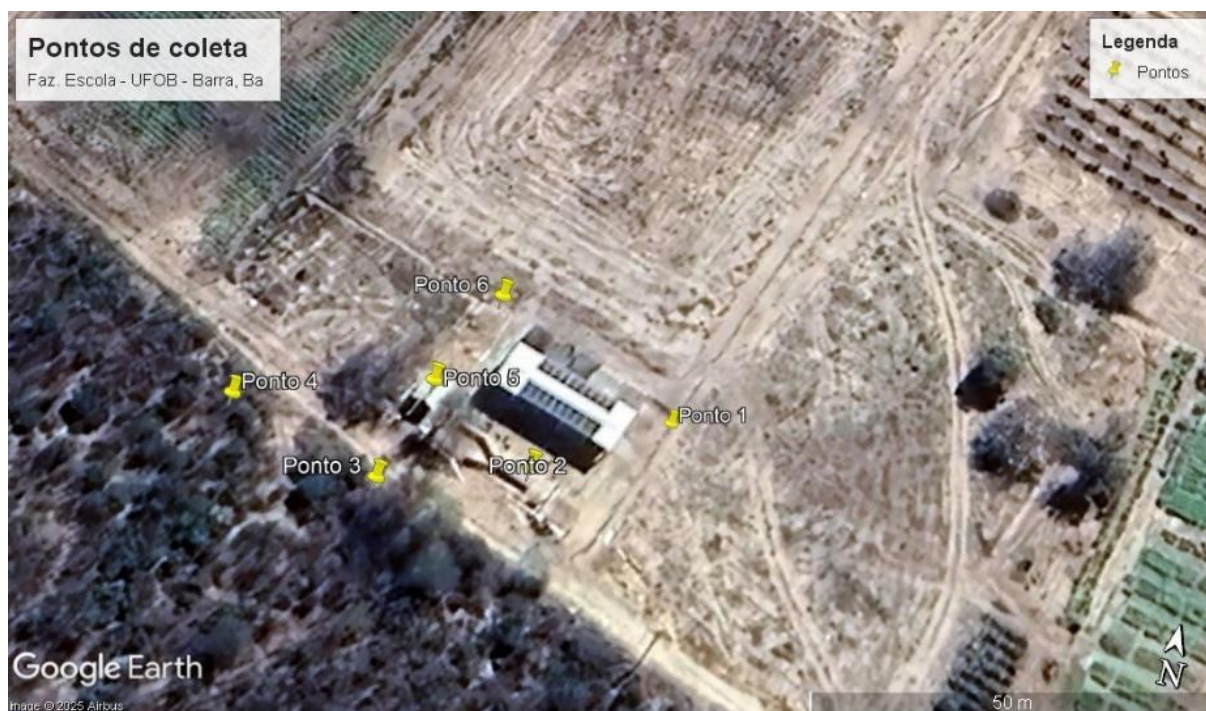
Seis pontos, distantes 20 m um do outro, foram escolhidos ao redor de um aprisco mantido no local para instalação das armadilhas luminosas (Figura 6).

Figura 5 – Vista aérea completa da área de estudo correspondente a Fazenda Escola da Universidade Federal do Oeste da Bahia – UFOB.



Fonte: Google Earth Pro (2025).

Figura 6 – Vista aérea da área dos pontos de captura delimitados para os testes de atratividade com o *blend* de compostos biomarcadores da infecção por *L. infantum*.



Fonte: Google Earth Pro (2025).

4.8.2. Atrativos e liberação

A capacidade de atração do *blend* e suas diluições foi avaliada através da sua utilização como iscas químicas associadas às armadilhas luminosas do tipo CDC (Figura 7). Para isso um frasco contendo 2 ml de substância química foi preso às armadilhas com auxílio de um barbante. Para liberação foi utilizado o mesmo sistema descrito nos experimentos de túnel de vento. Os tratamentos foram: três concentrações do *blend* (1:10; 1:1 e pura); octenol puro (99%), armadilha luminosa sem o *blend* e o *blend* em uma armadilha sem a luz.

4.8.3. Investigação da atratividade em campo

As capturas foram realizadas em três rodadas. Em cada rodada, os seis tratamentos percorreram os seis pontos delimitados na área da fazenda ao longo de seis noites consecutivas, seguindo um delineamento de quadrado latino, totalizando 18 repetições por tratamento. As armadilhas eram ligadas às 18h e desligadas na manhã do dia seguinte, após 12h de operação. A posição das armadilhas foi alternada ao longo das noites de experimento.

Figura 7 – Armadilha luminosa, tipo CDC, iscada com *blend* formulado com compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum*.



Fonte: Bonfim (2025).

Após cada noite, as redes de captura foram recolhidas e levadas ao laboratório de Parasitologia do *Campus* local da Universidade Federal do Oeste da Bahia, onde os flebotomíneos capturados foram triados e contabilizados (Figura 8). Para identificação das espécies capturadas, os flebotomíneos foram clarificados e montados em Bálsamo do Canadá de acordo com Forattini (1973) e identificados utilizando a chave taxonômica proposta por Galati (2024).

Figura 8 – Flebotomíneos capturados em armadilha luminosa, tipo CDC, iscada com *blend* formulado com compostos orgânicos voláteis considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum*.



Fonte: Bonfim (2025).

4.9. Análises estatísticas

Para os experimentos de atratividade em túnel de vento foi realizada Análise de Variância (ANOVA) seguida pelos testes de Tukey para comparação múltipla de médias. O software utilizado foi o GraphPad Prism versão 10.4.2.

Para os experimentos de campo, a análise foi conduzida utilizando o R versão 4.3.0. A detecção de outliers foi realizada utilizando o método Intervalo Interquartil (IIQ). As observações foram sinalizadas como outliers se estivessem abaixo de $Q1 - 1,5 \times IIQ$ ou acima de $Q3 + 1,5 \times IIQ$, onde Q1 e Q3 representam o 1º e 3º quartis, respectivamente. Coletas com valores outliers detectados foram posteriormente removidos do conjunto de dados. A modelagem inicial utilizou regressão de Poisson com avaliação da superdispersão baseado em metodologia descrita por Gelman e Hill (Gelman; Hill, 2006) que confirmou uma superdispersão significativa. Consequentemente, o modelo foi reajustado usando regressão binomial negativa do pacote MASS (v7.3.60). Os tamanhos dos efeitos foram calculados exponenciando os coeficientes de regressão para produzir as Razões de Coleta. Intervalos de confiança de 95% foram calculados utilizando o erro padrão do modelo. Os resultados foram visualizados por meio de um gráfico de floresta usando o ggplot2 (v3.4.4). O gráfico mapeou as Razões de Coleta para o eixo x e as categorias de comparação para o eixo y, com barras de erro representando intervalos de confiança de 95%. Uma linha de referência vermelha tracejada em Razão de Captura = 1 indicou ausência de efeito.

5 RESULTADOS

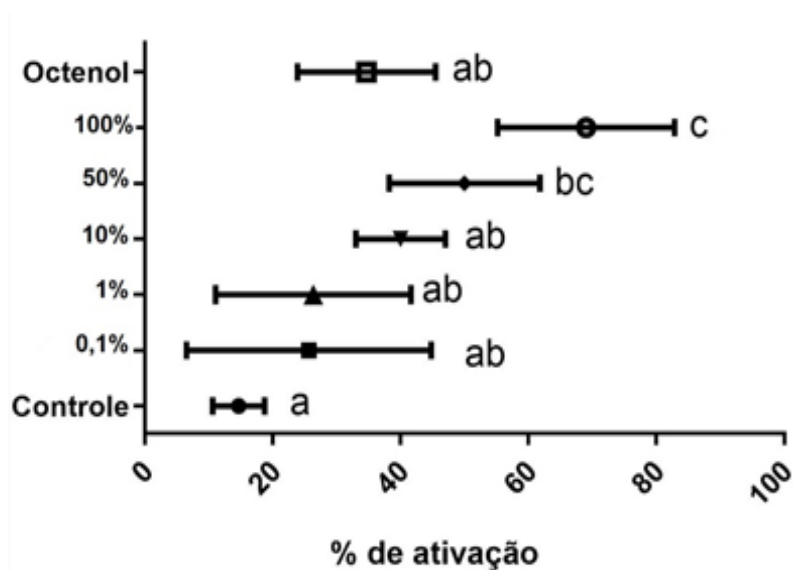
5.1. Fórmula do *blend*

O cálculo das proporções médias de cada composto biomarcador, previamente obtidas nos cromatogramas (item 4.1), indicou a seguinte formulação: 77,08% de nonanal; 11,35% de decanal; 6,55% de octanal; 3,32% de heptadecano; 1,64% de 2-etilhexil salicilato.

5.2. Atratividade em túnel de vento

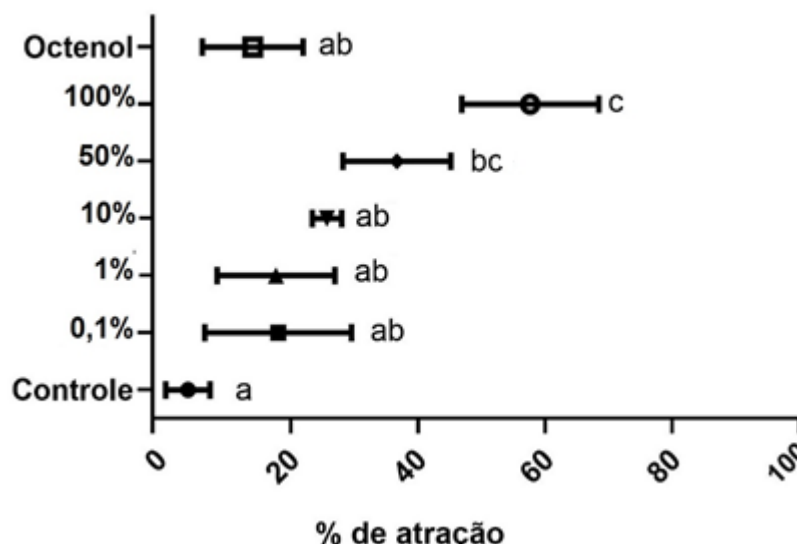
A análise de variância apontou diferença estatística tanto para ativação ($p < 0,0002$) como para atração ($p < 0,0001$) das fêmeas (Figuras 9 e 10). Na comparação entre as médias, os resultados foram os mesmos para ativação e atração, sendo que o controle diferiu da diluição de 50% assim como do *blend* puro ($p < 0,05$), não diferindo das outras diluições e nem do octenol ($p > 0,05$). A diluição de 50% não diferiu do *blend* puro ($p > 0,05$).

Figura 9 – Percentual médio de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* ativadas em túnel de vento pelo *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum* (Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferença significativa $p < 0,05$).



Fonte: Bonfim (2025).

Figura 10 – Percentual médio de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* atraídas em túnel de vento pelo *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum* (Letras diferentes entre os tratamentos indicam diferença significativa $p < 0,05$).



Fonte: Bonfim (2025).

5.3. Atratividade em condições de campo

Ao final do experimento capturou-se 1,412 flebotomíneos. Destes, 921 foram capturados em armadilhas iscadas com o *blend* testado. A quantidade de machos e fêmeas e o total de espécimes capturados em cada tratamento estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Flebotomíneos capturados em armadilhas do tipo CDC, com ou sem luz, iscadas ou não com *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum*.

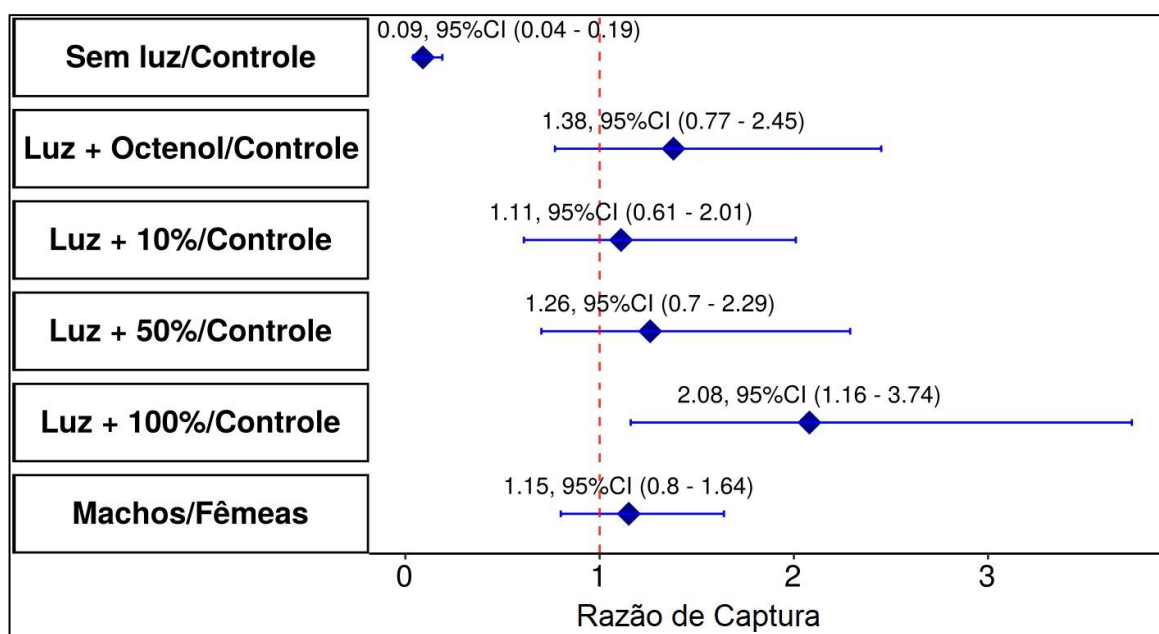
Tratamento	Fêmeas capturadas	Machos capturados	Total
Luz	152	149	301
Luz + 10%	139	107	246
Luz + 50%	99	120	219
Luz + 100%	259	159	418
Luz + Octenol	85	105	190
Sem Luz (+ Puro)	7	12	19
Total	741	652	1412

Fonte: Bonfim (2025).

Somente na concentração de 100% o *blend* testado demonstrou uma Razão de Captura estatisticamente significativa, com valor de $p < 0,05$ e intervalo de confiança da Razão de Captura sem incluir o valor 1, em relação ao grupo controle (Figura 11). Tal resultado indica uma captura em torno de 2,08 vezes maior que o controle (apenas luz) quando utilizado o

composto na concentração de 100% associado à luz. Para as demais concentrações e octenol não houve significância estatística de acordo com o modelo binomial negativo. Em relação ao sexo também não houve significância estatística na coleta de machos e fêmeas. Quanto às armadilhas sem luz, os resultados mostraram uma menor coleta de flebotomíneos em relação a todos os outros tratamentos e controle.

Figura 11 – Gráfico de floresta indicando a Razão de Captura de flebotomíneos utilizando armadilhas do tipo CDC, com ou sem luz, iscadas ou não com *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum*. Losango e barras azuis representam a Razão de Captura e intervalos de confiança de 95%. Linha vermelha tracejada em Razão de Captura = 1 indica ausência de efeito.



Fonte: Bonfim (2025).

Cinco espécies foram identificadas em todo o experimento. A espécie *Lutzomyia longipalpis* foi a mais abundante, representando 88,31% dos flebotomíneos capturados. As demais espécies identificadas, em ordem decrescente, foram: *Evandromyia sallesi* (2,12%); *Evandromyia lenti* (1,56%); *Nyssomyia whitmani* (0,50); *Nyssomyia intermedia* (0,21%); *Migonemyia migonei* (0,07%) (Tabela 3). Do total de flebotomíneos capturados, 6,23% estavam danificados e não puderam ser identificados.

Tabela 3 – Espécies de flebotomíneos capturados utilizando armadilhas do tipo CDC, com ou sem luz, iscadas ou não com *blend* sintético formulado com compostos biomarcadores liberados por cães infectados com *Leishmania infantum*.

Tratamento Sexo (♂♀)	Espécies						Total
	<i>Lu. longipalpis</i>	<i>Ev. lenti</i>	<i>Ev. sallesi</i>	<i>Ny. intermedia</i>	<i>Ny. whitmani</i>	<i>Mg. migonei</i>	
Luz							
♂	136	1	4	0	1	0	142
♀	126	4	3	0	0	1	134
♂♀	262	5	7	0	1	1	276
Luz+Octenol							
♂	93	0	6	0	0	2	101
♀	76	1	0	0	0	0	77
♂♀	169	1	6	0	0	2	178
Luz+10%							
♂	95	1	2	3	0	0	101
♀	123	2	4	1	0	0	130
♂♀	218	3	6	4	0	0	231
Luz+50%							
♂	112	2	4	0	2	0	120
♀	90	4	2	0	0	0	96
♂♀	202	6	6	0	2	0	216
Luz+100%							
♂	148	5	0	0	0	1	154
♀	229	2	2	0	0	0	233
♂♀	377	7	2	0	0	1	387
S/L+100%							
♂	12	0	0	0	0	0	12
♀	7	0	0	0	0	0	7
♂♀	19	0	0	0	0	0	19

Fonte: Bonfim (2025).

6 DISCUSSÃO

O procedimento adotado para determinação das proporções dos compostos orgânicos voláteis, identificados nos pelos de cães infectados com *Leishmania infantum*, utilizados para produção do *blend* testado nesse estudo, assume que o valor da área de um pico cromatográfico é linearmente proporcional à sua quantidade relativa em uma amostra (Harris, 2012). Embora haja controvérsias sobre seu uso como método de quantificação (Noonan *et al.*, 2018), essa estratégia é prática e acessível, sendo adotada em outros estudos para quantificação relativa de metabolitos em amostras biológicas como, extrato de penas de galinhas (Allan; Bernier; Kline 2006) plasma humano (Lawton *et al.*, 2008) e urina humana (Mattarucchi; Guillou 2012; Nam *et al.* 2020). Cabe ressaltar que os resultados obtidos não refletem a concentração absoluta ($\mu\text{g}/\text{mg}/\text{g}$) dos analitos nas amostras de pelos de cães, representando apenas uma estimativa da proporção de cada um em relação aos demais identificados.

A maioria dos componentes utilizados no *blend* sintético foi encontrada nos voláteis de diversas espécies de vertebrados como: ruminantes (Spinhirne *et al.*, 2003; Yan *et al.* 2019) canídeos (Oliveira *et al.*, 2008; Apps *et al.*, 2012; Magalhães-Junior *et al.*, 2014b), felinos (Burger *et al.* 2008), aves (Burger *et al.*, 2004; Spanoudis *et al.*, 2022) e humanos (Dormont, Bessière; Cohuet, 2013; Tavares *et al.*, 2019).

Os compostos mais generalistas presentes no *blend* como nonanal, decanal e octanal, foram investigados quanto ao seu potencial atrativo para algumas espécies de insetos de importância médica.

Para *Culex quinquefasciatus*, vetor do agente etiológico da filariose *Wuchereria bancrofti*, nonanal é uma pista química relevante. Neurônios receptores odoríferos (ORNs) identificados para a espécie foram altamente responsivos a esse composto. Testes de atratividade demonstraram aumento na captura de *C. quinquefasciatus* quando o composto foi utilizado como isca (Leal *et al.* 2008). Resultados mais significativos foram alcançados para capturas em que o composto foi associado a outros cairomônios (Syed; Leal 2009).

Para *Triatoma infestans*, vetor do *Trypanosoma cruzi*, foram registradas respostas elétricas para octanal e nonanal em análises eletroantenográficas (Guerenstein; Guerin 2001). Estudos recentes utilizaram nonanal em testes de olfatômetro de escolha, onde machos e fêmeas de *T. infestans* responderam significativamente a 1 μl do composto; já para ninfas de IV instar, 1 e 5 μl de nonanal foram as concentrações mais atrativas (Rojas de Arias *et al.*, 2023). Nonanal foi significativamente atrativo para fêmeas de *Phlebotomus perniciosus* em teste de olfatômetro de tudo em Y (Bezerra-Santos *et al.*, 2024).

Quando apresentados individualmente em túnel de vento para *Lu. longipalpis*, os componentes do *blend* utilizado nesse estudo, em especial, decanal, nonanal, octanal e heptadecano, foram mais efetivos para ativação e atração de machos. As fêmeas foram ativadas por decanal e nonanal, não demonstrando atratividade significativa. Os autores avaliaram ainda *blends* dos mesmos compostos combinando volumes iguais de cada um. As respostas observadas foram consideradas fracas pelos autores, sendo que apenas os machos de *Lu. longipalpis* foram ativados e atraídos para o *blend* de octanal; decanal e heptadecano (1:1:1) (Magalhães-Junior *et al.*, 2019).

Aproximadamente 70% das fêmeas de *Lu. longipalpis* avaliadas no presente estudo, foram atividades e atraídas para o *blend* de forma significativa. Os dados encontrados aqui corroboram a afirmação de que insetos são mais responsivos aos odores do hospedeiro quando são apresentados em conjunto e em proporções aproximadas aquelas encontradas naturalmente (Bruce; Pickett 2011; Tchouassi *et al.* 2013).

A espécie *Lu. longipalpis* foi a mais abundante em nossas capturas e, diferente do observado por outros autores para a espécie, o número de flebotomíneos fêmeas capturados neste estudo foi maior que o de machos (Andrade *et al.* 2008; Bray *et al.* 2014; Campos *et al.* 2017; Courtenay *et al.* 2019).

Para *Lu. longipalpis*, é proposto que os machos busquem ativamente por hospedeiros vertebrados, a fim de copular com as fêmeas. Ao encontrar os hospedeiros, passam a liberar feromônios sexuais, e de agregação, que em sinergismo com os cairomônios do hospedeiro, atraem tanto machos, que chegam primeiro aos locais de agregação potencializando a ação do feromônio, quanto fêmeas que respondem mais tardiamente aos semioquímicos produzidos durante a agregação (Kelly; Dye, 1997). O comportamento de busca ativa pelo hospedeiro pode favorecer a captura dos machos em armadilhas.

A menor proporção de fêmeas capturadas em estudos de campo também é justificada pelo seu estado fisiológico, dado que fêmeas ingorgitadas têm sua capacidade de voo reduzida. É proposto que tendem a permanecer próximas a locais apropriados para refeição sanguínea, acasalamento e oviposição (Ready, 2013). Para fêmeas de *Nyssomyia neivai*, o estado fisiológico interferiu significativamente em sua resposta à luz e ao composto hexanol em túnel de vento, onde fêmeas grávidas e alimentadas responderam menos aos atrativos que as não alimentadas (Machado *et al.*, 2022).

Em testes de olfatômetro de escolha o odor de cães infectados por *L. infantum* foi significativamente mais atrativo para fêmeas de *Lu. longipalpis* do que para machos (Staniek; Hamilton, 2021). Os autores sugeriram uma possível manipulação parasitária no padrão de

atratividade entre os sexos. É suposto que fêmeas de *Lu. longipalpis* seriam mais fortemente atraídas para hospedeiros infectados por *L. infantum*, enquanto machos, teriam preferência pelo odor de animais não infectados. Ou seja, naturalmente, os machos tenderiam a buscar hospedeiros não infectados para a agregação. Tal comportamento, aumentaria as chances de fêmeas infectadas encontrarem hospedeiros susceptíveis, garantindo a perpetuação da infecção, e consequentemente da espécie parasita. Contudo, são necessários mais estudos para comprovação dessa suposição.

Embora não tenha sido identificada diferença estatística na proporção de machos e fêmeas capturados no presente estudo, as fêmeas foram mais abundantes no tratamento Luz + *blend* puro, único com significância para aumento de capturas (Tabela 2). Para o mesmo tratamento, 88,41% das fêmeas identificadas pertenciam a espécie *Lu. longipalpis* (Tabela 3). Corroborando os estudos que afirmam que o odor do hospedeiro infectado com *L. infantum* é mais atrativo para seu principal vetor, os flebotomíneos da espécie *Lu. longipalpis*.

Os resultados obtidos no presente estudo para a avaliação em túnel de vento, refletiram-se parcialmente nas avaliações de campo, visto que armadilhas luminosas iscadas com o *blend* a 50% não tiveram capturas significativas, como observado para aquelas iscadas com o *blend* puro.

Houve variações na atratividade de compostos orgânicos voláteis para algumas espécies de flebotomíneos e outro insetos hematófagos à medida que se aumentava ou diminuía as taxas de liberação dos compostos atrativos (Andrade *et al.*, 2008; Dormont *et al.*, 2021).

A avaliação da atratividade de cópias sintéticas do feromônio de agregação sexual de machos de *Lu. longipalpis* associados à aplicação de inseticidas, utilizando a estratégia de atrair e matar (“attract and kill”), demonstrou que o incremento de 1 para 10 liberadores, aumentou em 2,8 vezes o número de fêmeas atraídas para os locais de aplicação (Bray *et al.* 2010). A taxa de liberação utilizada no presente estudo foi relativamente baixa, possivelmente interferindo na volatilidade do *blend* durante avaliação em campo. Seria interessante investigar a atratividade do *blend* avaliado neste estudo com outro tipo de liberador, ou com um número maior desses liberadores, visando o incremento do número total de capturas.

7 CONCLUSÕES

- ✓ Áreas relativas obtidas a partir de cromatogramas de material biológico mostram-se úteis como base para formulação de atrativos para insetos;
- ✓ Compostos considerados biomarcadores da infecção por *L. infantum* identificados nos pelos de cães infectados, quando formulados em um *blend* em proporções aproximadas aquelas determinadas por GC-MS, foram capazes de ativar e atrair fêmeas *Lu. longipalpis*;
- ✓ Fêmeas de *Lu. longipalpis* foram mais responsivas às altas concentrações do *blend*;
- ✓ A utilização do *blend* puro como isca química associada a armadilhas luminosas do tipo CDC incrementou em 2,08 vezes o número total de flebotomíneos capturados.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, B. Sampling methods for phlebotomine sandflies. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 14, n. 2, p. 109–122, jun. 2000.
- ALLAN, S. A.; BERNIER, U. R.; KLINE, D. L. Laboratory evaluation of avian odors for mosquito (Diptera: Culicidae) attraction. *Journal of Medical Entomology*, [s. l.], v. 43, n. 2, p. 225–231, mar. 2006.
- DE ALMEIDA, J. V. *et al.* Diagnosis and identification of *Leishmania* species in patients with cutaneous leishmaniasis in the state of Roraima, Brazil's Amazon Region. *Parasites & Vectors*, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 32, 2021.
- ANDRADE, A. J. *et al.* Are light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 4, p. 337–343, jun. 2008.
- APPS, P.; MMUALEFE, L.; MCNUTT, J. W. Identification of Volatiles from the Secretions and Excretions of African Wild Dogs (*Lycaon pictus*). *Journal of Chemical Ecology*, [s. l.], v. 38, n. 11, p. 1450–1461, 1 nov. 2012. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0206-7>.
- ARAKI, A. S. *et al.* Molecular and Behavioral Differentiation among Brazilian Populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 3, n. 1, p. e365, 27 jan. 2009. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000365>.
- BAKTHAVATSALAM, N. Chapter 19 - Semiochemicals. In: OMKAR (Ed.). *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. Elsevier, 2016. p. 563–611.
- BENANTE, J. P. *et al.* Comparative Study of Mosquito and Sand Fly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Sampling Using Dry Ice and Chemically Generated Carbon Dioxide From Three Different Prototype CO₂ Generators. *Journal of Economic Entomology*, [s. l.], v. 112, n. 1, p. 494–498, 12 fev. 2019. <https://doi.org/10.1093/jee/toy319>.
- BEZERRA-SANTOS, M. A. *et al.* *Phlebotomus perniciosus* response to volatile organic compounds of dogs and humans. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 18, n. 12, p. e0012787, 30 dez. 2024.
- BRASIL. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. p. 120.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
- BRAY, D. P. *et al.* Synthetic sex pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* to experimental chicken sheds treated with insecticide. *Parasites & Vectors*, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 16, dez. 2010. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-16>.
- BRAY, D. P. *et al.* Synthetic Sex Pheromone in a Long-Lasting Lure Attracts the Visceral Leishmaniasis Vector, *Lutzomyia longipalpis*, for up to 12 Weeks in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, [s. l.], v. 8, n. 3, p. e2723, 20 mar. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002723>.

- BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. **Phytochemistry**, Plant-Insect Interactions. [s. l.], v. 72, n. 13, p. 1605–1611, 1 set. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>.
- BURGER, B. V. *et al.* Avian Exocrine Secretions. I. Chemical Characterization of the Volatile Fraction of the Uropygial Secretion of the Green Woodhoopoe, *Phoeniculus purpureus*. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 30, n. 8, p. 1603–1611, 1 ago. 2004. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000042071.65335.f3>.
- BURGER, B. V. *et al.* Chemical Characterization of Territorial Marking Fluid of Male Bengal Tiger, *Panthera tigris*. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 34, n. 5, p. 659–671, 1 maio 2008. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9462-y>.
- BYELESJÖ, M. *et al.* Normalization and Closure. In: Steven D. Brown, Romá Tauler, Beata Walczak (Eds.). **Comprehensive Chemometrics**. Elsevier, 2009. p. 109-127.
- CAMPOS, A. M. *et al.* Photoperiod Differences in Sand Fly (Diptera: Psychodidae) Species Richness and Abundance in Caves in Minas Gerais State, Brazil. **journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 1, p. 100–105. 2017. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw135>.
- CHAVES, L. F. *et al.* Trap Comparison for Surveillance of the Western Tree Hole Mosquito (Diptera: Culicidae). **Journal of Insect Science (Online)**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 3, 1 jan. 2020. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez131>.
- COMBET, E. *et al.* Eight-carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis, and biosynthesis. **Mycoscience**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 317–326, 1 dez. 2006. <https://doi.org/10.1007/S10267-006-0318-4>.
- COURTENAY, O. *et al.* Sand fly synthetic sex-aggregation pheromone co-located with insecticide reduces the incidence of infection in the canine reservoir of visceral leishmaniasis: A stratified cluster randomised trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. e0007767, 25 out. 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007767>.
- DORMONT, L.; BESSIÈRE, J.-M.; COHUET, A. Human skin volatiles: a review. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 39, n. 5, p. 569–578, maio 2013. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0286-z>.
- DORMONT, L. *et al.* Mosquito Attractants. **Journal of Chemical Ecology**, [s. l.], v. 47, n. 4–5, p. 351–393, maio 2021. <https://doi.org/10.1007/s10886-021-01261-2>.
- DOUGHERTY, M. J.; WARD, R. D.; HAMILTON, G. Evidence for the accessory glands as the site of production of the oviposition attractant and/or stimulant of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 7, p. 1165–1175, 1992.
- EMAMI, S. N. *et al.* A key malarial metabolite modulates vector blood seeking, feeding, and susceptibility to infection. **Science (New York, N.Y.)**, [s. l.], v. 355, n. 6329, p. 1076–1080, 10 mar. 2017.
- FORATTINI, O. P. **Entomologia médica: 4º volume: psychodidae. phlebotominae. leishmanioses. bartoneloze**. In: Entomologia médica: 4º volume: psychodidae. phlebotominae. leishmanioses. bartoneloze, 1973. p. 658-658.

GALATI, E. A. B. Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. **Flebotomíneos do Brasil**, 2003.

GALVIS-OVALLOS, F. *et al.* Leishmanioses no Brasil: Aspectos epidemiológicos, desafios e perspectivas. **Atualidades em medicina tropical no Brasil: protozoários**. Tradução. Rio Branco: Stricto Sensu, 2020.

GELMAN, A.; HILL, J. **Analytical methods for social research: Data analysis using regression and multilevel/hierarchical models**. Cambridge, England: Cambridge University Press, 2006.

GIRAUDEAU, P. *et al.* Reference and normalization methods: Essential tools for the intercomparison of NMR spectra. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, NMR Spectroscopy in Pharmaceutical and Biomedical Analysis. [s. l.], v. 93, p. 3–16, 1 maio 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.07.020>.

GONZÁLEZ, M. A. *et al.* Synthetic sex-aggregation pheromone of *Lutzomyia longipalpis*, the South American sand fly vector of *Leishmania infantum*, attracts males and females over long-distance. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 2020. doi.org/10.1371/journal.pntd.0008798.

GUERENSTEIN, P. G.; GUERIN, P. M. Olfactory and Behavioural Responses of the Blood-Sucking bug *Triatoma Infestans* to Odours of Vertebrate Hosts. **Journal of Experimental Biology**, [s. l.], v. 204, n. 3, p. 585–597, 1 fev. 2001. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.3.585>.

HALL, D. R. *et al.* 1-Octen-3-ol. A potent olfactory stimulant and attractant for tse-tse isolated from cattle odours. **International Journal of Tropical Insect Science**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 335–339, out. 1984. <https://doi.org/10.1017/S1742758400008626>.

HAMILTON J. G.C. Sand fly sex/aggregation pheromones. In: IGNELL R, LAZZARI CR, LORENZO M.G., HILL S.R. (eds). **Sensory Ecology of Disease Vector**. Wageningen (NL): Wageningen Academic Publishers, 2022. p. 349–371.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. Tradução e revisão técnica Oswaldo Esteves Barcia, Júlio Carlos Afonso. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

HICKNER, P. V. *et al.* Molecular signatures of sexual communication in the phlebotomine sand flies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. e0008967, 28 dez. 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008967>.

HOEL, D. F. *et al.* Efficacy of commercial mosquito traps in capturing phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in Egypt. **Journal of Medical Entomology**, [s. l.], v. 47, n. 6, p. 1179–1184, nov. 2010. <https://doi.org/10.1603/me10144>.

KELLY, D. W.; DYE, C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Animal Behaviour**, [s. l.], v. 53, n. 4, p. 721–731, abr. 1997. <https://doi.org/10.1006/anbe.1996.0309>.

KROCKEL, U. *et al.* New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 229–238, jun. 2006.

LACROIX, R. *et al.* Malaria Infection Increases Attractiveness of Humans to Mosquitoes. **PLOS Biology**, [s. l.], v. 3, n. 9, p. e298, 9 ago. 2005. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030298>.

LAWTON, K. A. *et al.* Analysis of the Adult Human Plasma Metabolome. **Pharmacogenomics**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 383–397, abr. 2008. <https://doi.org/10.2217/14622416.9.4.383>.

LEAL, W. S. *et al.* Reverse and Conventional Chemical Ecology Approaches for the Development of Oviposition Attractants for *Culex* Mosquitoes. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 3, n. 8, p. e3045. 2008.

LOGAN, J. G.; BIRKETT, M. A. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation. **Pest Management Science**, v. 63, n. 7, p. 647–657, 2007.

MACHADO, V. E. *et al.* Attraction of the sand fly *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to chemical compounds in a wind tunnel. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 147, dez. 2015. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0748-y>.

MACHADO, V. E. *et al.* Behavioral responses of sand fly *Nyssomyia neivai* (Psychodidae: Phlebotominae) to 1-hexanol and light. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 236, p. 106680, 1 dez. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106680>.

MACHADO, V. E. *et al.* ECOLOGIA QUÍMICA DE FLEBOTOMÍNEOS. **Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Vetrores**. [s.l.]: Stricto Sensus Editora, 2020. Cap. 9, p. 155-184. DOI 10.35170/ss.ed.9786586283129.09.

MAGALHÃES-JUNIOR, J. T. *et al.* A laboratory evaluation of alcohols as attractants for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera:Psychodidae). **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 60, dez. 2014a. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-60>.

MAGALHÃES-JUNIOR, J. T. *et al.* Identification of biomarkers in the hair of dogs: new diagnostic possibilities in the study and control of visceral leishmaniasis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 406, n. 26, p. 6691–6700, out. 2014b. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8103-2>.

MAGALHÃES-JUNIOR, J. T. *et al.* Attraction of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to possible biomarker compounds from dogs infected with *Leishmania infantum*. **Medical and Veterinary Entomology**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 322–325, jun. 2019.

MATTARUCCHI, E.; GUILLOU, C. Critical aspects of urine profiling for the selection of potential biomarkers using UPLC-TOF-MS. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 512–517, 2012. <https://doi.org/10.1002/bmc.1697>.

MIKERY, O. *et al.* Assessment of synthetic chemicals for the anthropophilic sandfly *Lutzomyia cruciata* attraction to light-baited traps. **International Journal of Pest Management**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 1160–1170, 1 out. 2024. <https://doi.org/10.1080/09670874.2022.2094490>.

MODI, G. B.; TESH, R. B. A simple technique for mass rearing *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 568–569, 5 out. 1983.

NAM, S. L. *et al.* Towards Standardization of Data Normalization Strategies to Improve Urinary Metabolomics Studies by GC×GC- TOFMS. **Metabolites**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 376, 19 set. 2020. <https://doi.org/10.3390/metabo10090376>.

NEVATTE, T. M. *et al.* After infection with *Leishmania infantum*, Golden Hamsters (*Mesocricetus auratus*) become more attractive to female sand flies (*Lutzomyia longipalpis*). **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 6104, 21 jul. 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06313-w>.

NICOLAS, G.; SILLANS, D. Immediate and Latent Effects of Carbon Dioxide on Insects. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 34, n. Volume 34, 1989, p. 97–116, 1 jan. 1989. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.000525>.

NOONAN, M. J.; TINNESAND, H. V.; BUESCHING, C. D. Normalizing Gas Chromatography–Mass Spectrometry Data: Method Choice can Alter Biological Inference. **BioEssays**, [s. l.], v. 40, n. 6, p. 1700210, 2018. <https://doi.org/10.1002/bies.201700210>.

OLIVEIRA, L. S. Headspace solid phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry combined to chemometric analysis for volatile organic compounds determination in canine hair: a new tool to detect dog contamination by visceral leishmaniasis. **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [s. l.], v. 875, n. 2, p. 392–398, 15 nov. 2008.

ORTIZ, D. G. S. *et al.* Comparison of BG-Lure and BG-Sweetscents attractants for field sampling of phlebotomine sand flies. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 202, p. 105224, fev. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105224>.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). **Leishmaniasis: Epidemiological Report for the Americas**. Nº 13. Washington, D.C.: PAHO, 2024. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/63166>>. Acesso em: mar. 2025.

PINTO, M. C. *et al.* Octenol as attractant to *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the field. **Journal of Medical Entomology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 39–44, jan. 2011. <https://doi.org/10.1603/me10081>.

PINTO, M. C. *et al.* Attraction of the cutaneous leishmaniasis vector *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to host odour components in a wind tunnel. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 210, dez. 2012. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-210>.

PINTO, M. C. *et al.* Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. **Medical and Veterinary Entomology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 132–139, jun. 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2001.00294.x>.

Quantitative and Qualitative HPLC. **CHROMacademy**. Disponível em: <<https://www.chromacademy.com/hplc/technique/quantitative-and-qualitative-hplc/>>. Acesso em: 29 abr. 2025.

READY, P. D. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 1, p. 227–50. 2013. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153557>.

ROJAS DE ARIAS, A.; BORGES, A.; DORIGO CORTÉS, D. Luring Triatomines (Hemiptera: Reduviidae) into a Trap: Aliphatic and Aromatic Aldehydes as Attractants of *Triatoma infestans*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [s. l.], v. 109, n. 5, p. 999–1005, nov. 2023. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.23-0277>.

SANT'ANA, A. L.; EIRAS, A. E.; CAVALCANTE, R. R. Electroantennographic responses of the *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) to 1-octen-3-ol. **Neotropical Entomology**, [s. l.], v. 31, p. 13–17, mar. 2002. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2002000100002>.

SPANOUDIS, C. G. *et al.* The chemical code for attracting *Culex* mosquitoes. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [s. l.], v. 10, p. 930665, 11 ago. 2022. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.930665>.

SPIEGEL, C. N. *et al.* The *Lutzomyia longipalpis* complex: a brief natural history of aggregation-sex pheromone communication. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 580, dez. 2016. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1866-x>.

SPINHIRNE, J. P.; KOZIEL, J. A.; CHIRASE, N. K. A Device for Non-invasive On-site Sampling of Cattle Breath with Solid-Phase Microextraction. **Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 239–246, fev. 2003. [https://doi.org/10.1016/S1537-5110\(02\)00240-4](https://doi.org/10.1016/S1537-5110(02)00240-4).

STANIEK, M. E.; HAMILTON, J. G. C. Odour of domestic dogs infected with *Leishmania infantum* is attractive to female but not male sand flies: Evidence for parasite manipulation. **PLOS Pathogens**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. e1009354, 18 mar. 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009354>.

SUKUMARAN, D. *et al.* Application of biogenic carbon dioxide produced by yeast with different carbon sources for attraction of mosquitoes towards adult mosquito traps. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 115, n. 4, p. 1453–1462, abr. 2016. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4879-z>.

SYED, Z.; LEAL, W. S. Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 106, n. 44, p. 18803–18808, 2009. doi.org/10.1073/pnas.0906932106.

TAVARES, D. D. S. *et al.* Attraction of phlebotomine sandflies to volatiles from skin odors of individuals residing in an endemic area of tegumentary leishmaniasis. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. e0203989, 24 set. 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203989>.

TCHOUASSI, D. P. *et al.* Common Host-Derived Chemicals Increase Catches of Disease-Transmitting Mosquitoes and Can Improve Early Warning Systems for Rift Valley Fever Virus. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. e2007, 10 jan. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002007>.

VAN ESSEN, P. H. *et al.* Differential responses of *Aedes* and *Culex* mosquitoes to octenol or light in combination with carbon dioxide in Queensland, Australia. **Medical and Veterinary Entomology**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 63–67, jan. 1994. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1994.tb00387.x>.

VICKERS, N. J. Winging It: Moth Flight Behavior and Responses of Olfactory Neurons Are Shaped by Pheromone Plume Dynamics. **Chemical Senses**, [s. l.], v. 31, n. 2, p. 155–166, 1 fev. 2006. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjj011>.

WHO. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: mar. 2025. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neglected tropical diseases**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/neglected-tropical-diseases>>. Acesso em: mar. 2025.

XUE, R. *et al.* Investigation of volatile biomarkers in liver cancer blood using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry: RCM**, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 1181–1186, abr. 2008. <https://doi.org/10.1002/rcm.3466>.

YAN, G. *et al.* Volatiles from Merino fleece evoke antennal and behavioural responses in the Australian sheep blow fly *Lucilia cuprina*. **Medical and Veterinary Entomology**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 491–497, dez. 2019. <https://doi.org/10.1111/mve.12383>.