



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA - UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

VALBIA DE SOUZA PORTO

SUSCETIBILIDADE DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) AO DIFLUBENZURON
E NOVALURON E SEUS EFEITOS RESIDUAIS, EM CAMPINA GRANDE (PB)

CAMPINA GRANDE - PB

2015

VALBIA DE SOUZA PORTO

SUSCETIBILIDADE DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) AO DIFLUBENZURON
E NOVALURON E SEUS EFEITOS RESIDUAIS, EM CAMPINA GRANDE (PB)

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas, pelo curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba-UEPB – Campus I – Campina Grande-PB.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra

CAMPINA GRANDE - PB

2015

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

P853s Porto, Valbia de Souza.

Suscetibilidade de *Aedes Aegypti* (diptera: Culicidae) ao diflubenzuron e novaluron e seus efeitos residuais, em Campina Grande (PB) [manuscrito] / Valbia de Souza Porto. - 2015.

49 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.

"Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, Departamento de Ciências Biológicas".

1. Reguladores de crescimento de insetos. 2. *Aedes aegypti*.
3. Controle químico. 4. Larvicida. I. Título.

21. ed. CDD 595.7

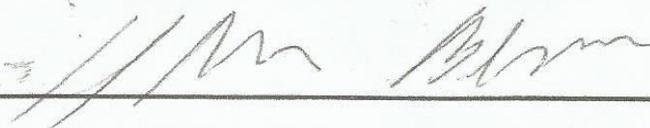
SUSCETIBILIDADE DE *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) AO
DIFLUBENZURON E NOVALURON E SEUS EFEITOS RESIDUAIS, EM
CAMPINA GRANDE (PB)

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial
para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas,
pelo curso de Ciências Biológicas
da Universidade Estadual da
Paraíba- UEPB – Campus I –
Campina Grande-PB.

Aprovado em: 29/12/2015

Nota: 9,8 (novo)

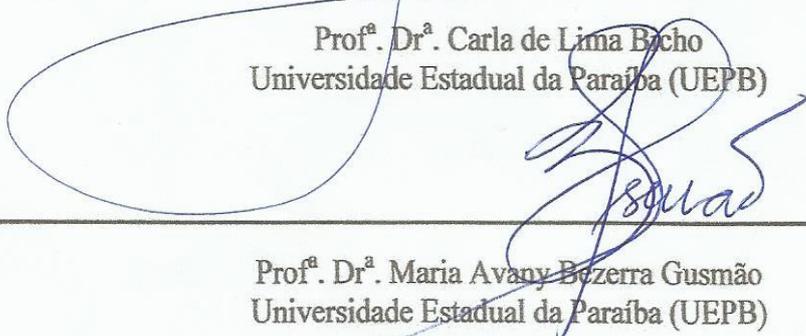
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr.ª Carla de Lima Bicho
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr.ª Maria Avany Bezerra Gusmão
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico este trabalho a minha família,
especialmente aos grandes homens da minha vida,
meu pai Sebastião Porto e meu irmão Wagner Porto.

Amo todos vocês!

AGRADECIMENTOS

Venho por meio deste, demonstrar meus singelos agradecimentos à todos que fizeram parte direta e indiretamente na concretização deste trabalho.

Quero agradecer, acima de tudo, à Deus por me proporcionar esta conquista, por abrir caminhos na minha vida, por toda proteção, enfim, por tudo, pois sem Ele nada seria possível.

Agradecer também a minha família, meu alicerce, que me aturaram nos momentos mais difíceis, pelos conselhos e pela ajuda sempre que necessário. Aos meus pais, Sebastião e Lourdes, em especial, os quais me deram todo amor, educação, cuidados necessários e por não me deixaram faltar nada. Ao meu irmão, Wagner, pela sua dedicação e esforço, que procurava tirar sempre um tempinho para investir no meu conhecimento, pelo incentivo na época do vestibular. Às minhas irmãs e amigas, Valdênia e Vilenia, as quais se mostraram disponíveis e presentes para tudo. Às minhas lindas sobrinhas, Milenna (que chegou até a ir ao laboratório comigo algumas vezes, obrigada pela companhia), Ana Júlia e Sarah, pela alegria contagiante e por cada sorriso roubado, pelo brilho no olhar. E aos meus cunhados, o eterno Berg que foi como um pai para mim; Adriana e Romero, por fazerem parte da minha vida, pelos momentos partilhados. Enfim, me orgulho de todos vocês e são em todos que eu me espelho.

Ao meu orientador, Eduardo Beserra, que me concedeu o privilégio de fazer parte da sua equipe, pela sua orientação, confiança, dedicação, e por ter me ajudado a vencer essa batalha. Homem esse de um caráter ímpar, de uma força incrível, que buscou se fazer presente até nas horas difíceis e a quem tenho uma imensa admiração, que me fez criar amor pela Entomologia e apreciá-la através de seu vasto e enriquecedor conhecimento.

E à toda equipe do laboratório de entomologia da UEPB, primeiramente à técnica mais bonita de todas, Renata, por tornar nosso trabalho mais divertido, simplesmente por ser essa pessoa simpática e extrovertida, além de toda a assistência e auxílio, a qual se mostrou presente desde o início. Aos mestres Rafael (bucho), Noiana e Sandrinha, os quais foram extremamente fundamentais, expandindo minha visão sobre o assunto, desde os conhecimentos mais básicos (que foram bastante válidos), e com os quais pude vivenciar momentos inesquecíveis, de coletas, idas nos feriados e finais de semanas ao laboratório e dentre outros, foram momentos de grandes experiências. A Bárbara pelo convívio e pela amizade e aos meus ex-entomólogos Gleydson e Dany, e a mais nova equipe, cada um com seu jeitinho especial, Raissa, Rayane, Steffany e Marllon, pelo grande apoio.

Aos meus amigos de turma, os quais vejo biólogos de grande potencial, Ahyanna (minha gêmea kkk), Anderson (e seus docinhos acadêmicos kkk :p), Yanne, Carol, Danilo, Andressa, Shirley, e aos agregados Brenda e Douglas (que os considero da turma) por todos os momentos compartilhados. Foram quatro anos de muito aprendizado com vocês, são pessoas as quais eu quero levar comigo para sempre. E amigas fora do curso, as de sempre Janine, Amanda, Elaine e Miny por suas verdadeiras e sinceras amizades, vocês são essenciais e são pessoas que tenho a certeza que posso contar pra tudo e com as quais tive e ainda tenho o privilégio de compartilhar momentos inesquecíveis.

Ao biólogo Bruno Figueiredo, pela grande força na época do vestibular, o qual se mostrou sempre à disposição, muito obrigada por todo apoio.

À banca examinadora por ter aceitado o convite e pelas arguições e contribuições.

À UEPB por toda assistência, por conceder minha formação, e pela oportunidade de me ter permitido a convivência com grandes profissionais, pelo espaço para realização das minhas atividades, e por me ingressar no mundo da pesquisa juntamente ao CNPq por toda ajuda na realização deste trabalho e pela concessão de bolsa de iniciação científica.

Enfim, meus gratos agradecimentos!

“A persistência é o caminho do êxito.”

Charlie Chaplin

RESUMO

O diflubenzuron e novaluron são Reguladores de Crescimento de Insetos que atuam interrompendo o desenvolvimento e o crescimento dos insetos. Consistem em importante ferramenta no controle químico do *Aedes aegypti*. O presente trabalho objetiva estabelecer o status de suscetibilidade ao diflubenzuron e ao novaluron, além de determinar o efeito residual sobre populações de *A. aegypti*. A pesquisa foi conduzida com amostras populacionais de *A. aegypti* coletadas no município de Campina Grande (PB), nos bairros do Alto Branco, Bodocongó, Nova Brasília e Cruzeiro. Os bioensaios de suscetibilidade e de efeito residual foram realizados com as dosagens recomendadas pela Organização Mundial da Saúde, de 0,25 mg i.a./litro para o diflubenzuron e de 0,02 mg i.a./litro para o novaluron. Todas as populações, quando submetidas aos produtos, apresentaram altos níveis de inibição de emergência de adultos (IE), (98,9 à 100%), observando-se o mesmo padrão de mortalidade tanto para a população de campo quanto para a linhagem Rockfeller de laboratório. Constatou-se, portanto, que as populações de *A. aegypti* estudadas são suscetíveis aos dois larvicidas. Foram observadas algumas alterações nas larvas submetidas ao diflubenzuron, como, o aumento no número de cerdas, larvas com os últimos segmentos abdominais transparentes, pupas distendidas e a morte de algumas na fase de pré-pupa. Quanto à atividade residual do diflubenzuron foi de 12 semanas para as amostras de *A. aegypti* do bairro do Bodocongó e da linhagem Rockfeller, enquanto que o novaluron teve um IE de 100% durante quatro semanas consecutivas. Os resultados demonstram que ainda não houve o desenvolvimento de resistência aos produtos nas populações avaliadas e que tais produtos possuem um alto poder residual, o que representa um elevado potencial para o controle de populações de *A. aegypti*.

Palavras-chave: Dengue. Vetor de arboviroses. Controle químico. Reguladores de Crescimento de Insetos. Larvicida. Inibição de Emergência de Adulto. Alterações morfológicas.

ABSTRACT

The diflubenzuron and novaluron are Insect Growth Regulators that work by stopping the development and growth of insects. It consists of important tool in the chemical control of *Aedes aegypti*. This study aimed to establish the susceptibility status to diflubenzuron and novaluron, and to determine the residual effect on populations of *A. aegypti*. The research was conducted with population samples of *A. aegypti* collected in the city of Campina Grande (PB), in the districts of Alto Branco, Bodocongó, Nova Brasília and Cruzeiro. The susceptibility and residual effect bioassays were carried out with dosages recommended by the World Health Organization, of 0.25 mg a.i. / liter of diflubenzuron and 0.02 mg a.i. / liter of novaluron. All the populations, when exposed to the products, showed high levels of adult emergence inhibition (EI), (98.9 to 100%), observing whether the same pattern of mortality for both the field population as for the Rockefeller lineage on laboratory. Contact is, therefore, that the *A. aegypti* populations studied are susceptible to both larvicides in question. Some changes were observed in the larvae exposed to diflubenzuron as the increase in the number of bristles, larvae having the last abdominal segments transparent, distended pupa and the death of some on the pre-pupae stage. Regarding to the diflubenzuron residual activity, it was 12 weeks for the samples of *A. aegypti* from the Bodocongó district and the Rockefeller lineage, whereas the novaluron had an EI of 100% during 4 consecutive weeks. The results show that has not yet occurred the development of resistance to the products on the evaluated populations and that these products have a high residual power, representing a high potential for the control of *A. aegypti* populations.

Keywords: Dengue. Arboviruses vector. Chemical control. Insect Growth Regulator. Adult Emergence Inhibition. Morphological alteration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae).....	17
Figura 2 - Inseticida diflubenzuron: (A) pó molhável; (B) fórmula estrutural 1-(4-clorofenil)-3-(2, 6- difluorobenzoil)-uréia.....	22
Figura 3 - Inseticida novaluron: (A) Forma líquida; (B) fórmula estrutural 1- (3-cloro-4-(1, 1, 2-trifluoro-2- trifluoromethoxi-ethoxi) fenil)-3-(2,6-difluoro benzoil)-uréia.....	22
Figura 4 - Bairros selecionados no município de Campina Grande (PB), com altos índices de infestação predial de <i>Aedes aegypti</i> , para realização das coletas, 2013.....	29
Figura 5 - Armadilha ovitrap para a coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) em campo.....	30
Figura 6 - Temperatura da sala; (A) sala do laboratório onde eram realizados os bioensaios, climatizada à 26°C; (B) termo-higrômetro, utilizado para verificar a temperatura da sala.....	31
Figura 7 - Caráter utilizado para a identificação das larvas L ₄ de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) (escamas do oitavo segmento abdominal).....	31
Figura 8 - Técnica de manutenção do <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) em laboratório. (A) acondicionamento das palhetas de eucatex para eclosão larval; (B) gaiolas de criação do adulto.....	32
Figura 9 - Bioensaios realizados em copos descartáveis para verificar a suscetibilidade larval de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae), com as quatro populações de campo oriundas de bairros de Campina Grande (PB), 2013/2014 e a população Rockefeller.....	33
Figura 10 - Testes do efeito residual com a população do bairro de Bodocongó e a	

população Rockefeller de laboratório.....	34
Figura 11 - Modificações morfológicas de imaturos de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) expostos ao diflubenzuron: (A) larva com últimos segmentos abdominais transparentes; (B) pupa distendida; (C) pré-pupas em estágio permanente.....	38
Figura 12 - Atividade residual do diflubenzuron sobre a população de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) coletada em Bodocongó, Campina Grande (PB), e o grupo controle, 2013/2014.....	40
Figura 13 - Atividade residual do diflubenzuron sobre a população suscetível de referência (Rockfeller).....	40
Figura 14 - Inibição de Emergência de Adulto (IE) em populações de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) expostas ao diflubenzuron.....	41
Figura 15 - Emergência de adultos de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) na população de Bodocongó, Campina Grande (PB), submetida à atividade residual do diflubenzuron.....	42
Figura 16 - Emergência de adultos de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) da população Rockefeller submetida à atividade residual do diflubenzuron.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Georeferenciamento dos pontos de coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) em bairros com altos índices de infestação predial, no município de Campina Grande (PB).....	28
Tabela 2 - Suscetibilidade larval das amostras populacionais de campo do <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) e da Rockfeller ao diflubenzuron.....	37
Tabela 3 - Suscetibilidade larval das amostras populacionais de campo do <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) e da Rockfeller ao novaluron.....	37
Tabela 4 - Atividade residual do novaluron sobre a população de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) de Bodocongó, Campina Grande (PB), e sobre a Rockfeller.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BPU	Benzoil-fenil-uréia
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
CL	Concentração Letal
DEN	Dengue
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GTEPO	Gerência de Entomologia e Pesquisa Operacional
i.a.	Ingrediente Ativo
IE	Inibição de Emergência de adulto
ISQs	Inibidores da Síntese e/ou Deposição de Quitina
IPCS	Programa Internacional de Segurança Química
IIP	Índices de Infestação Predial
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LIRAA	Levantamento Rápido do Índice de Infestação por <i>Aedes aegypti</i>
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNCD	Plano Nacional de Combate a Dengue
R	População Resistente
RCIs	Reguladores de Crescimento dos Insetos
MoReNAa	Rede Nacional de Monitoramento da Resistência do <i>A. aegypti</i> a inseticidas
S	População Suscetível
SE	Semana Epidemiológica
SS	Suscetível
SUCEN	Superintendência de Controle de Endemias
SUVISA	Superintendência de Vigilância em Saúde
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1	<i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) e sua importância epidemiológica.....	17
2.2	Casos de dengue.....	18
2.3	Formas de controle e produtos utilizados.....	20
2.4	Diflubenzuron e novaluron.....	21
2.5	Resistência e suscetibilidade.....	23
2.6	Efeito residual.....	25
3	OBJETIVOS.....	27
3.1	Objetivo geral.....	27
3.2	Objetivos específicos.....	28
4	METODOLOGIA.....	28
4.1	Caracterização da área de estudo.....	28
4.2	Coleta de amostras das populações de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae).....	30
4.3	Criação, identificação da espécie e bioensaios de laboratório.....	30
4.4	Técnica de manutenção de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) em laboratório.....	31
4.5	Bioensaios de laboratório.....	32
4.5.1	<i>Alteração da suscetibilidade aos Reguladores de Crescimento de Insetos</i>	32
4.5.2	<i>Avaliação do efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de <u>Aedes aegypti</u> (Diptera: Culicidae)</i>	34
4.5.3	<i>Análise dos dados</i>	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1	Suscetibilidade de populações de <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) ao diflubenzuron e novaluron.....	36
5.2	Modificações morfológicas de imaturos do <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae) ao diflubenzuron e novaluron.....	38
5.3	Efeito residual do diflubenzuron e do novaluron.....	39
6	CONCLUSÃO.....	43
	REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

Aedes aegypti é o principal vetor de doenças como a dengue e febre amarela no Brasil (BESERRA et al., 2006), além de ser também o transmissor da febre Chikungunya (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014) e do Zika vírus (SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, 2015). São insetos que apresentam um comportamento urbano, adaptado aos domicílios, o que resulta em um maior contato dos mosquitos com o homem (MARTINS e SILVA, 2004). Esse comportamento antropofílico e hematofágico leva a transmissão viral, que ocorre através das picadas das fêmeas infectadas, e com a falta de controle adequado pode gerar epidemias (BESERRA et al., 2006; ARAÚJO, 2013).

Como não há vacina antiviral disponível para a dengue, a única forma de controle da doença é através do controle da proliferação do vetor, seja por métodos mecânicos ou por meios químicos (GARCIA NETO, 2011).

O controle mecânico consiste na eliminação dos criadouros artificiais, como, caixas d'água, tonéis, pneus, vasos de plantas, dentre outros, que são capazes de acumularem água e que podem servir como recipientes para os mosquitos depositarem seus ovos, normalmente nas suas paredes internas, além de servirem para o desenvolvimento de suas formas imaturas. Depósitos esses de grandes variedades e que são facilmente encontrados no meio urbano, no peridomicílio e intradomicílio, que acabam favorecendo a manutenção de densidades elevadas do vetor e conseqüentemente potencializando os riscos de transmissão da dengue (ARAÚJO, 2013).

Outra estratégia adotada no controle do vetor se dá através do controle químico, com a aplicação de inseticidas, que consiste no principal método de controle populacional do *A. aegypti*. Como não há imunoterápicos específicos para a prevenção da dengue, o controle do vetor acaba se tornando o elo vulnerável da cadeia epidemiológica da doença (ARAÚJO, 2013).

Um dos problemas no controle de vetores com os inseticidas químicos é em relação à seleção de indivíduos resistentes, devido ao seu uso exclusivo por períodos prolongados, fato que vem sendo observado por diversos estudos (LIMA et al. 2003, 2006; BESERRA et al. 2007; GAMBARRA et al. 2013; DINIZ et al. 2014). A resistência acaba inviabilizando o controle químico (LIMA et al. 2006), requerendo de forma permanente a verificação do status de suscetibilidade de populações de *A. aegypti*, para em caso de alteração, serem tomadas medidas cabíveis quanto ao monitoramento e reversão da resistência. Com o monitoramento é possível se reverter o problema e evitar a substituição dos produtos utilizados e o crescimento

populacional do mosquito (PAIVA, 2013). Sendo assim, os programas de controles com aqueles produtos podem ser mantidos evitando-se custos adicionais consequente de sua substituição.

Na Paraíba, desde o ano de 2011, uma das medidas recomendadas pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), se constituiu na substituição do organofosforado temefós por Reguladores de Crescimento de Insetos (RCIs), novaluron e diflubenzuron (SINAN/SES-PB, 2011), que vem sendo utilizado até hoje no intuito de controlar as populações do vetor.

O uso de RCIs consiste em uma das estratégias de controle químico. Surgiram na década de 70 com uma ação mais específica, visto que, ao invés de atuarem com uma intoxicação direta eles atuam seletivamente ao interromper o desenvolvimento e o crescimento do inseto, provocando modificações fisiológicas e morfológicas durante o seu desenvolvimento, além de conferir uma menor toxicidade para os mamíferos, comparados aos outros inseticidas (MARTINS e SILVA, 2004).

Os RCIs são produtos de baixa diluição (Novaluron= 0,003 mg i.a./litro; Diflubenzuron 0,25 mg i.a./litro), o que contribui para o aumento do poder residual na água tratada, levando a maior persistência e melhor controle do vetor. A baixa solubilização contribui para a segurança dos produtos, já que a ingestão diária ficará muito abaixo da ingestão aceitável. Como são produtos de uso recomendado pela Organização Mundial de Saúde em água potável, inclusive aquela de beber, representam inseticidas com alto potencial de uso no controle do *A. aegypti* (WHO, 2007).

Porém, embora esses inseticidas sejam seguros à saúde do homem, eles constituem elementos de pressão seletiva sobre organismos alvo e não alvo, atuando de forma diferenciada dos inseticidas tradicionais com ação neurotóxica, que podem, com o uso contínuo, levar ao desenvolvimento da resistência pelos insetos alvo, como registrado por Braga e Valle (2007), o que representa um desafio nos programas para seu controle (ARAÚJO, 2013).

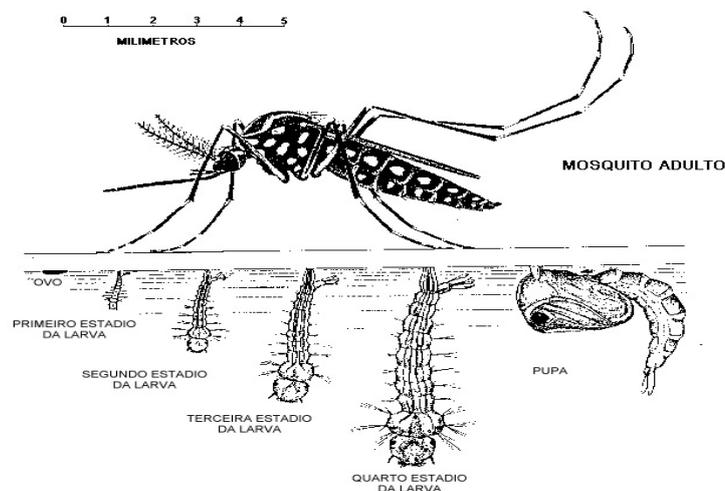
Já que o *A. aegypti* é transmissor da dengue, da febre amarela, do Chikungunya e do Zika vírus é importante ressaltar o valor do controle relacionado à esse mosquito vetor de doenças de grande importância epidemiológica. Portanto, é perfeitamente justificável e relevante a realização deste trabalho que visa verificar o status de suscetibilidade de populações de *A. aegypti* ao diflubenzuron e novaluron, bem como verificar a ocorrência de alterações morfológicas nas formas imaturas e o efeito residual desses produtos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e sua importância epidemiológica

O ciclo de vida do *Aedes aegypti* é do tipo holometábolo, ou seja, desenvolve-se por metamorfose completa, compreendendo quatro estágios: ovo, larva (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto (Figura 1). A fêmea do mosquito oviposita, preferencialmente, em criadouros artificiais, e o acúmulo e disponibilidade desses depósitos favorece a oviposição, provoca aumento na população do mosquito e conseqüentemente nos casos de dengue (GARCIA NETO, 2011).

Figura 1 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).



Fonte: Hospital Especial de Cubará, 2013.

Normalmente, a presença e densidade de vetores está diretamente relacionada a ocorrência de epidemias, como no caso da dengue associada ao *A. aegypti*, seu principal transmissor (GARCIA NETO, 2011).

O desenvolvimento e a proliferação do mosquito são favorecidos nos países tropicais, devido principalmente as suas condições ambientais (FUNASA, 2001). Nessas regiões, os mesmos completam o desenvolvimento de ovo a adulto em cerca de 15 a 30 dias de duração, o que confere um curto ciclo biológico (BESERRA et al., 2006). Glasser e Gomes (2002) apontam a temperatura, a umidade relativa do ar e a pluviosidade como fatores ambientais fundamentais para o desenvolvimento e a permanência das populações do *A. aegypti*, bem

como destacam também os fatores sociais, como, a demografia, atividade econômica e o nível educacional.

A dengue é considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, sendo uma das doenças mais frequentes do Brasil (GARCIA NETO, 2011). De acordo com o Ministério da Saúde (2010), as estimativas são que cerca de 50 a 100 milhões de pessoas são acometidas, anualmente, pelo vírus da dengue. Doenças como a dengue, que não possui uma vacina, apresentam alta velocidade de propagação devido ao aumento no número de pessoas infectadas, o que acaba por dificultar o seu controle (GUBLER; CLARK, 1995).

Com base no 1º LIRAA referente ao período de 05 a 09 de janeiro, Campina Grande - PB apresentou um índice de infestação predial (IIP) de 4,4%, tornando-se um município com alto risco de surto da dengue (SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE, 2015), necessitando de medidas de controle urgente para se evitar surtos da doença.

Um fato importante é que, além de transmissor da dengue, o *A. aegypti* é vetor de outras doenças, como, a febre amarela e de dois novos arbovírus para as Américas, o Chikungunya e o Zika vírus, os quais foram introduzidos no Brasil entre julho/agosto de 2014 e provavelmente no mesmo período durante a Copa do Mundo em 2014, respectivamente (VASCONCELOS, 2015).

Em relação ao Chikungunya, em 2014, foram notificados 3.657 casos autóctones suspeitos em oito municípios pertencentes aos estados da Bahia, Amapá, Roraima, Mato Grosso do Sul, e ao Distrito Federal, entre a 37º (de 07/09/14 a 13/09/14) e 53º (de 28/12/14 a 03/01/15) Semana Epidemiológica (SE). Também foram registrados casos no Amazonas, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo. Já em 2015, até a 45º SE (04/01/15 a 14/11/15), 6.724 casos foram confirmados e 8.926 continuam em investigação (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2015).

O flavivírus Zika vírus mostra uma capacidade de dispersão muito rápida, fato esse que acaba sendo preocupante e que também foi observado com o Chikungunya nos últimos dois anos nas Américas. Na Bahia e em São Paulo em fevereiro de 2015, através de métodos moleculares, foram confirmados a circulação da doença causada pelo Zika vírus, logo depois foram também confirmados casos no Rio Grande do Norte, Alagoas, Maranhão, Pará e Rio de Janeiro. Um fato importante é que no Brasil, associado ao Zika vírus tem sido comumente registrado quadros mais severos incluindo o comprometimento do sistema nervoso central (VASCONCELOS, 2015).

2.2 Casos de dengue

Em 2015, foram registrados 1.534.932 casos prováveis de dengue até a SE 45, que compreende o período de 04/01/15 a 14/11/15. A região Sudeste foi a que apresentou o maior número de casos notificados, com 975.505, equivalendo a 63,6% em relação ao total do país, seguido pelo Nordeste com 278.945 (18,2%); Centro-Oeste com 198.555 (12,9%), Sul com 51.784 (3,4%) e Norte com 30.143 (2%) dos casos. Através da análise da incidência de casos prováveis de dengue, número de casos/100 mil hab., foi possível observar que as regiões Centro-Oeste e Sudeste apresentaram uma maior incidência, que foram de 1.304,6 casos/100 mil hab. e 1.146,1 casos/100 mil hab., respectivamente. Desses casos no Nordeste, até a SE 45, no ano de 2015, foram notificados 19.831 registros na Paraíba, sendo que em 2014 foram notificados 5.353 casos, os quais obtiveram uma incidência de 502,8 em 2015 e de 135,7 em 2014 (SVS, 2015).

Até a 45° SE, em 2015 foram confirmados 1.488 casos de dengue grave em todo o Brasil, sendo que nove deles ocorreram na Paraíba e 18.832 casos de dengue com sinais de alarme, sendo 75 desses na Paraíba. No mesmo período no ano de 2014, foram 728 casos graves, com 11 na Paraíba e 8.247 casos de dengue com sinais de alarme, sendo 105 na Paraíba. Em relação ao número de óbitos em 2015, foram registrados 811 casos em todo o Brasil, quatro desses ocorreram no estado da Paraíba, sendo que no mesmo período de 2014 foram confirmados 453 casos de óbitos, com nove casos na Paraíba. Houve, portanto, um aumento no país de 79% no ano de 2015, quando comparado ao mesmo período do ano de 2014 (SVS, 2015).

Quanto aos sorotipos virais, 8.587 deram positivos, o que equivale a 39,2% das 21.890 amostras enviadas para realização do exame de isolamento viral. A maior proporção foi de DENV1 (93,7%), seguidos pelos sorotipos DENV4 (5,2%); DENV2 (0,7%) e pelo DENV3 (0,4%). Na Paraíba, das 64 amostras enviadas sete deram positivas, os quais apresentaram um maior número de sorotipos DENV3 e DENV4, 42,9% e 28,6%, respectivamente, e de DENV1 e DENV2, de 14,3% para ambos (SVS, 2015).

2.3 Formas de controle e produtos utilizados

O controle de vetores consiste em manter uma população natural a uma densidade baixa para evitar a transmissão de doenças e os surtos epidêmicos (FREITAS, 2010). O controle do *A. aegypti* consiste em medidas de controle as larvas e dos adultos, tornando o combate à dengue um enorme desafio, pois seu controle, basicamente, está restrito ao controle do vetor (TAUIL et al., 2006).

As formas de controle consistem no controle mecânico, biológico e químico, e se dá geralmente, através da eliminação dos criadouros naturais e artificiais dos mosquitos, na aplicação de larvicidas e inseticidas nas formas adultas durante os períodos de surtos (BARRETO, 2005; ARAÚJO, 2013).

Quando à eliminação mecânica torna-se inviável, o controle do vetor consiste basicamente na aplicação periódica de larvicidas nos recipientes que possam atuar como criadouros, fator esse conhecido como tratamento focal direcionado ao controle das larvas (PAULA, 2010).

O controle químico é um método fundamental e amplamente utilizado nos programas de controle de mosquitos (SILVA, 2006). A rapidez e facilidade de atuação desses produtos são vantagens quando empregados nas estratégias de controle do *A. aegypti*, principalmente em períodos interepidêmicos (PAULA, 2010).

O que levou ao surgimento dos RCIs foi o entendimento nos processos de muda dos insetos juntamente com a descoberta de que a aplicação do hormônio juvenil, e de seus análogos, poderia interromper o seu desenvolvimento, levando-o a morte. De acordo com o seu modo de ação, os RCIs podem ser divididos como: análogos do hormônio juvenil, inibidores da síntese e/ou deposição de quitina (ISQs) e os derivados do composto orgânico triazina (SILVA, 2006).

Devido ao desenvolvimento da resistência aos produtos utilizados no Plano Nacional de Combate a Dengue (PNCD), como o organofosforado temefós e cipermetrina, os RCIs foram introduzidos no PNCD (CAMPOS e ANDRADE 2003; LUNA et al., 2004; MARTINS e SILVA 2004; PAIVA, 2011; GARCIA NETO, 2011).

A substituição foi necessária devido à ineficácia do temefós em campo, o que ocorreu em consequência do desenvolvimento de resistência do *A. aegypti* ao produto, como resultado de sua intensa utilização nos programas de controle, como constatado através de estudos realizados com populações naturais do vetor oriundas de vários municípios do estado da Paraíba (BESERRA et al. 2007; GAMBARRA et al. 2013; DINIZ et al. 2014).

Devido tal, fato houve a substituição, pelo PNCD, do até então larvicida empregado para o biolarvicida *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), além de um intenso monitoramento de resistência de uma forma sistemática, para controle dos adultos eram utilizados piretróides deltametrina e cipermetrina. Como o tratamento não foi tão eficaz, devido não serem empregados a tempo para proceder a reversão da resistência (PAIVA, 2013), tornaram-se os RCIs (diflubenzuron e o novaluron) (BRAGA; VALLE, 2007; FONTOURA, 2008). Os RCIs possuem altos níveis de atividade e eficácia no controle de várias espécies de insetos, sendo os mais utilizados o deiflubenzuron e o novaluron (BRAGA e VALLE, 2007; FONTOURA, 2008).

A quitina é um polissacarídeo (N-acetylglucosamine) considerado o principal constituinte da cutícula dos insetos (RAJASEKAR e JEBANESAN, 2012; FARNESI et al., 2012). Funciona como uma barreira de proteção contra as agressões ambientais, fornecendo suporte mecânico e estrutural ao exoesqueleto. Para crescerem os insetos, devido a rigidez do seu exoesqueleto, precisam realizar mudas periódicas, que compreende desde a degradação da cutícula antiga até a síntese dos componentes da nova cutícula e “montagem” da nova cutícula (FONTOURA, 2008). Os ISQs vão atuar sobre as larvas quando ingeridos, que passam a ter dificuldades no processo da ecdise ou muda periódica do tegumento. Devido à má formação de uma nova cutícula eles passam a não suportar a pressão interna ou não conseguem dar suporte aos músculos envolvidos, resultando na incapacidade de eliminar os restos deixados (exúvia), provocando conseqüentemente sua morte (GARCIA NETO, 2011). Além dos ISQs atuarem sobre as larvas, podem afetar inibição da pupação e nos adultos derivados de larvas sobreviventes, com alterações morfológicas e fisiológicas (FONTOURA, 2008).

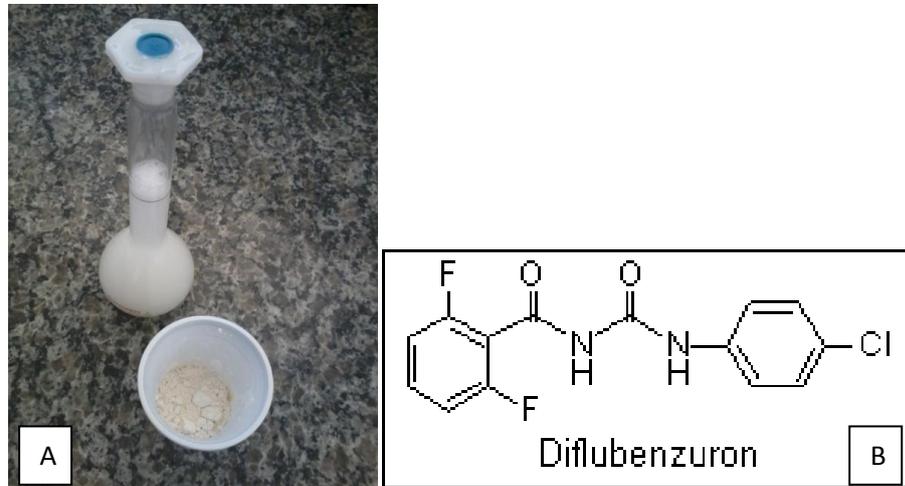
A avaliação e o monitoramento de inseticidas torna-se um fator indispensável, sendo necessário realizar-se a verificação da eficácia dos produtos rotineiramente empregados, como também a análise do parâmetro de desenvolvimento de resistência de vetores (SILVA, 2006).

2.4 Diflubenzuron e novaluron

O diflubenzuron (Figura 2), composto conhecido quimicamente por 1-(4-clorofenil)-3-(2,6-difluorobenzoil)-uréia (FAO/WHO, 2002), e o Novaluron (Figura 3), 1-(3-cloro-4-(1, 1, 2-trifluoro-2-trifluoromethoxy-ethoxy) fenil)-3-(2,6-difluoro benzoil)-uréia (FAO/WHO, 2005). São produtos à base de benzoil-fenil-uréia (BPU), sendo que o diflubenzuron foi o primeiro produto a ser utilizado e mais recentemente o novaluron, dentre os RCIs, recomendados e distribuídos pelo Ministério da Saúde (ARAÚJO, 2013). O modo de ação

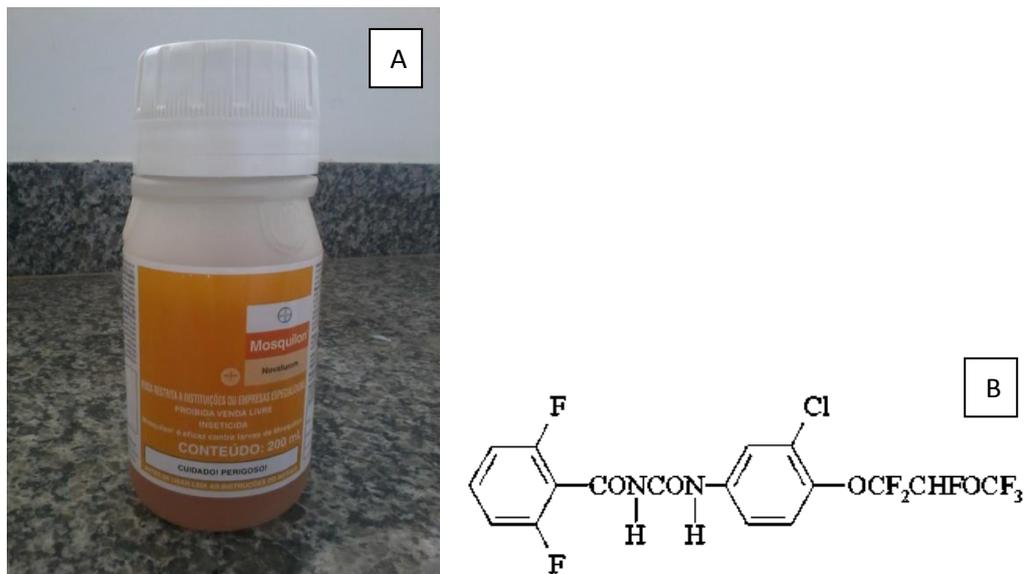
ocorre principalmente por ingestão, mas pode também ocorrer por contato com o tegumento (GROSSCURT et al., 1988).

Figura 2 - Inseticida diflubenzuron: (A) pó molhável; (B) fórmula estrutural 1-(4-clorofenil)-3-(2, 6- difluorobenzoil)-uréia.



Fonte: IPCS, 2001.

Figura 3 - Inseticida novaluron: (A) forma líquida; (B) fórmula estrutural 1-(3-cloro-4-(1, 1, 2-trifluoro-2- trifluoromethoxi-ethoxi) fenil)-3-(2,6-difluoro benzoil)-uréia.



Fonte: FAO/WHO, 2005.

2.5 Resistência e suscetibilidade

Segundo a OMS, a capacidade de uma população de insetos de tolerar uma dose de inseticidas, que em condições normais, causariam sua morte consiste na definição de resistência, ou seja, a resistência ocorre quando uma população de insetos diminui sua resposta a um inseticida significativamente a sua resposta normal, e acaba selecionando aqueles indivíduos que possuem alelos que conferem resistência (BRAGA; VALLE, 2007).

O desenvolvimento da resistência do mosquito ao produto, que pode ser devido ao uso frequente de inseticidas, chega a comprometer o controle do vetor, favorecendo consequentemente a transmissão de doenças (CARVALHO et al., 2004).

No Brasil desde 1846, nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro, existem evidências que apontam epidemias de dengue (GARCIA NETO, 2011). Após a primeira grande epidemia, em 1986, foi intensificado o uso de inseticidas químicos no controle de *A. aegypti* no Brasil (FONTOURA, 2008). Em pouco tempo, em diversas regiões do país começaram a existir casos de resistência ao organofosforado temefós (CAMPOS; ANDRADE 2001; CARVALHO et al., 2001, 2004; LIMA et al., 2003; BRAGA et al., 2004; LIMA et al., 2006; PAULA, 2010; FONTOURA et al., 2012), que vem sendo utilizado no controle de larvas de desse mosquito desde 1967 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1968), levando à implantação de programas de monitoramento da suscetibilidade do mosquito aos inseticidas químicos (BARRETO, 2005).

Em 1998, foi proposta a realização do monitoramento da resistência dos vetores a inseticidas, no I Seminário Internacional de Controle de Vetores e Reservatórios, devido à necessidade de avaliar a suscetibilidade dos vetores aos inseticidas utilizados para seu controle no Brasil, o qual teve como prioridade o controle do *A. aegypti* e que resultaram na diminuição da persistência de temefós em simulações de campo (FUNASA, 1999). Por isso, a importância de se verificar o status de suscetibilidade do mosquito, para que se observe se há o desenvolvimento da resistência e, se necessário, ocorrer a substituição do produto (FONTOURA, 2008).

A Rede Nacional de Monitoramento da Resistência de *A. aegypti* a Inseticidas (MoReNAa) foi instituída, em 1999, sob a coordenação da Gerência de Entomologia e Pesquisa Operacional (GTEPO) da Funasa. Essa rede serve como subsídio às decisões do Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) para o manejo da resistência e auxilia com alternativas de controle do vetor, representando um avanço no controle do mesmo no país (BRAGA e VALLE, 2007). Com a formação dessa Rede, no âmbito do PNCD, foi

iniciado o monitoramento da susceptibilidade de populações brasileiras de *A. aegypti* aos inseticidas empregados (ARAÚJO, 2013).

A Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), de São Paulo, registrou os primeiros resultados de alteração da suscetibilidade do *A. aegypti* a inseticidas, os quais surgiram através de testes laboratoriais (BRAGA e VALLE, 2007).

Na Paraíba, uma das medidas recomendadas pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), a partir de junho de 2011, a fim de tornar o controle do vetor mais eficaz, foi a substituição do inseticida, até então utilizado, temefós, pelos RCIs, como o diflubenzuron e novaluron (SINAN/SES-PB, 2011). Isso ocorreu haja vista que a utilização do temefós não respondia satisfatoriamente, o que se devia entre outros aspectos, ao desenvolvimento de resistência gerado possivelmente pela intensa aplicação do mesmo. Nesse estado, esse fato foi comprovado através de estudos realizados com populações de *A. aegypti* oriundas de vários municípios (BESERRA et al., 2007; SILVA, 2010; GAMBARRA et al., 2013; DINIZ et al., 2014), em que foram detectadas a resistência das populações ao temefós.

Desde a década de 1970, nos Estados Unidos, que os RCIs tornaram-se uma importante ferramenta no controle de mosquitos. Porém, só dez anos depois foi que o diflubenzuron começou a ser utilizado (GARCIA NETO, 2011), quando, em 1982, a OMS preconizou seu uso para o controle de mosquitos (WHO, 2008).

Os produtos indicados pela OMS para uso em água de consumo humano, e autorizado pelo Programa Internacional de Segurança Química – IPCS, são o temefós, Bti, diflubenzuron, novaluron e piriproxifeno. Porém, o diflubenzuron mostrou-se mais eficaz e efetivo em avaliação coordenada pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), no período de 2004 a 2005 (SVS, 2006).

A partir da verificação de casos de desenvolvimento da resistência, vários estudos têm sido feitos para testarem a eficácia do diflubenzuron e novaluron e confirmarem a eficiência dos produtos (SILVA, 2006; MARTINS E SILVA, 2004; GARCIA NETO, 2011). Silva (2006) observou a partir das CL_{50} e CL_{90} , a susceptibilidade do *A. aegypti* ao diflubenzuron em Uberlândia (MG), o qual se mostrou efetivo em todos os estágios larvais e, os mosquitos adultos apresentaram uma longevidade reduzida. Martins e Silva (2004) avaliaram a atuação do diflubenzuron na atividade inibidora na ecdise de larvas do *A. aegypti*, e verificaram uma mortalidade de 100% em laboratório. Segundo os autores, o 3º estágio apresentou-se o mais tolerante à ação inibidora do produto em concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1 mg/L.

Garcia Neto (2011) realizou experimentos de efeito residual, com uma reposição diária de 20% de água e observou que houve mortalidade de 100% nas larvas submetidas ao

diflubenzuron o autor observou um pequeno decréscimo da mortalidade média a medida que os ciclos de reposição de água e larva foram acontecendo.

Segundo Fontoura (2008), o novaluron mostrou-se eficaz sobre larvas L3 de *A. aegypti* da cepa Rockefeller, quando aplicada a concentração de 0,4 mg/L, além de se mostrar eficaz sobre as populações de campo testadas. Verificou, ainda, que quanto maior a dose mais precoce é a mortalidade.

2.6 Efeito residual

O efeito residual é outro aspecto que deve ser analisado para a definição do uso de um inseticida. Vale ressaltar que pode ocorrer variação no efeito residual em função da formulação e aplicação do inseticida (GARCIA NETO, 2011). A avaliação do efeito residual é outra medida adotada nos programas de controle de insetos. Por ser uma atividade de fácil aplicação, se constitui em um ótimo indicador para a determinação do intervalo de tempo entre os ciclos de tratamento dos depósitos no controle do inseto (PONTES et al., 2005).

O efeito residual consiste na capacidade, por um determinado tempo, de um larvicida manter dosagens letais para um organismo alvo, o qual é observado através da mortalidade diária das larvas. Sendo assim, é de extrema importância fazer a avaliação do efeito residual de todos os larvicidas disponibilizados nas atividades de campo (PONTES et al., 2005).

Portanto, o efeito residual do larvicida auxilia no período pré-suposto para o ciclo de aplicação no seu tratamento (GARCIA NETO, 2011). Como ocorreu com o temefós que possui um efeito residual de três meses. Com base nisso, a SUCEN, dentro das atividades do Programa de Controle do Dengue e Febre Amarela, determinou a visita domiciliar das equipes municipais de controle de vetores com periodicidade trimestral. Com a aplicação do larvicida, através da periodicidade proposta, juntamente às demais atividades de controles, é possível manter baixas densidades da espécie alvo, impedindo, conseqüentemente, a transmissão da doença (MACORIS et al., 1995).

O novaluron é um produto de baixa diluição, em que no momento do tratamento é solubilizada apenas uma pequena quantidade, ficando o restante assentado nas laterais e no fundo do recipiente, o que aumenta a segurança quando o mesmo é utilizado em água potável (SUVISA, 2012).

Experimentos de efeito residual realizados com renovação de água são fundamentais para simular as condições mais frequentemente encontradas na situação de campo. Caixas d'água, cisternas e outros reservatórios domésticos são submetidos à permanente

esvaziamento e reposição de água, o que provoca uma diminuição na duração do efeito residual (PONTES et al., 2005).

É pré-requisito para a implementação dos RCIs, no controle do *A. aegypti* e nas atividades de rotina nos programas de controle do vetor, é o conhecimento sobre a ação e a eficiência dos mesmos (BRAGA e VALLE, 2007).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O presente estudo objetiva estabelecer o status de suscetibilidade aos Reguladores de Crescimento de Insetos (RCIs), diflubenzuron e novaluron, no município de Campina Grande - PB, bem como, verificar o efeito residual dos mesmos sobre populações de *Aedes aegypti*.

3.2. Objetivos específicos

- Verificar a mortalidade dos imaturos submetidos aos testes;
- Registrar modificações morfológicas dos imaturos;
- Determinar o tempo de ação do diflubenzuron na população de Bodocongó, Campina Grande (PB), e na Rockfeller;
- Investigar se há desenvolvimento e resistência ao diflubenzuron e novaluron.

4. METODOLOGIA

4.1. Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi conduzida a partir de amostras de populações de *Aedes aegypti* coletadas no município de Campina Grande (PB) (07°13'50''S; 35°52'52''W). Foram selecionados aqueles bairros com histórico de uso de RCIs e que apresentaram os maiores índices de incidência do vetor, segundo informações obtidas na Secretaria Municipal de Saúde (Tabela 1) e com base nos Índices de Infestação Predial (IIP). De acordo com o preconizado pela OMS, IIP entre 1 e 3,9% representa uma situação de alerta para a ocorrência de dengue, enquanto que $IIP > 4\%$, indica o risco direto de surto da doença. Cada ponto amostral foi georeferenciado no espaço levando-se em consideração as coordenadas geográficas, com o GPS Apontador Slimway. Os locais selecionados (Figura 4) foram os bairros Alto Branco, com o IIP de 5,8%, Bodocongó (5,8%), Nova Brasília (4,0%) e Cruzeiro (3,1%).

Tabela 1 - Georeferenciamento dos pontos de coleta de ovos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em bairros com altos índices de infestação predial, no município de Campina Grande (PB).

Bairros	Coordenadas	Altitude
Alto Branco	S 57.20480°, O 35.88025°	610m
Bodocongó	S 7.22226°, O 35.91863°	547m
Nova Brasília	S 7.22148°, O 35.86455°	542m
Alto Branco	S 7.25217°, O 35.90322°	526m

4.2. Coleta de amostras das populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

As coletas ocorreram entre agosto e dezembro de 2013. Nas áreas de coleta foram instaladas 50 armadilhas para a coleta de ovos (ovitrap) (Figura 5), distribuídas no intra e peridomicílio de residências escolhidas ao acaso, de forma a cobrir toda área ou bairro pré-selecionado.

Figura 5 - Armadilha ovitrap para a coleta de ovos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em campo.



Após quatro dias de instaladas as armadilhas foram recolhidas, as quais foram levadas ao laboratório e as palhetas com os ovos de *A. aegypti* foram utilizadas para realização de criação, identificação da espécie e realização dos bioensaios.

4.3. Criação, identificação da espécie e bioensaios de laboratório

A pesquisa foi conduzida no laboratório de Entomologia do Núcleo de Sistemática e Bioecologia de Insetos da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), em salas climatizadas a temperatura de 26°C (Figura 6 A e B) e fotofase de 12 horas. Para a confirmação da espécie, as larvas L₄ foram montadas em lâminas sob microscópio estereoscópio e identificadas (Figura 7) utilizando-se a chave dicotômica contida em Forattini (2002) e Rueda (2004). Após, as criações foram estabelecidas.

Figura 6 - Temperatura da sala; (A) sala do laboratório onde eram realizados os bioensaios, climatizada à 26°C; (B) termo-higrômetro, utilizado para verificar a temperatura da sala.

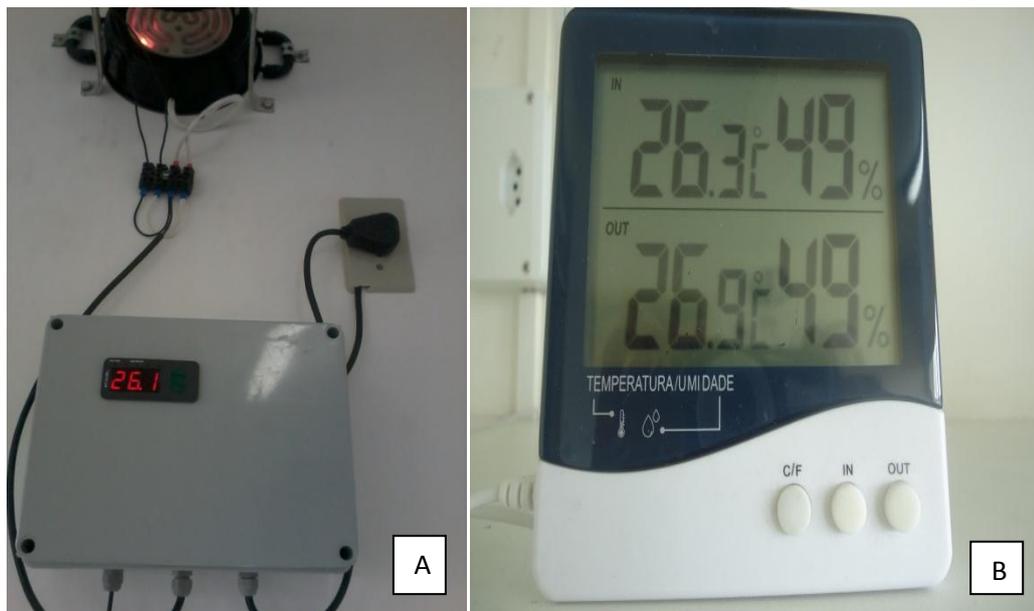
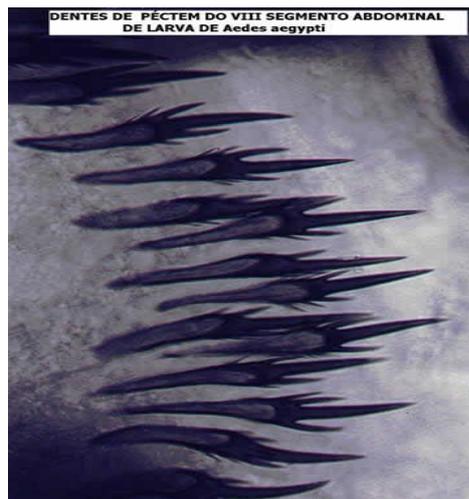


Figura 7 - Caráter utilizado para a identificação das larvas L₄ de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (escamas do oitavo segmento abdominal).



Fonte: http://www2.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/pagina_imagens/foto7.htm

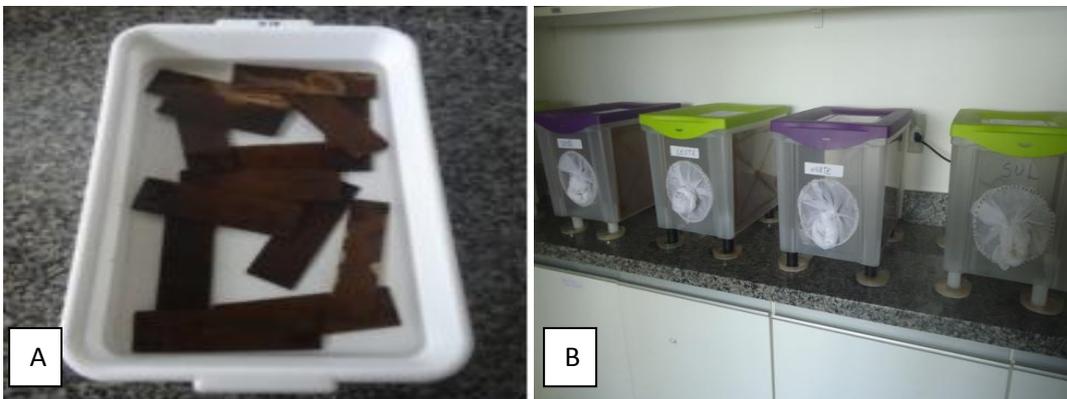
4.4. Técnica de manutenção de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em laboratório

A criação e manutenção de *A. aegypti* ocorreu durante todo o período experimental de agosto de 2013 a julho de 2014. A metodologia de criação seguiu aquela descrita por Beserra e Castro Jr (2008). As palhetas de eucatex contendo ovos do vetor provenientes do campo foram colocadas para secar por 48h e, em seguida, acondicionadas em bandejas plásticas de cor branca (Figura 8A) (40 x 27 x 7,5 cm), com um terço de sua capacidade preenchida com

água destilada. Após a eclosão, ração para peixe ornamental (Alcon/Goldfish crescimento) foi oferecida na proporção de 100 mg/bandeja, sendo as mesmas cobertas por tela de malha fina. As pupas, após sexadas (100 machos e 100 fêmeas), foram acondicionadas em copos descartáveis de 250 ml com água destilada e colocados em gaiolas de manutenção dos adultos (Figura 8B).

Os adultos foram alimentados com solução de mel a 20% (Figura 8C) e para as fêmeas foi permitido também o repasto sanguíneo em codornas, *Coturnix japonica*, durante 15 minutos, três vezes por semana. Após o repasto, foi introduzido na gaiola um copo descartável com água destilada, com um papelão para servir como substrato de oviposição.

Figura 8 - Técnica de manutenção do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) em laboratório: (A) acondicionamento das palhetas de eucatex para eclosão larval; (B) gaiolas de criação do adulto.



4.5. Bioensaios de laboratório

4.5.1. Alteração da suscetibilidade aos Reguladores de Crescimento de Insetos

Avaliaram as quatro amostras populacionais naturais de *A. aegypti* e a linhagem Rockfeller como população suscetível de referência. As populações foram submetidas às concentrações de 0,25 mg/l do diflubenzuron (25% i.a. Champion Farmoquímico LTDA) e de 0,02 mg/l do novaluron (92,5% pp Bayer Environmental Science), que são as dosagens recomendadas para o uso nos programas de controle do vetor (WHO 2006, 2008), bem como, à água destilada como controle.

Para cada tratamento, 25 larvas do mosquito no início do instar L₃ foram distribuídas em copos descartáveis, em um volume de 400 ml (Figura 9) da solução aquosa para o

diflubenzuron e 100 ml para o novaluron. No grupo controle foram utilizados, os mesmos volumes de água destilada, sendo cada um dos tratamentos com quatro repetições.

Figura 9 - Bioensaios realizados em copos descartáveis para verificar a suscetibilidade larval de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), com as quatro populações de campo oriundas de bairros de Campina Grande (PB), 2013/2014 e a população Rockefeller de laboratório.



Segundo Martins e Silva (2004), a larva de 3º estágio foi considerada a fase mais tolerante à ação inibidora do diflubenzuron. Por isso, no presente trabalho foram utilizadas larvas L₃ para que se avaliasse a eficácia do produto.

Em ambos os experimentos, os copos foram cobertos com tecido *voil*, para evitar o escape de mosquitos adultos e, em cada copo amostrado, adicionou-se 1 mg de ração para peixe ornamental, a cada dois dias, para favorecer o desenvolvimento e crescimento larval. As avaliações foram diárias até o registro da mortalidade de todos os indivíduos ou que ocorresse a emergência dos adultos.

De acordo com critérios da OMS, através da interpretação do padrão de suscetibilidade, uma população suscetível e aquela que apresenta uma mortalidade $\geq 98\%$, de 80 à 98% ocorre a verificação da resistência e uma população resistente apresenta mortalidade $\leq 80\%$.

O Índice de Inibição de Emergência de Adulto (IE) foi avaliado. O IE é um parâmetro para a ação dos reguladores de crescimento dos insetos e foi calculado através da fórmula: $IE\% = 100 - (T \times 100/C)$.

Onde: T= porcentagem de sobreviventes ou emergidos no grupo tratado; C= porcentagem de sobreviventes ou emergidos no grupo controle.

4.5.2. Avaliação do efeito residual do diflubenzuron e novaluron sobre larvas de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)

Para esta análise foi utilizada apenas a amostra populacional coletada no bairro de Bodocongó, além da linhagem Rockfeller, pois dentre as amostras populacionais naturais avaliadas, foi a que apresentou um dos maiores IIP (5,8%) e uma maior quantidade de ovos armazenados.

As larvas de ambas as populações foram expostas às soluções aquosas dos inseticidas, nas concentrações de 0,25 mg/l para o diflubenzuron e de 0,02 mg/l para o novaluron. Os testes foram realizados em bandejas plásticas utilizando o volume de 1,5L de ambas as soluções e o mesmo volume de água destilada foi usado para o controle (Figura 10). Em cada tratamento, foram utilizadas 25 larvas em estágio larval L3, com quatro repetições.

Durante o experimento, ofertou-se ração para peixe ornamental às larvas a cada dois dias, para garantir o desenvolvimento dos indivíduos e as bandejas foram cobertas com telas de tecido *voil* para evitar o escape dos adultos.

Quando havia a emergência de todos os adultos no grupo controle, o nível de água era repostado e um novo grupo de 25 larvas adicionado às bandejas. Era realizado a reposição de água quando era feito a reposição larval para manter a solução a volume de 1,5L constante, sendo as larvas remanescentes contadas e registradas diariamente a sua mortalidade. Em ambos os testes, o tempo de atividade residual foi registrado, bem como, a Inibição da Emergência de Adulto (IE).

Figura 10 - Teste do efeito residual com a população do bairro de Bodocongó e a população Rockfeller de laboratório.



4.5.3 Análise dos dados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando o software estatístico ASSISTAT 7.7 beta.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Suscetibilidade de populações de *Aedes aegypti* ao diflubenzuron e novaluron

De acordo com os resultados, não houve diferenças significativas no padrão de mortalidade entre as populações de campo e a Rockefeller para o diflubenzuron ($F= 0,3418$; $P>0,05$) e para o novaluron ($F= 0,7174$; $P>0,05$). As amostras populacionais de *Aedes aegypti* apresentaram altos graus de mortalidade ao diflubenzuron (Tabela 2), e ao novaluron (Tabela 3), sendo consideradas suscetíveis, segundo critérios da OMS. A Inibição de Emergência de Adulto (IE) ficou entre 98,9% e 100% para o diflubenzuron e para o novaluron foi de 100% para todas as populações (Tabelas 2 e 3), mostrando-se, assim, que os produtos são eficazes na inibição de emergência dos adultos e conseqüentemente, para o controle de *A. aegypti*.

Com o diflubenzuron, foi verificada mortalidade de 100% para as populações dos bairros Alto Branco e Bodocongó e para a Rockefeller, já para as populações do Cruzeiro e da Nova Brasília a mortalidade foi de 99%, obtendo-se uma média de 99,6% na mortalidade com o produto. Para o grupo controle, a média ficou em 3,6%. Quanto ao IE, a média foi de 99,56%. A média do tempo de exposição ao inseticida foi de 14,6 dias. A população do Alto Branco, mesmo com 100% de mortalidade e de IE, foi a que apresentou o maior tempo de exposição ao diflubenzuron, já o menor foi registrado para a população de Bodocongó (Tabela 2).

Tabela 2 - Suscetibilidade larval das amostras populacionais de campo do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e da Rockefeller ao diflubenzuron.

Populações	N (larval)	Tempo de exposição (em dias)	Mortalidade		IE (%)	Nível de suscetibilidade
			Controle (%)	Inseticida (%)		
Rockefeller	200	11	4	100	100	SS
Alto Branco	200	19	4	100	100	SS
Bodocongó	200	11	4	100	100	SS
Cruzeiro	200	16	3	99,0	98,9	SS
Nova Brasília	200	16	3	99,0	98,9	SS

IE: Inibição da Emergência de Adulto; SS: Suscetível.

Tabela 3 - Suscetibilidade larval das amostras populacionais de campo do do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e da Rockfeller ao novaluron.

Populações	N (larval)	Tempo de exposição (em horas)	Mortalidade		IE (%)	Nível de suscetibilidade
			Controle (%)	Inseticida (%)		
Rockfeller	200	24	6	100	100	SS
Alto Branco	200	24	1	100	100	SS
Bodocongó	200	24	3	100	100	SS
Cruzeiro	200	24	3	100	100	SS
Nova Brasília	200	24	4	100	100	SS

IE: Inibição da Emergência de Adulto; SS: Suscetível.

A suscetibilidade do *A. aegypti* ao diflubenzuron foi constatada em trabalhos realizados por Martins e Silva (2004) e Silva (2006), confirmando a eficiência do produto para o controle do vetor. Segundo Martins e Silva (2004), houve mortalidade de 100% das larvas, em laboratório, nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1 mg i.a./l. Em testes realizados por Silva (2006), o diflubenzuron mostrou-se eficaz para todos os estágios larvais, quando foram utilizadas as concentrações de 0,015 e 0,02 mg i.a./l, sendo que a CL50 foi de 5,19 mg/L e a CL95 de 12,24 mg/L, confirmando, portanto, a suscetibilidade ao produto, com 98 a 100% de mortalidade.

Com o novaluron foi verificada uma mortalidade de 100% e, conseqüentemente, uma IE de 100% e no grupo controle, a mortalidade foi de 3,4% e uma IE de 96,6%, ambos em 24 horas de exposição das larvas ao produto (Tabela 3), o que confirma a eficiência do produto para o controle do vetor. Resultado que corrobora a vários estudos (MULLA et al., 2003; ARREDONDO-JIMÉNEZ E VALDEZ-DELGADO, 2006; FONTOURA, 2008; FONTOURA et al., 2012). Mulla et al. (2003) obtiveram a IE de 100% em concentrações de 0,25 a 1,0 mg/L. Arredondo-Jiménez e Valdez-Delgado (2006) obtiveram a IE de 97% por até 14 semanas em 0,55 mg/L. Fontoura (2008), usando uma concentração de 0,4µg/L, causou total inibição da emergência de adultos viáveis da cepa Rockfeller e nenhuma das populações de campo testadas apresentaram resistência. Em Fontoura et al. (2012) todas as populações testadas apresentaram-se suscetíveis ao produto.

O fato dos indivíduos se apresentarem suscetíveis à ambos os produtos se deve possivelmente ao curto período de aplicação dos mesmos no campo, visto que começaram a ser utilizados em 2011 na Paraíba.

5.2. Modificações morfológicas de imaturos do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ao diflubenzuron e novaluron.

A exposição e, conseqüentemente, o contato do inseto com o produto pode afetar a morfologia de alguns indivíduos e impedir o seu desenvolvimento. Foi o que aconteceu com determinadas larvas submetidas ao diflubenzuron, em que foram observadas algumas modificações morfológicas, como o aumento no número de cerdas em toda larva; fato que também foi constatado por Borges et al. (2012); larvas com os últimos segmentos abdominais transparentes (Figura 11A), pupas distendidas (Figura 11B), mortalidade de algumas pré-pupas, as quais não passaram para a fase de pupa, devido efeito do produto (Figura 11C) corroborando com Machado et al. 2015, alterações, essas, que também foram observadas por Fontoura et al., 2012 com o novaluron.

Para as larvas que foram submetidas ao novaluron não foi possível verificar modificações morfológicas, devido apresentarem um curto período de exposição ao produto.

Figura 11 - Modificações morfológicas de imaturos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) expostos ao diflubenzuron. (A) larva com últimos segmentos abdominais transparentes; (B) pupa distendida ; (C) pré-pupas em estágio permanente.



Fonte: Fontoura et al., 2012.

5.3. Efeito residual do diflubenzuron e do novaluron

O diflubenzuron apresentou uma atividade residual de 12 semanas (84 dias) para ambas as populações (Rockfeller e Bodocongó). Houve até a quarta reposição larval uma alta mortalidade e após isso começou a haver um declínio abrupto na atividade do inseticida e, conseqüentemente, na mortalidade larval. Na quinta reposição larval (77º dia) a mortalidade foi similar nas amostras com inseticida e no controle (Figuras 12 e 13), o que indica que o efeito do produto teria acabado. Percebe-se uma relação concentração-dependente, ou seja, a concentração de ingredientes ativos do larvicida diminui ao longo do tempo e, conseqüentemente, o efeito residual e a mortalidade larval são reduzidos.

Figura 12 - Atividade residual do diflubenzuron sobre a população de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) coletada em Bodocongó, Campina Grande (PB), e o grupo controle, 2013/2014.

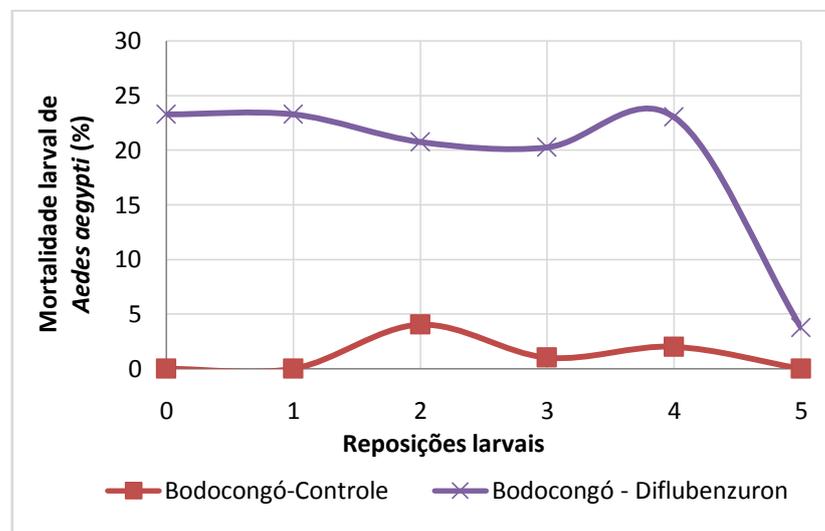
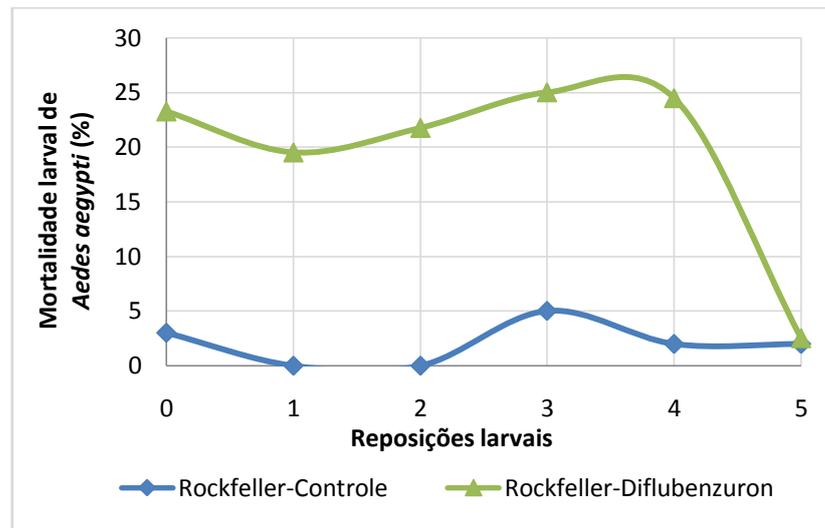


Figura 13 - Atividade residual do diflubenzuron sobre a população suscetível de referência (Rockfeller).



De acordo com o fabricante, Champion do Brasil, o diflubenzuron possui um efeito residual de 90 dias (CHAMPOION SAÚDE ANIMAL, 2013), o que se aproxima dos resultados alcançados nesta pesquisa, cujo efeito foi cessado após a quinta reposição larval.

Garcia Neto (2011) constatou um efeito residual do diflubenzuron em larvas de *A. aegypti* com 71 dias (10 semanas), em que houve 20% de reposição de água diariamente, cuja maior eficácia do produto ocorreu até o 46º dia. Variações essas que podem ocorrer devido a vários aspectos, como, a quantidade de larvas e de água que eram repostas, ao tipo de depósito utilizado e a concentração utilizada do produto, fatores esses que vão influenciar diretamente nos resultados obtidos.

Deve-se ressaltar que, com base no efeito residual prolongado, pode-se programar os tratamentos focais, determinando se a periodicidade da visita aos imóveis (MACORIS et al., 1995).

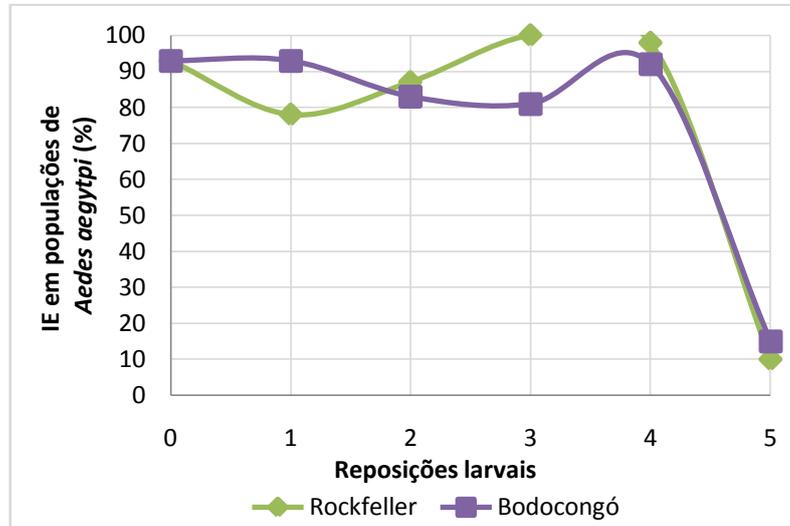
Quanto a Inibição de Emergência do Adulto (IE), a população de Bodocongó obteve um valor máximo de 93%, que foi observado até o 10º dia do início dos testes, correspondendo ao primeiro lote de larvas submetidas ao produto e a primeira reposição larval. O menor IE (15%) foi observado no 77º dia do teste, período da última reposição larval (figura 14).

Para a Rockfeller, o IE máximo (100%) foi alcançado no 20º dia, período da terceira reposição larval e o mínimo (10%) no 77º dia, após a quinta reposição larval (Figura 14).

Ao longo dos dias foi notória a diminuição na eficácia do produto devido a diluição do diflubenzuron com o acréscimo de água, isto é, a redução da atividade residual ao longo do

tempo correlaciona-se com reduzidas concentrações dos ingredientes ativos do diflubenzuron, corroborando os resultados de Silva e Mendes (2007).

Figura 14 - Inibição de Emergência de Adulto (IE) em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) expostas ao diflubenzuron.



No 12º dia do experimento, iniciou-se a emergência de adultos na população de Bodocongó, após a primeira reposição larval. De um total de 600 larvas por população houve a emergência de 72 adultos na população de Bodocongó e 36 na Rockfeller. Porém, observou-se que não houve diferença significativa entre as populações ($F=0,0641$; $P>0,05$), nas duas populações avaliadas houve um aumento na emergência de adultos (Figuras 15 e 16).

Figura 15 - Emergência de adultos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) na população de Bodocongó, Campina Grande (PB), submetida à atividade residual do diflubenzuron.

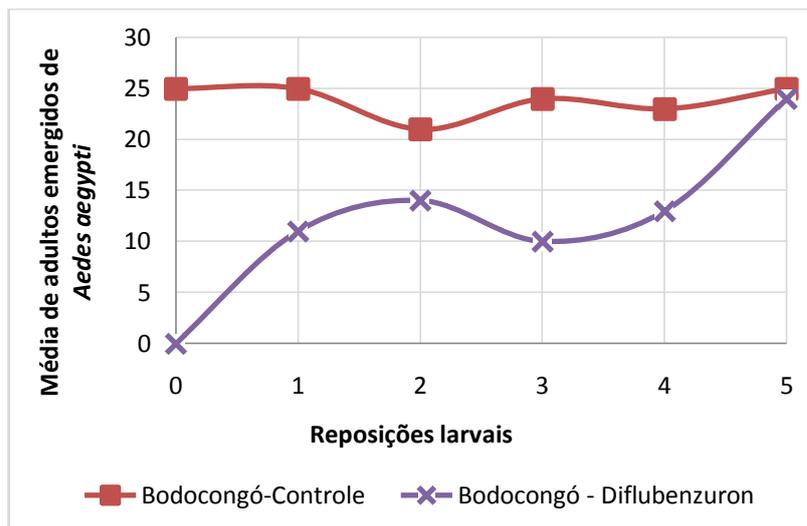
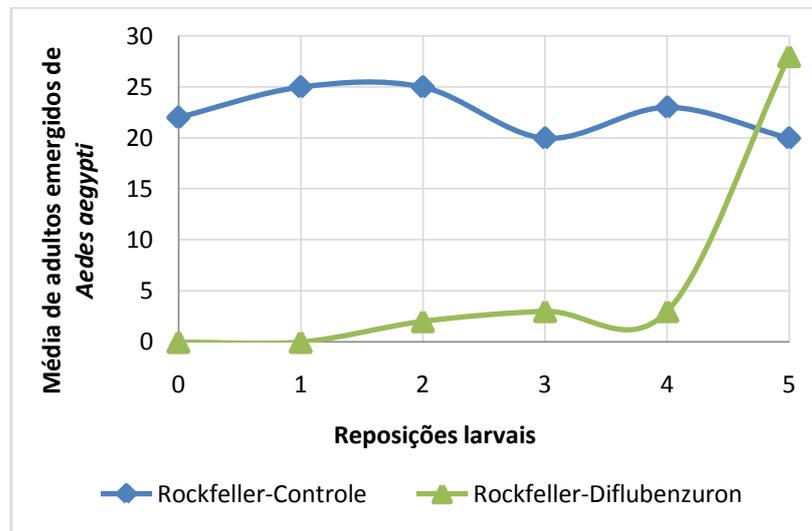


Figura 16 - Emergência de adultos de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) da população Rockfeller submetida à atividade residual do diflubenzuron.



Thavara et al. (2007) com concentrações de 0,1; 0,5 e 1 mg de i.a. /L, atingiram um IE de 96 a 100%, haviam nos testes reposição de água semanalmente além de 25 larvas, que também eram realizados com larvas L₃, foi observado nesse estudo uma eficácia do produto de 15 a 23 semanas pós-tratamento, dependendo da concentração. No geral observaram que dosagens entre 0,05 a 0,1 mg de i.a. /L são eficazes e que fornecem um controle de longa duração (3 a 4 meses) no campo.

Durante as quatro semanas de avaliação desse estudo, verificou-se que a dosagem de 0,02 mg/l do novaluron foi suficiente para gerar 100% de IE (Tabela 4) nas duas populações de *A. aegypti*, não havendo diferença significativa entre as mesmas (F=4; P>0,05), necessitando-se de apenas 24 horas para obter 100% de mortalidade.

Tabela 4 - Atividade residual do novaluron sobre a população de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Bodocongó, Campina Grande (PB), e sobre a Rockfeller.

Populações	Nº total de larvas amostradas		Nº total de larvas mortas		Mortalidade larval (%)		IE (%)
	Controle	Inseticida	Controle	Inseticida	Controle	Inseticida	
Rockfeller	75	300	7	300	9,3	100	100
Bodocongó	75	300	6	300	8,0	100	100

IE: Inibição da Emergência de Adulto.

6. CONCLUSÕES

Podemos concluir que não houve o desenvolvimento de resistência ao diflubenzuron e ao novaluron nas amostras populacionais de *A. aegypti* avaliadas.

Alguns imaturos avaliados mostraram algumas modificações morfológicas que foram provocadas por ação do diflubenzuron, alterações essas que possivelmente provocam retardamento do desenvolvimento dos mesmos e conseqüentemente sua mortalidade.

Os inseticidas apresentam um alto poder residual e elevado potencial para uso no controle do vetor, mostrando-se como alternativas para o controle desse vetor no município de Campina Grande (PB).

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A. P. **Análise da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), de Municípios do Estado de Pernambuco.** Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2013.
- ARREDONDO-JIMÉNEZ J. I.; VALDEZ-DELGADO K. M. **Effect of Novaluron (Rimon® 10 EC) on the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* from Chiapas, Mexico.** Medical Veterinary Entomology, v.20 n.4: 377-387. 2006.
- BARRETO, C. F. ***Aedes aegypti* - Resistência aos Inseticidas Químicos e as Novas Alternativas de Controle.** Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás, v.1, n.2. 2005.
- BESERRA, E. B.; CASTRO JR, F.P.; SANTOS, J. W.; SANTOS, T. S.; FERNANDES, C. R. M. **Biologia e Exigências Térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Provenientes de Quatro Regiões Bioclimáticas da Paraíba.** Neotropical Entomology, Public Health, v.35 n.6: 853-860. 2006.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M. F. C.; CASTRO JR, F. P. **Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba.** Neotropical Entomology, Public Health, v.36 n.2: 303-307. 2007.
- BESERRA, E. B.; CASTRO JR., F. P. **Biologia comparada de populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba.** Neotropical Entomology, Public Health, v.37 n.1: 81-85. 2008.
- BORGES, R. A.; ARRUDA, W.; OLIVEIRA, E. S. F.; CAVASIM, G. M.; SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. **Mecanismos da Ação Larvicida do Diflubenzuron sobre *Aedes aegypti* Evidenciados Pelas Alterações Ultraestruturais.** Revista de Patologia Tropical, v.41 n.2: 222-232. 2012.
- BRAGA, I.A.; LIMA, J.B.P.; SILVA, S.S.; VALLE, D. ***Aedes aegypti* resistance to temefós during 2001 in several municipalities in states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.99 n.2: 199-203. 2004.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. ***Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência.** Epidemiologia e Serviços de Saúde, v.16 n.4: 279-293. 2007.
- CAMPOS, J.; ANDRADE, C.F.S. **Suscetibilidade larval de duas populações de**

***Aedes aegypti* a inseticidas químicos.** Revista de Saúde Pública, v.35 n.3: 232-236. 2001.

CAMPOS, J; ANDRADE, C. F. S. **Susceptibilidade larval de populações de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos.** Revista de Saúde Pública, v.37 n.4: 523-527. 2003.

CARVALHO, M.S.L.; CALDAS, E.D.; YOSHIZAWA, M.A.C.; DEGALLIER, N.; OLIVEIRA, C.; KNOX, M.B. **Susceptibilidade de *Aedes aegypti* a inseticida temefós no Distrito Federal em 2000.** Informe Epidemiológico SUS, v.10 n.1: 41-43. 2001.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. **Susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal.** Revista de Saúde Pública v.38 n.5: 623-629. 2004.

CHAMPION SAÚDE ANIMAL. **Diflubenzuron 25%.** Guia 2013.

DINIZ, M. M. C.S. L.; HENRIQUES, A. D. S.; LEANDRO, R. S.; AGUIAR, D. L.; BESERRA, E. B. **Resistance of *Aedes aegypti* to temefhos and adaptive disadvantages.** Revista de Saúde Pública, v.48 n.5: 775-782. 2014.

Ecologia Aplicada. Disponível em:

http://www2.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/pagina_imagens/foto7.htm.

FAO/WHO **Diflubenzuron.** In: Pesticide residues in food – 2001 evaluations. Part II – Toxicological. Geneva, World Health Organization, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, 2002.

FAO/WHO **Novaluron.** In: Pesticide residues in food – 2005. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, 2005.

FARNESI, L. C.; BRITO, J. M.; LINSS, J. G.; PELAJO-MACHADO, M.; VALLE, D.; REZENDE, G. L. **Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor Novaluron.** Plos One. v.7 n.1: e30363. 2012.

FONTOURA, N. G. **Efeito do Novaluron - um inibidor da síntese de quitina - sobre *Aedes aegypti* em laboratório e simulado de campo.** Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2008.

FONTOURA, N. G.; BELLINATO, D. F.; VALLE, D.; LIMA, J. B. P. **The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil.** Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, v.107 n.3: 387-395. 2012.

FORATTINI, O.P. **Entomologia Médica.** 2º ed. São Paulo: EDUSP. 2002.

FREITAS, R. M. **Avaliação de aspectos da capacidade vetorial de fêmeas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) no Rio de Janeiro.** Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. 2010.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Reunião técnica para discutir *status* de resistência de *Aedes aegypti* e definir estratégias a serem implantadas para monitoramento da resistência no Brasil.** Funasa; 1999.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Dengue - Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor - Manual de Normas Técnicas – Ministério da Saúde,** 2001.

GAMBARRA, W. P. T.; MARTINS, W. F. S.; LUCENA-FILHO, M. L.; ALBUQUERQUE, I. M. C.; APOLINÁRIO, O. K. S.; BESERRA, E.B. **Spatial distribution and esterase activity in populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) resistant to temephos.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.46 n.2: 178-184. 2013.

GARCIA NETO, L. J. **Efeito residual do Diflubenzuron sobre larvas de *Aedes aegypti* em condições simuladas de campo, no laboratório.** Universidade Estadual do Ceará - Centro de Ciências da Saúde. Fortaleza, Ceará, 2011.

GLASSER, C. M.; GOMES, A. C. **Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação dos estados de São Paulo.** Revista de Saúde Pública v.36 n.2: 166-172. 2002.

GROSSCURT, A. C.; HAAR, M. T.; JONGSMA, B.; STOKER, A. **Ph-70-23 - a new acaricide and insecticide interfering with chitin deposition.** Pesticide Science, v. 22, n.1: 51- 59. 1988.

GUBLER, D. J.; CLARK, G. G. **Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem.** Emerging Infectious Diseases, Atlanta, v.1, n.2: 55-57. 1995.

HOSPITAL ESPECIAL DE CUBARÁ. **Cómo Prevenir Y Controlar el Dengue.** Cubará - Boyacá – Colombia, 2013.

IPCS – INCHEM. **Toxicological evaluations DIFLUBENZURON.** Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/2001pr04.htm#2.1>. 2001.

LIMA, J.B.P.; PEREIRA, M.C.; SILVA JR, R.C.S.; GALARDO, A.K.R.; SOARES, S.S.; BRAGA, I.A.; RAMOS, R.P.; VALLE, D. **Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v.68 n.3 68: 329-333. 2003.

LIMA, E.P.; OLIVEIRA FILHO, A.M.; LIMA, J.W.O.; RAMOS JÚNIOR, A.N.; CAVALCANTI, L.P.G.; PONTES R.J.S. **Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.39 n. 3: 259-263. 2006.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; SILVA, N. M. A. **Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil.** Revista de Saúde Pública, v.38 n.6. 2004.

MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L. **Efeito Residual de Temephós em Larvas de *Aedes aegypti*.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.28 n.4: 375- 377. 1995.

MACHADO, A. A.; COLEONE, A. C.; ABE, F. R.; AMÉRICO, J. H. P.; LIMA, J. B. P.; MACHADO NETO, J. G. **A eficácia do Diflubenzuron no controle de larvas de duas populações de *Aedes aegypti* com diferentes níveis de suscetibilidade ao Temephos, em condições de laboratório.** Journal Health Biological Sciences, v.3 n.1: 25-29. 2015.

MAPPERY. **Campina Grande Neighborhood Map.** 2010.

MARTINS, F.; SILVA, I. G. **Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae).** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.37 n.2: 135-138. 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Endemias Rurais – **Métodos de trabalho adotados pelo DNERU**, Departamento Nacional de Endemias Rurais, 1968.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informe Técnico Institucional; **Doenças negligenciadas: Estratégias do Ministério da Saúde**. Revista Saúde Pública, v.44 n.1: 200-202. 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Febre de Chikungunya: Manejo Clínico**, 2014.

MULLA, M.S.; THAVARA, U.; TAWATSIN, A.; CHOMPOOSRI, J.; ZAIM, M.; SU, T. **Laboratory and field evaluation of novaluron a new acylurea insect growth regulator against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. Journal Vector Ecology, v.28 n.2: 241-254. 2003.

PAIVA, M. J. B. **Estudos de síntese e Relação Estrutura-atividade (SAR) de novas Benziltioureas derivadas do Isotiocianato de Benzila (BITC) com atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti***. Faculdade de Farmácia, UFRJ. 2011.

PAIVA, M. H. S. **Caracterização molecular da resistência a inseticidas químicos em populações de *Aedes aegypti***. Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife 2013.

PAULA, C. O. **Resistência de larvas de *Aedes aegypti* ao temefós e interação do larvicida com o fungo entomopatogênico *metarhizium anisopliae***. Universidade Estadual Do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro – UENF. 2010.

PONTES, R. J. S.; REGAZZI, A. C. F.; LIMA, J. W. O.; KERR-PONTES, L. R. S. **Efeito residual de apresentações comerciais dos larvicidas temefos e *Bacillus thuringiensis israelensis* sobre larvas de *Aedes aegypti* em recipientes com renovação de água**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.38 n.4: 316-321. 2005.

RAJASEKAR, P.; JEBANESAN, A. **Efficacy of IGRs compound Novaluron and Buprofezin against *Culex quinquefasciatus* mosquito larvae and pupal control in pools, drains and tanks**. International Journal of Research in Biological Sciences, v.2, n.1: 45-47. 2012.

RUEDA, L.M. **Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission**. Zootaxa. v.589: 1-60. 2004.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 45, 2015.** Ministério da Saúde - Brasil, Boletim epidemiológico, v.46 n.36. 2015.

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE. **Índices de Infestação Predial e de Breteau para o *Aedes aegypti*- (%), conforme LIRAA/2015.** Prefeitura Municipal de Campina Grande – PB, 2015.

SILVA, J. J. **Potencial dos Reguladores de Crescimento de Insetos (IGR) Diflubenzuron e Methoprene, no controle de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em Uberlândia - MG.** Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. 2006.

SILVA, J. J.; MENDES, J. **Susceptibility of *Aedes aegypti* (L) to the insect growth regulators diflubenzuron and methoprene in Uberlândia, State of Minas Gerais.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.40 n.6: 612-616. 2007.

SILVA, A. D. **Distribuição de populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) resistentes ao temefós, no município de Campina Grande PB.** Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB. 2010.

SISTEMA DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO (SINAN/SES-PB). **Boletim Epidemiológico da Dengue.** Secretaria Estadual de Saúde- Paraíba. João Pessoa – PB. 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA. **Vírus Zika é a nova doença transmitida pelo *Aedes aegypti*.** São Paulo. 2015.

SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Nota Técnica Nº 001/2012 – CVCAV/GVSAST/SUVISA/SES-GO.** SUVISA, Goiânia. 2012.

SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Avaliação da eficácia de análogos de hormônio juvenil e inibidores de síntese de quitina no controle de *Aedes aegypti*.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. Programa Nacional de Controle da Dengue. Ministério da Saúde – Brasil. 2006.

TAUIL, P. L. **Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.39 n.3: 275-277. 2006.

THAVARA, U.; TAWATSIN, A.; CHANSANG, C.; ASAVADACHANUKORN, P.; ZAIM, M.; MULLA, M. S. **Simulated Field Evaluation of the Efficacy of Two Formulations of**

Diflubenzuron, a Chitin Synthesis Inhibitor Against Larvae of *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) in Water-Storage Containers. Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health, v.38 n.2: 269-275. 2007.

VASCONCELOS, P. F. C. **Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?** Revista Pan-Amaz Saude, v.6 n.2: 9-10. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diflubenzuron in drinking water: Use for vector control in drinking water sources and containers.** Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. Geneva, Switzerland World Health Organization, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers.** Geneva, WHO Press, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Novaluron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers.** Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality, Geneva, 2008.