

---

ATIVIDADE LARVICIDA DO TEMEPHOS A 1% SOBRE  
O *Aedes aegypti* (LIN., 1762), EM DIFERENTES  
CRIADOUROS ARTIFICIAIS

---

Luiz Alcir de Faria Carvalho<sup>1</sup> e Ionizete Garcia da Silva<sup>2</sup>

RESUMO

Estudou-se a eficiência do larvicida *temephos* sobre o *Aedes aegypti*, com o objetivo de evidenciar as modificações da suscetibilidade do mosquito ao inseticida, através de bioensaios, e trazer informações que auxiliem no planejamento das ações de combate/controle, bem como na decisão sobre a frequência e extensão do uso. A partir da criação de *A. aegypti* em alta escala, os experimentos foram realizados com *temephos* granulado a 1%, na dose de 1 ppm, em criadouros artificiais mais comuns do *A. aegypti* nos centros urbanos: amianto, pneu, plástico, cerâmica, lata, cimento e vidro. Para cada criadouro e estágio larval colocaram-se quatro litros da solução de *temephos*, e em seguida 20 larvas do *A. aegypti*. Foram feitas quatro réplicas de cada experimento, com repetições a cada 48 horas. A mortalidade foi avaliada após 24 horas do início dos experimentos, e os subsequentes eram realizados após intervalos de dois dias. Todos os ensaios biológicos foram realizados em um fundo de quintal arborizado, localizado no Setor Sul, em Goiânia, numa área coberta de aproximadamente 12 m<sup>2</sup>, que servia de viveiro de plantas. Verificou-se que os criadouros não tiveram influência sobre a mortalidade do *A. aegypti* em todos os estádios larvais e constatou-se diferença significativa na mortalidade entre os estádios do *A. aegypti*, sendo que o 3° e 4° estádios mostraram-se resistentes à solução de *temephos* a 1 ppm.

UNITERMOS: *Aedes aegypti*. Temephos. Larvicida. Controle.

---

1 Prof. Assistente do Departamento de Bromatologia da Faculdade de Farmácia/UFG, Universidade Federal de Goiás.

2 Prof. Titular do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. Laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico.

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo esq. com 1ª Avenida, Setor Universitário. Caixa Postal 131, CEP 74605-050, Goiânia, GO. E-mail [ionizete@iptsp.ufg.br](mailto:ionizete@iptsp.ufg.br)

## INTRODUÇÃO

### Origem e importância do *Aedes aegypti*

Evidências faunísticas indicam a origem africana para o *Aedes aegypti* devido ao fato de ser encontrado ainda hoje, naquela região, em ambiente silvestre. Este mosquito se dispersou pelas regiões tropical e subtropical do globo (Forattini, 1965; Franco, 1969; Umenai et al., 1993). Na África o *A. aegypti* é um vetor importante da febre amarela tanto nas enzootias quanto nas zoonoses (Cornet, 1967).

Estudos retrospectivos sobre a febre dengue (FD) ou dengue clássico, caracterizada como uma doença febril aguda, acompanhada de dores musculares e articulares, evidenciam a sua existência há mais de um século, nas regiões do Sudeste Asiático e do Pacífico Ocidental. Contudo, a atenção ao problema da FD, luta antivetorial, ações de controle e estudos mais acurados apareceram com os surtos epidêmicos da febre hemorrágica da dengue (FHD), que gerou pânico na década de 1950, nas Filipinas e Tailândia, e, na década seguinte, na Índia, Indonésia, Malásia e Vietnã (OMS, 1987; Eamchan et al., 1989; Swaddiwudhipong et al., 1992; Chungue et al., 1993; Lam, 1993a; Soedarmo, 1993a; Sucharit, 1993).

Após a dispersão e o adensamento do *A. aegypti* nas áreas urbanizadas do continente asiático, estudos revelaram que esse mosquito tinha desencadeado as epidemias de FD e FHD, na década de 1960, em Bangkok (Halstead & Yamarat, 1965), e do primeiro surto de FD/FHD na Índia (Madhukar & Pillai, 1968). Nessa mesma década, na Malásia, o *A. aegypti* apresentava distribuição simpátrica com o *Aedes albopictus*, e ambos transmitiam as formas clássica e hemorrágica da dengue, e, na época, o *A. aegypti* apresentava maior densidade na área urbana e o *A. albopictus* na área suburbana (Rudnick et al., 1965; Yow-Cheong et al., 1993a). A dispersão do *A. aegypti* pelo continente asiático seguiu-se de extensas epidemias que ocorreram na Birmânia, Filipinas, Indonésia, Malásia e Tailândia. Atualmente, esse mosquito é o mais importante transmissor do dengue clássico e hemorrágico em toda Ásia (Chungue et al., 1993; Fukunaga et al., 1993; Halstead, 1993; Igarashi, 1993; Khiem et al., 1993; Lam, 1993a; Okabe, 1993; Soedarmo, 1993a; Sucharit, 1993; Yow-Cheong et al., 1993a,b). Esta importância se deve à acentuada antropofilia e sua alta densidade em áreas urbanas, deixando cerca de 2 bilhões de seres humanos expostos ao mosquito, com possibilidade de transmitir a FD, a FHD, a febre amarela e a febre chikungunya, constituindo-se, na atualidade, num dos maiores problemas de saúde pública no mundo (Franco, 1969; OMS, 1987; Torres, 1991; Gratz, 1993; Halstead, 1993; Okabe, 1993; Soedarmo, 1993a,b; Sucharit, 1993; Rawlins & Wan, 1995; Godoy et al., 1998; Travassos da Rosa et al., 1998).

Em Taiwan, epidemias de dengue ocorreram desde 1987, sendo isolados todos os sorotipos conhecidos do vírus. Esta situação aumenta o risco das formas graves da dengue e diminui a perspectiva de controle devido à presença do *A. aegypti* e à movimentação humana no Sudeste Asiático. Para se ter uma dimensão do problema, em Taiwan, foram identificadas pessoas virêmicas, com pelo menos um sorotipo do vírus da dengue, procedentes da Tailândia, Filipinas, Singapura, Indonésia, Malásia, Vietnã, Índia e Sri Lanka (Wu et al., 1993; Ya, 1993).

O *A. aegypti* e o *A. albopictus* estão em larga expansão para novas áreas geográficas, como Japão e continente americano. A consequência é o aumento dramático das doenças transmitidas por aquelas espécies, como dengue, FHD, SCD (síndrome de choque de dengue), FA e Chikungunya (Gratz, 1993).

Nas Américas, aceita-se que o *A. aegypti* tenha sido introduzido com a colonização européia, provavelmente, através das expedições marítimas do tráfico negreiro (Forattini, 1965; Franco, 1969). Esse mosquito foi o vetor mais importante da febre amarela urbana, notificada nas Américas a partir de 1635. Nas Antilhas o *A. aegypti* foi o único vetor comprovado na transmissão da febre amarela entre 1857 e 1859 (Uttley, 1960). Mais recentemente, foi demonstrado que esse mosquito criava-se com eficiência em diferentes criadouros artificiais e, após adensamento, transmitia os sorotipos 1, 2 e 4, nos países do Caribe (Nathan & Giglioli, 1982; Chadee, 1992; Rawlins & Wan, 1995).

O papel do *A. aegypti* na transmissão da febre amarela foi demonstrado em 1881 pelo médico cubano Carlos Finlay (Torres, 1991), abrindo caminhos para seu controle e/ou erradicação. No Brasil, o *A. aegypti* foi erradicado e reintroduzido várias vezes. No final do século XIX, grandes epidemias de febre amarela ocorriam em nosso país. No início do século XX campanhas de erradicação do *A. aegypti* são realizadas em São Paulo, por Emilio Ribas, e no Rio de Janeiro, por Oswaldo Cruz, ambas com sucesso (Franco, 1969). Após muito trabalho e com ajuda do DDT, em 1947, conseguiu-se eliminar rapidamente o *A. aegypti*. Em 1958 o Brasil foi declarado livre desse mosquito. Em 1967 o *A. aegypti* é reintroduzido (Franco, 1969), espalhando-se pelo litoral brasileiro e depois para o interior do país, onde se mantém, até o momento, em altas densidades (Silva et al., 1991a, b; Serufo et al., 1993; Travassos da Rosa et al., 1998).

Em Cuba, no ano de 1981, ocorreu a primeira epidemia de FHD conhecida na América, pois as anteriores haviam se limitado ao continente asiático. Foram registrados 344.000 casos, com 158 óbitos, a mais baixa mortalidade por FHD que se verificou (Torres, 1991).

Importante epidemia de febre amarela silvestre ocorreu em Goiás em 1972-1973, vitimando 44 pessoas (Pinheiro et al., 1978). A febre amarela se mantém na América do Sul, com cerca de 119 casos anuais, sem, no entanto,

caracterizar epidemia desde 1983 (Chippaux et al., 1993). Epidemias da FD tipo 1 ocorreram no Brasil em 1982, 1986 e 1987. Em 1989, uma pessoa proveniente da África fez escala no Rio de Janeiro e adoeceu em Belém do Pará, com o sorotipo D2. Em 1990, foi identificado o vírus D2 em pacientes com FD, no Rio de Janeiro. Em maio de 1990, o Rio de Janeiro tinha surto de FD pelos vírus 1 e 2, com dezenas de casos diagnosticados. Assim, com a presença do vetor da doença em território nacional, criaram-se todas as condições para a ocorrência da forma mais temível da doença, a FHD, ou SCD. (Osanai et al., 1983; Torres, 1991). Surtos epidêmicos de grandes proporções têm ocorrido pela ampla distribuição do mosquito (Serufo et al., 1993), trazendo a possibilidade de reurbanizar a febre amarela. Em Goiás, vêm sendo registradas infestações e permanência do *A. aegypti*, desde 1987. Em Goiânia, o *A. aegypti* foi introduzido em 1990 (Silva et al., 1991a) e três anos depois acontecia a primeira epidemia de dengue.

#### Controle de dengue e atividade larvicida do temephos

Para impedir o surgimento de novos surtos de dengue nas regiões em que o *A. aegypti* tem sido freqüente, tornou-se necessário informar a população sobre a doença, sobre a transmissão e sobre a biologia do mosquito. Desta forma, em vários países e órgãos envolvidos com o problema, implantaram-se programas de acordo com normas preconizadas ou não pela Organização Mundial de Saúde, elevando o nível de conhecimento da população com relação à dengue, proporcionando informações detalhadas sobre a sintomatologia, o tratamento, as fases de desenvolvimento do transmissor, os tipos de criadouros e as formas de combatê-lo (Bang et al., 1972a; OMS, 1987).

O temephos (*O,O,O',O'*-tetramethyl *O,O'*-tiodi-p-Phenylene bis phosphorothiorate) é um larvicida sintético, pertencente ao grupo dos organofosforados. Esse produto age sobre as enzimas colinesterases, impedindo a transmissão dos impulsos nervosos, tanto em mamíferos quanto nos insetos. Pode ser absorvido pela pele, pelas vias respiratórias e pela boca; atinge a corrente sanguínea que o leva ao sistema nervoso central e fígado. Não é cumulativo, sendo excretado pelas vias urinárias e, em caso de intoxicação, esta desaparece pela simples interrupção do contato. Ocasionalmente, em altas temperaturas, a oxidação de fosforotioatos forma os fosfatos, que são potencialmente perigosos, voláteis e tóxicos. Entre os fosforados, o temephos é considerado como de baixa toxicidade. Até o momento, é o larvicida mais utilizado no controle do *A. aegypti* e não apresenta atividade adulticida. O temephos é encontrado sob a forma de grânulos de areia a 1%, concentrado emulsionável a 50% e pó molhável a 25%, com atividade larvicida satisfatória (Sjogren & Mulla, 1968; Taylor & Schoof, 1971).

Na Índia, durante a primeira epidemia de FD/FHD, em 1963, estudou-se a suscetibilidade de vários larvicidas para combater o *A. aegypti*. Nesse estudo, o temephos destacou-se como mais eficiente (Bowman et al., 1968; Madhukar & Pillai, 1968). Posteriormente, estudos em outros países asiáticos confirmaram a eficiência larvicida do temephos a 1%, aplicado a 1 ppm, para combater o *A. aegypti* (Bang et al., 1972b; Bang & Pant, 1972; Betzios, 1977; Geevarghese et al., 1977; Chen & Sudderuddin, 1978; Das & Rajagopalan, 1979).

O temephos em grânulo a 1% é o larvicida mais utilizado no mundo. Possui ação residual, liberação lenta e fixação às paredes dos recipientes (Bowman et al., 1968). Além da ação larvicida, o temephos diminui a produção de ovos por ciclo gonotrófico, altera o ciclo, o acasalamento e a motilidade do esperma quando aplicado em doses subletais (Chadee, 1990; Reyes-Villanueva et al., 1990; Reyes-Villanueva et al., 1992).

O *A. aegypti* foi erradicado com êxito em 1970 e 1972 em Cayman Brac e Little Cayman, com o temephos, aplicado no intra e peridomicílio (Nathan & Giglioli, 1982).

A implementação de programas de controle efetivos e contínuos do vetor tornou-se urgente e essencial. Não há solução fácil; é necessário um programa planejado, com orçamento, e que seja supervisionado por técnicos especializados (Gratz, 1993). As principais estratégias de controle para o *A. aegypti* têm sido ações de emergência, interrompendo a transmissão, com uso de inseticidas e controle ambiental. No entanto, o *A. aegypti* continua superando essas estratégias (Sucharit et al., 1993).

A partir de 1987, em Taiwan, a vigilância do *A. aegypti*, há muito negligenciada, foi retomada em vista de um surto de dengue e do rápido desenvolvimento do turismo nacional rumo ao sudeste da Ásia. Fez-se obrigatória a educação em saúde pública na mídia e em conferências públicas. O surto foi mantido sob controle e a densidade larval baixou. O temephos foi aplicado simultaneamente ao adulticida Alfacipermetrina em forma de rociado, em que o índice de Breteau estava acima de 35% para o *A. aegypti*, conseguindo-se controlar o vetor com supressão das epidemias de FD/FHD até 1992 (Lien et al., 1993).

No Laos, embora o UNICEF não tenha programa global específico para controle de dengue, fornece o temephos e produtos químicos para ultra-baixo-volume, para prevenção das epidemias de FD/FHD/SCD pelo controle a longo prazo do mosquito. Seu custo efetivo foi sustentável pela ação integrada da comunidade-base no controle. Enfatiza-se a coesão social, uso de tecnologia apropriada e mudança de comportamento do povo (Ya, 1993).

Em Singapura, o Ministério da Saúde cria a Unidade de Controle do Vetor (UCV) e inicia um programa, para redução e das fontes e fazendo educação sanitária e reconhece a importância da participação comunitária nos programas de longo prazo. Em ação integrada, reduzem-se os focos, faz-se

educação sanitária e executa-se a lei. Em 1972, cria-se o Ministério do Ambiente e um departamento só para a vigilância e controle do *A. aegypti*, *A. albopictus*, FD/FHD no país. A vigilância da doença é feita através dos casos notificados e a do mosquito depende de inspeção regular das larvas e adultos em áreas suscetíveis (YOW-CHEONG et al., 1993a,b). Na Indonésia, é executado um programa similar, e a prevalência da FD/FHD cai de 41,3% em 1968 para 2,3% em 1993. Após duas décadas, o uso de inseticidas mostrou-se ineficiente, incluindo o temephos, e o controle do vetor foi controlado por redução dos criadouros com a participação comunitária (Soedarmo, 1993b).

De um modo geral, observa-se que há falta de pessoal especializado em entomologia para trabalhar no controle do *A. aegypti* e, ainda, mensagens simples que motivem a participação comunitária (Kojima, 1993). Segundo Rawlins & Wan (1995), esta participação é muito importante e eficiente no controle. Há necessidade de se criar materiais educacionais apropriados para cada continente, país, estado ou região, como foi realizado no México. O sucesso depende de estratégias flexíveis e adaptadas ao cenário local, por diferenças ecológica, cultural e social entre as localidades (Lloyd et al., 1994).

O temephos está sendo utilizado há mais de 30 anos e apresenta efeito residual, como larvicida, no combate ao *A. aegypti* (Brooks et al., 1966; Chippaux & Coustard, 1992; Macoris et al., 1995a,b). Esse produto mostrou-se eficiente no combate a larvas de 3º e 4º estádios de *Aedes spp.*, na proporção de 1,0 g/m<sup>2</sup> de superfície de água de lago, com 100% de mortalidade em 24 horas (Novak, 1972; Bang & Pant, 1972). Testado em sucatas de pneus, na dose de 10 ppm, proporcionou controle de 100% por mais de um ano, para combater larvas do *Aedes triseriatus*, principal vetor da encefalite La Crosse (Beehler et al., 1991).

Pesquisas de campo em poços intermitentes, nos Estados Unidos, mostraram a viabilidade do uso de briquetes de gesso impregnados com temephos, no controle a longo prazo de vários tipos de mosquitos. Comprovou-se que havia necessidade de se esperar de 4 a 18 dias para o alcance do nível tóxico, período em que há inibição do desenvolvimento das larvas dos poços tratados (Barnes & Webb, 1968).

A liberação lenta do temephos com carreador degradável tem sido alvo de várias pesquisas como estratégia de combate/controle, otimizando eficiência, custo e benefício, com a compatibilidade ambiental (Upathan & Sa-Nguankul, 1982; Anderson et al., 1983; Kalyanasundaram et al., 1984; Novak et al., 1985; Cillek et al., 1991; Cillek & Knapp, 1995).

#### Toxicidade do temephos

Alguns trabalhos apresentam o temephos como inócuo quando utilizado em reservatórios de água potável, sob a fórmula de grânulo a 1%, na

dose de 1 ppm (Barnes & Webb, 1968; Bowman et al., 1968; Laws Jr et al., 1968; Tewari et al., 1981). No entanto, Barnes & Webb (1968) comprovam o risco mínimo para a vida silvestre e organismos inferiores da cadeia alimentar.

Na avaliação soroepidemiológica laboratorial, em Minas Gerais, foram constatadas alterações da colinesterase e intoxicações, relacionadas ao uso de organofosforados. Como os autores não especificaram os inseticidas utilizados na área de estudo, citando apenas o grupo dos organofosforados, pressupõe-se tratar do malathion, fenitrothion e temephos, que são os utilizados nas campanhas antidengue (Serufo et al., 1993).

Este trabalho teve a finalidade de esclarecer a atividade larvicida do temephos sobre *A. aegypti*, em todos os estádios larvais, nos principais criadouros artificiais e, assim, trazer informações que auxiliem no planejamento das ações de combate/controle.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Larvas e pupas de *A. aegypti* foram coletadas em vários bairros de Goiânia, nos quatro quadrantes em que foi dividida a cidade (norte, sul, leste e oeste). Posteriormente, foram transferidas para o laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos para completar o ciclo até a fase adulta. Destes, obtiveram-se ovos que deram origem à série de mosquitos estudada neste trabalho. Os ovos foram ovipostos em papel filtro Mellita nº 100, contados, colocados em sacos plásticos e identificados com data de postura e local de coleta (de larvas e pupas) (Silva, 1996).

As cartelas de ovos foram retiradas, aleatoriamente, da ovoteca, sendo 40 amostras de cada quadrante. A incubação dos ovos foi obtida pela imersão de cartelas em bandejas plásticas com água do sistema público. Essas bandejas mediam 21 cm de largura, 6,5 cm de altura e 31,0 cm de comprimento, com capacidade para 2,2 litros. Os recipientes eram identificados com os códigos da cartela de ovos. Os experimentos foram realizados com água do sistema público, a mesma utilizada na criação de laboratório, na qual as larvas se criam em ciclos semanais com mortalidade inferior a 2% (Silva et al., 1994).

As larvas foram criadas com ração para gatos após ter sido finamente triturada em gral e pistilo (Silva et al., 1998). Após a eclosão do 1º estádio ou a ecdise em estádios subseqüentes, preparavam-se 200 litros da solução de temephos em grânulos a 1%, na dose de 1 ppm, numa caixa d'água de cimento amianto com capacidade para 250 litros (Fig.1). Usou-se a água da rede pública de abastecimento, medida em um balde plástico, aferido com uma proveta de vidro de 1,0 litro, com uma marca vermelha na borda superior com capacidade de medir 8,0 litros.

Para preparar a solução de 1 ppm de temephos, pesavam-se os grânulos em balança analítica, Sartorius, com a precisão de 1,0 µg. Em seguida, a substância pesada era colocada em recipientes plásticos secos, hermeticamente fechados, para evitar qualquer tipo de alteração, pelo fato de ser higroscópica. A solução de temephos era preparada colocando-se o granulado na água e agitando-se com um bastão de madeira em movimento circular, no sentido horário e anti-horário. O temephos foi cedido pela Fundação Nacional de Saúde, retirado aleatoriamente do estoque em uso no combate ao *A. aegypti*.

Foram utilizados sete tipos de criadouros artificiais do *A. aegypti*: amianto, pneu, plástico, cerâmica, lata, cimento e vidro (Fig.1), com quatro réplicas para cada tipo. Em cada criadouro padronizou-se colocar 4,0 litros da solução de temephos, baseado na capacidade máxima do pneu e, em seguida, 20 larvas do *A. aegypti*.



Figura 1. Sete tipos de criadouros artificiais de *Aedes aegypti* utilizados nos ensaios biológicos com o temephos a 1%, na dose de 1 ppm.

Com o auxílio de uma pipeta plástica fazia-se a coleta das larvas da bandeja de criação para quatro copos descartáveis de poliestireno, em grupos de cinco larvas por copo, totalizando 20 larvas para cada bioensaio e tipo de criadouro (Fig.2).

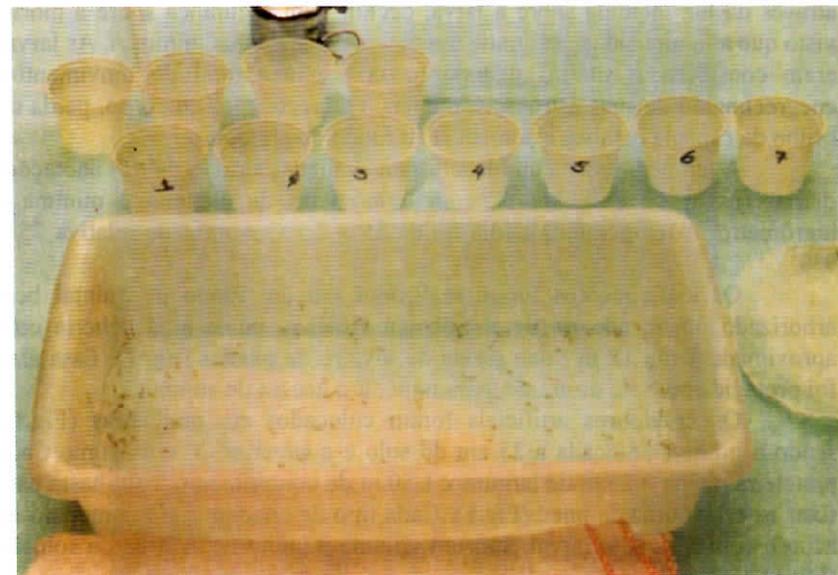


Figura 2. Bandeja de criação de larvas de *Aedes aegypti* e copos descartáveis usados na separação e transferência para os criadouros.

A transferência das larvas dos copos numerados para os criadouros artificiais era feita utilizando-se um tecido sintético de malha fina (náilon) como filtro, sustentado por uma peneira plástica de 7,0 cm de diâmetro, com cabo longo (Fig.3). Após a filtragem do conteúdo de cada copo, esgotava-se a quantidade de água restante nas malhas de náilon, encostando sua face oposta sobre um tecido absorvente, reduzindo ao máximo a quantidade de água, para evitar alteração da solução. Assim, as larvas ficavam retidas no tecido e eram imediatamente transferidas para os criadouros artificiais, através de uma rotação do tecido em 180°, colocando-as em contato direto com a solução de temephos. Os procedimentos de separação e colocação das larvas nos criadouros duravam aproximadamente cinco segundos, usando-se um tecido para cada criadouro.

Realizaram-se testes para cada estágio larval e tipo de criadouro com repetições a cada 48 horas. A mortalidade foi avaliada após 1, 6, 12 e 24 horas a partir do início dos experimentos, e os subseqüentes foram realizados após intervalos de dois dias. Entre um teste e outro, os criadouros eram lavados com escova e sabão neutro e, ao início de um novo teste, colocavam-se novamente 4,0 litros da solução larvicida estocada na caixa.

Avaliou-se a mortalidade a partir de observações realizadas com auxílio de contador analógico, uma lanterna e uma lupa (6X), para melhor visualização das larvas (Fig.4). A utilização da lanterna permitia também,

através da luz incidida sobre a larva, decidir com segurança sobre a morte, visto que a luminosidade estimula movimentos, ainda que mínimos. As larvas eram consideradas mortas quando havia ausência total de movimentos, enegrecimento de suas estruturas internas, escurecimento do corpo, perda do brilho da cápsula cefálica e aderência ao fundo do criadouro.

A temperatura e a umidade foram avaliadas através de três anotações diárias (às 8, 12 e 18 horas), com termômetro de máxima e mínima e higrômetro. A temperatura média foi de  $25 \pm 2,5^\circ\text{C}$  e umidade relativa  $75 \pm 9\%$ .

Os experimentos foram realizados em um fundo de quintal bem arborizado, localizado no Setor Sul, em Goiânia, numa área coberta com aproximadamente  $12 \text{ m}^2$ , que servia de viveiro de plantas (Fig.1). Essa área foi protegida por tela de arame, para impedir o acesso de animais.

Os criadouros artificiais foram colocados em prateleiras (Fig.1), sendo a inferior colocada a 25 cm do solo e a superior 70 cm acima. Cada prateleira media 0,25 m de largura x 1,50 m de comprimento, com haste para fixar os criadouros de pneu (Fig.1). Cada tipo de criadouro era numerado de acordo com o estágio larval com um volume mínimo de 4 litros da solução (Fig.1).

Para verificar a atividade longitudinal do temephos sobre as larvas do *A. aegypti*, experimentos foram realizados aos 1º, 15º, 30º, 45º, 60º, 75º e 90º dias, após ter sido preparada a solução e observada a sua eficiência por liberação lenta. Para estes testes foram utilizadas somente larvas de 3º estágio, em criadouro de cimento, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, avaliadas após 24 horas. A escolha das larvas de 3º estágio e do criadouro de cimento baseia-se no trabalho de Silva et al. (1998).

Durante os testes, as variações médias de pH e salinidade foram de 7,6 e 1,9, respectivamente, medidas por pHmetro e salinômetro digitais e portáteis.

A criação de larvas em grande escala foi realizada em campo, nas mesmas condições dos biosensaio. A mortalidade da criação foi inferior a 2%.

Análise estatística – A Análise de Variância e o teste de Tukey foram usados para comparar os dados da ação larvicida do temephos nos diferentes criadouros e nos quatro estádios larvais.

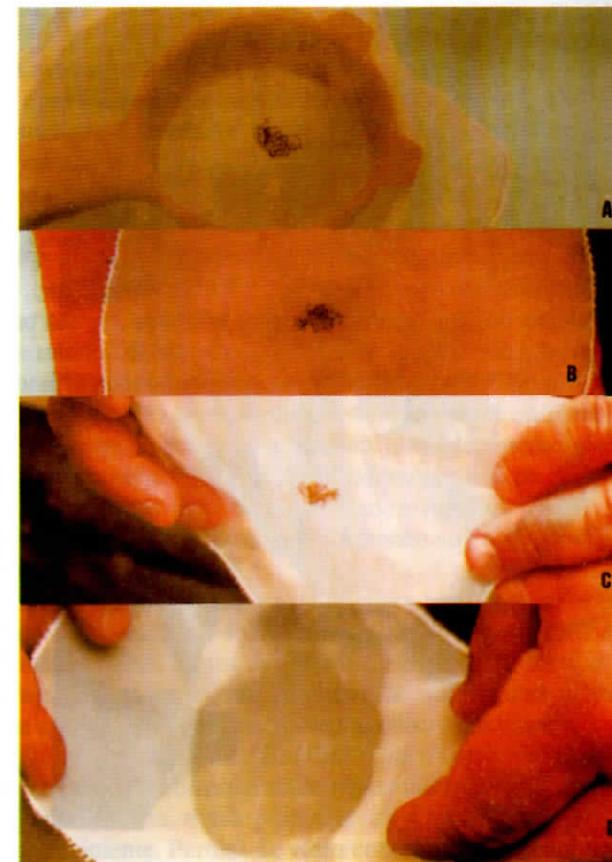


Figura 3. A- Transferência das larvas de *Aedes aegypti* através de uma tela de náilon. B- Secagem do excesso de umidade. C-D- Transferência imediata para o criadouro.

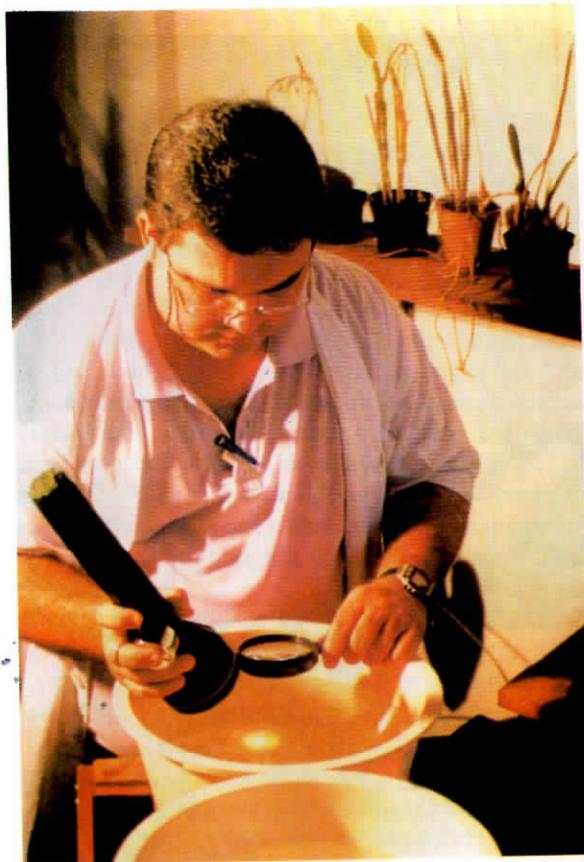


Figura 4. Avaliação da mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* em bacias plásticas com auxílio de lanterna, lupa e contador de células.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à ação do temephos 1%, na formulação de grânulos e na dose de 1 ppm, em diferentes criadouros encontram-se nas Tabelas 1, 2, 3.

Observou-se neste trabalho que os criadouros não tiveram influência sobre a mortalidade do *A. aegypti*, em todos os seus estádios larvais, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% (Tabela 1).

Verificou-se que houve diferença significativa na mortalidade entre os estádios larvais do *A. aegypti* e que o 3º estágio foi o mais resistente à solução de temephos a 1 ppm. Constata-se, também, o “status de resistência”

no 4º estágio, bem como no 2º, nos criadouros de amianto e plástico (Tabela 1).

Na avaliação longitudinal da atividade larvicida do temephos a 1%, na dose de 1 ppm, sobre o *A. aegypti*, observou-se que o produto só foi eficaz para o 1º estágio, e o “status de resistência” foi caracterizado para os demais estádios, apontando o 3º estágio e primeira semana como os mais elevados índices, sendo que o 2º estágio e os dias 11º, 19º e 21º estão no limiar do “status de resistência” (Tabela 2). Essa avaliação baseou-se na dose diagnóstica proposta pela WHO (1992), de 1 ppm, para o temephos em formulação de grânulos de areia 1%. Essa dose tem sido referência para a aplicação no campo, sendo utilizada em todo país. São poucas as áreas em que existem estudos de suscetibilidade do *A. aegypti* em relação ao temephos para monitorar as ações de tratamento (Macoris et al., 1995a,b).

A OMS (1986) preconizou que a mortalidade mínima deve ser de 80% para caracterizar eficiência de um produto, porque abaixo disso caracteriza um “status de resistência” larval, no período de 24 horas. Pode-se ainda notar pelos dados anteriormente citados, referentes ao 3º estágio, que há uma mortalidade bem reduzida em 24 horas, nos testes iniciais, do 1º ao 7º dia (Tabela 2).

O temephos foi utilizado pela primeira vez como larvicida em 1965, para combater o *A. aegypti*, e sua eficiência foi demonstrada por Brooks et al. (1966). Posteriormente, Laws Jr. et al. (1968) confirmam a eficácia do temephos, assegurando que esse produto não apresentava efeito tóxico ou alteração de colinesterase à ingestão de até 64 mg/dia/homem, avaliado num período de 30 dias. Bowman et al. (1968), em experimentos de laboratório, mostraram o temephos cromatografado mantendo suas propriedades químicas inalteradas, após 16 dias, numa proporção de 42 a 57% de resíduo, fixado à superfície do recipiente. Pérolas de vidro cobertas com temephos e colocadas na água produziram concentrações de 0,029 ppm, em todos os intervalos de amostragem: de 1, 2, 4, 8 ou 16 dias. Larvas expostas a essas concentrações apresentaram mortalidade de 100%.

Os tempos de mortalidade diferiram-se entre 60 e 70 minutos, respectivamente, para as doses de 10 e 0,1 ppm. O comportamento residual do temephos é de interesse pelo seu uso potencial preventivo. Em 16 dias de teste, a perda do temephos foi de 2%. A aderência do produto à superfície do recipiente diminui a perda, mesmo quando a água se perde por evaporação ou mecanicamente. Esses fatos criaram perspectivas de uso no controle de mosquitos (WHO, 1980 e 1992).

De 1967 a 1986, ocorreu aumento no número de propriedades tratadas com temephos. O uso do temephos em grande escala começou com a dispersão, recrudescimento e a expansão do *A. aegypti* nas faixas tropical e subtropical do globo terrestre (Brooks et al., 1966; Bang & Pant, 1972; Bang et al., 1972a,b; WHO, 1980; OMS, 1987; Lam, 1993a,b). Como aconteceu

com outros inseticidas (WHO, 1980), era de se esperar o aparecimento da resistência do *A. aegypti* ao temephos, pela seleção natural ou mediada por algum gene. A primeira comprovação dessa premissa foi através do boletim técnico da WHO (1980) para a região Caribenha e Nova Caledônia. Posteriormente, Schofield et al. (1984) demonstraram a resistência do *A. aegypti* ao temephos com larvas de 4º estágio de uma cepa de Santa Cruz, Bolívia, demonstrando um nível de resistência de aproximadamente seis vezes em relação a uma cepa referência do *A. aegypti*.

A resistência do *A. aegypti* ao temephos foi notificada em outras regiões do globo, como, por exemplo, em Güines, região próxima a Havana, Cuba. Chiong et al. (1985), utilizando-se larvas de 3º e 4º estádios, constataram uma resistência equivalente ao dobro da dose que estava sendo utilizada, 0,02 ppm. Com esta dose, Rawlins & Ragoonansingh (1990) realizaram experimentos com larvas de 4º estágio, procedentes de diferentes regiões e encontraram os seguintes níveis de resistência, respectivamente, em Santa Lúcia, Antígua e Trinidad, de 27,7; 25 e 19,3 vezes. Contudo, operadores de campo têm demonstrado preocupação ao observarem que as doses do temephos utilizadas são sempre maiores que as anteriores. Sugere-se continuidade de monitorização, prevendo aumento desta resistência (Schofield et al., 1984).

Em São Domingos, República Dominicana, ensaios biológicos foram realizados com a dose de 0,02 ppm, que causou a mortalidade de 78,2%. Testes foram conduzidos para encontrar a dose que anulava essa resistência, causada pela pressão contínua do inseticida sobre o mosquito, e o nível de resistência tem sido notificado cada vez maior, terminando numa dose diagnóstica de 0,037 ppm (Mekuria et al., 1991).

Tabela 1. Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* pelo temephos a 1%, na dose de 1 ppm, após 24 horas de observação

Criadouro	1º Estádio	2º Estádio	3º Estádio	4º Estádio
Amianto	99,1±0,6 <sup>a</sup>	77,7±4,2b	63,6±6,8c	75,0±7,0d*
Pneu	99,1±0,9 <sup>a</sup>	86,8±3,9b	68,6±7,1c	67,3±8,7c
Plástico	100,0±0,0 <sup>a</sup>	74,6±6,1b	58,6±6,7c	74,1±6,9d*
Cerâmica	100,0±0,0 <sup>a</sup>	85,9±2,8b	51,8±7,0c	76,8±4,7d*
Lata	100,0±0,0 <sup>a</sup>	81,4±3,8b	54,1±7,6c	64,1±7,1c
Cimento	100,0±0,0 <sup>a</sup>	86,0±4,5b	63,2±7,8c	73,6±6,9c
Vidro	100,0±0,0 <sup>a</sup>	81,4±5,0b	66,0±7,7c	72,3±6,9c

Observação: As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Tabela 2. Avaliação longitudinal da mortalidade do *Aedes aegypti* pelo temephos a 1 ppm, realizada após 24 horas com repetições em intervalos de 2 dias

Dias	1º Estádio	2º Estádio	3º Estádio	4º Estádio
1º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	96,4±2,1b	30,0±6,2e	100,0±0,0l
3º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	84,3±4,0c	47,9±5,9f	52,1±4,2m
5º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	80,0±4,2c	42,9±5,1f	41,4±6,2m
7º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	80,0±5,0c	42,1±5,9f	48,6±4,7m
9º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	81,4±1,4c	50,0±4,8f	73,6±5,8n
11º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	68,6±6,4d	57,9±5,7g	55,0±3,9m
13º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	82,1±5,4c	75,0±3,1h	100,0±0,0l
15º	99,3±0,7 <sup>a</sup>	82,9±5,2c	62,1±6,8g	84,3±5,6n
17º	98,6±1,4 <sup>a</sup>	100,0±0,0b	89,3±5,7i	70,7±3,2n
19º	100,0±0,0 <sup>a</sup>	79,3±5,5c	90,0±3,6i	84,3±6,1n
21º	99,3±0,7 <sup>a</sup>	66,4±6,0d	82,1±5,9h	80,7±5,4n
Média ± Epadrão	99,7±0,3 <sup>a</sup>	81,9±4,1b	60,8±5,3c	71,9±4,1d

Observação: As médias seguidas das mesmas letras, nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Das & Rajagopalan (1979), em Pondicherry, Índia, pela inexistência de estudos anteriores que pudessem indicar a resistência do *A. aegypti* ao temephos, demonstraram suscetibilidade desse mosquito a uma dose crítica aproximada de 0,01 ppm. Com *A. aegypti* procedente dessa mesma região, Dorta et al. (1993), usando dose similar, determinaram um aumento de resistência de 30 vezes. Ainda no continente asiático, na Polinésia Francesa, foi detectada uma resistência do *A. aegypti* ao temephos, de 2,3 vezes em relação à dose sugestiva da OMS (Failloux et al., 1994).

A proposta de estudar a ação larvicida do temephos em diferentes criadouros se baseia no aumento gradativo de recipientes oriundos da comercialização e do consumo de produtos industrializados, que ainda não têm um destino adequado, compatível com o desenvolvimento tecnológico industrial. As empresas não se responsabilizam sobre esse lixo produzido. Como consequência, a população de mosquitos tem aumentado servindo-se desse lixo inorgânico como criadouros, e entre os mais comuns estão os recipientes de amianto, pneu, plástico, lata, cimento e vidro, para os quais Silva et al. (1998) encontraram os seguintes índices de infestação: 4,9; 13,1%; 47,8%; 0,7%; 3,3,% e 1,5%, respectivamente.

Rawlins & Wan (1995) comprovaram níveis altos de resistência de cepas do *A. aegypti* ao temephos, por exemplo, Tortola, com uma resistência de 10 a 12 vezes a dose inicial, e Antígua, de 6 a 9 vezes. Verificaram ainda que dobrando a dosagem diagnóstica do temephos esta foi só parcialmente

efetiva contra a cepa mais resistente, limitando a eficácia do produto a um curto período de tempo. Os experimentos foram realizados com temephos a 0,02 ppm e 0,04 ppm, com 20 larvas de 4º estágio com três repetições. Os dados para o temephos indicaram uma prevalência de elevado nível de resistência ao inseticida na maioria das cepas Caribenhas, porém com diferentes níveis de resistência. Os testes de campo evidenciaram os seguintes níveis de resistência: para a CL<sub>90</sub> a dose diagnóstica foi de 0,08 ppm, o que corresponde resistência de 4 vezes. As cepas que tiveram a CL<sub>90</sub> igual 0,063 ppm apresentaram resistência de 2,7 vezes, com relação à dose preconizada pela OMS (1986). Quando essas cepas foram colocadas em água com temephos a 0,02 ppm e 0,04 ppm, houve diferença significativa no nível de toxicidade após 24 h, com mortalidade de 78,3% e 95%, respectivamente. Ressuspendendo os grânulos de temephos, houve atividade até 32 dias, com baixos índices de mortalidade nas cepas mais resistentes, 1,6 e 8,3%, respectivamente, às doses de 0,02 ppm e 0,04 ppm. Sete das 34 cepas (20,6%) mostraram proporções de resistência de aproximadamente duas vezes a essa dose. As outras cepas apresentaram resistência, embora inferior a esse índice. Entretanto, os níveis de resistência demonstrados aqui são bastante moderados, com um nível máximo de 12,1 vezes a resistência detectada na população Sea Cow's Bay. Mas foi encontrada uma cepa altamente resistente (36 vezes). A significância desses resultados está na proporção de aumento de populações com acentuados níveis de resistência. Nota-se que, além dos 20,6% de populações suscetíveis, todas as outras cepas caem dentro do grupo de resistência moderada. Nos estudos de campo, fica demonstrado que na situação prática há uma perda de eficácia do inseticida, com resistência demonstrada em laboratório. O "status de resistência" encontrado neste trabalho pode ser considerado compatível com a resistência moderada das regiões do globo anteriormente citadas (Tabela 2).

No Brasil são raras as referências bibliográficas sobre a aplicação e a eficiência do temephos sobre o *A. aegypti*. Contudo os primeiros indícios de resistência desse mosquito a esse produto foram apresentados por Macoris et al. (1995a), num estudo comparativo entre cepas de *A. aegypti* procedentes de Goiânia e São Paulo. Os mosquitos originários de Goiânia apresentaram um "status de resistência" de aproximadamente 50%, nos 11 experimentos realizados durante os anos de 1993-1994, com provas biológicas realizadas simultaneamente em São Paulo e em Goiânia. Em função da resistência encontrada em diferentes regiões, a WHO (1992) revisou a dose diagnóstica e propôs a dose de 1 ppm, para ser aplicada nas áreas com cepas resistentes. A partir dessa dose de 1 ppm realizou-se este trabalho com o temephos e o *A. aegypti*, no qual detectou-se o "status de resistência" no terceiro estágio. Porém, como não existe nenhuma norma ou critério que defina a morte das larvas, observou-se na literatura pertinente ao assunto uma variação muito grande na avaliação de mortalidade, o que demonstra um caráter muito

subjetivo. Por exemplo, Cillek et al. (1991) consideraram mortas as larvas que não se movimentavam com agitação da água. Outros autores como Anderson et al. (1983) consideraram mortas as larvas moribundas, com espasmos ou estertores. A maioria dos investigadores nessa área é omissa com relação à mortalidade das larvas. Neste trabalho considerou-se morta a larva totalmente inerte, o que pode ser um parâmetro de discordância para os níveis de resistência entre os diversos autores.

Pela análise da Tabela 3, pode-se constatar que não houve interferência significativa dos diferentes tipos de criadouros na atividade larvicida do temephos a 1%, na dose de 1 ppm. Verificou-se que durante o período estudado o temephos permaneceu ativo causando cerca de 80% de mortalidade em todos os estágios durante três semanas (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade média das larvas do *Aedes aegypti* em relação a temephos a 1%, na dose de 1 ppm, avaliada 24 horas após o início dos testes e repetidos em intervalos de dois dias

Dias	Criadouros						
	Amianto	Pneu	Plástico	Cerâmica	Lata	Cimento	Vidro
1º	82,5±17,5a	85,0±15,0a	77,5±20,9a	76,3±23,7a	80,0±18,4a	86,3±13,8a	83,8±11,8a
3º	72,5±12,0a	72,5±17,0a	73,8±11,3a	76,3±08,5a	67,5±13,8a	70,0±16,2a	65,0±15,4a
5º	62,5±14,5a	73,8±14,3a	62,5±13,1a	72,5±15,1a	65,0±17,9a	61,3±17,1a	65,0±16,2a
7º	66,3±14,3a	57,5±17,1a	73,8±12,5a	71,3±15,6a	62,5±13,0a	65,0±17,9a	77,5±09,7a
9º	80,0±08,2a	81,3±08,3a	73,8±10,7a	78,8±13,6a	65,0±14,9a	83,8±07,2a	71,3±12,8a
11º	75,0±08,7a	72,5±12,3a	56,3±14,6a	73,8±09,7a	68,8±11,6a	83,8±07,5a	62,5±13,0a
13º	83,8±09,4a	86,3±09,4a	91,3±07,2a	90,0±05,8a	88,8±08,3a	91,3±07,2a	94,0±03,8a
15º	78,8±08,5a	88,8±08,0a	80,0±10,6a	78,8±08,3a	67,5±15,6a	86,3±07,5a	95,0±02,0a
17º	90,0±10,0a	88,8±08,3a	90,0±08,4a	85,0±08,9a	88,8±07,2a	91,3±07,2a	94,0±06,0a
19º	87,5±09,5a	86,3±10,7a	86,3±08,5a	87,5±06,0a	88,8±06,6a	90,0±06,8a	92,5±03,2a
21º	88,8±04,7a	92,5±04,3a	80,0±09,8a	75,0±11,0a	81,3±08,8a	78,8±10,9a	78,8±11,8a

Observação: As médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## CONCLUSÕES

Os criadouros artificiais de amianto, pneu, plástico, cerâmica, lata, cimento e vidro não interferiram na atividade larvicida do temephos a 1%, aplicado na dose de 1 ppm, para todos os estágios larvais do *A. aegypti*.

Houve diferença significativa na mortalidade entre os estágios larvais do *A. aegypti*, e o 3º estágio foi o menos suscetível à solução de temephos a 1 ppm.

A atividade larvicida na avaliação longitudinal do temephos a 1%, na dose de 1 ppm, sobre o *A. aegypti*, foi eficiente para o 1º estágio, e o "status de resistência" foi caracterizado para os demais estágios, apontando o 3º estágio e primeira semana como os de índices mais elevados.

O "status de resistência" do *A. aegypti* sobre temephos a 1%, na dose de 1 ppm, evidencia a necessidade de monitoramento permanente, em função do uso contínuo em extensas áreas.

## SUMMARY

Larvicide activity of temephos 1% on *Aedes aegypti* (Lin., 1762), in different artificial habitats

The efficiency of the larvicide temephos over *Aedes aegypti* was assessed in order to study the possibility of modification in susceptibility of the mosquitoes to this insecticide. The experiment was carried out with granulated temephos 1% over *A. aegypti* most common habitats (asbestos, plastic, ceramic, tin, glass and cement containers and a tire). For each habitat and larval stage a different container was filled with 4 liters of the temephos solution and posteriorly 20 *A. aegypti* larvae were placed in them. Each experiment was repeated 4 times with a 48 hour interval. Mortality was evaluated 24 hours after the beginning of the experiment, and subsequently within a 2 day interval. All assays were carried out in a 12 m<sup>2</sup> area in the backyard of a private home in a residential area of the city of Goiania. It was demonstrated that the diversity on the habitat's material had no influence on mortality in all larvae stages. Furthermore, a resistance of 3<sup>o</sup> and 4<sup>o</sup> stages *A. aegypti* larvae to the 1 ppm temephos solution was shown.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*. Temephos. Larvicide. Control.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson LM, Nelson JH, Thies C & Meisch MV. Evaluation of a controlled-release silicate formulation of temephos against *Aedes aegypti* larvae in the laboratory and *Psorophora columbiae* larvae (Diptera: Culicidae) in rice field plots. *J Med Entomol*, 20:325-329, 1983.
- Bang YH, Gratz N & Pant CP. Suppression of a field population of *Aedes aegypti* by malathion thermal fogs and Abate larvicide. *Bull Wld Hlth Org*, 46:554-558, 1972a.
- Bang YH & Pant CP. A field trial of Abate larvicide for the control of *Aedes aegypti* in Bangkok, Tailand. *Bull Wld Hlth Org*, 46:416-425, 1972.
- Bang YH, Tonn RJ. & Jatanasen, S. Pilot studies of Abate as a larvicide for control of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 3:106-115, 1972b.
- Barnes WW & Webb AB. A field evaluation of Abate briquettes in woodland polls. *Mosq News*, 28:458-461, 1968.
- Beehler J W, Quick TC & Defoliart GR. Residual toxicity of four insecticides to *Aedes triseriatus* in scrap tires. *J Am Mosq Contr Assoc*, 7:121-122, 1991.
- Betzios BC. Development of resistance to dieldrin in a laboratory colony of the mosquito *Culex pipiens molestus*. *Ann Inst Phytopathol Benaki*, 11:284-301, 1977.
- Bowman MC, Ford HR, Lofgren CS & Weidhaas DE. Residues of Abate: Analisis in mosquito larvae and larvicide suspensions by flame photometric gas chromatography. *J Econ Entomol*, 61:1586-1589, 1968.
- Brooks GD, Schooff F & Smith EA. Evaluation of five formulations of Abate against *Aedes aegypti*, Savannah, Georgia, 1965. *Mosq News*, 26:580-582, 1966.
- Chadee DD. Métodos de evaluación de la población de *Aedes aegypti* y tratamientos con insecticidas en una población de Trinidad, Antillas. *Bol Of Sanit Panam*, 109:350-359, 1990.
- Chadee DD. Seasonal incidence and horizontal distribution patterns of oviposition by *Aedes aegypti* in an urban environment in Trinidad, West Indies. *J Am Mosq Contr Assoc*, 8:281-284, 1992.
- Chen YP & Sudderuddin KI. Toxicological studies of insecticides on *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* (L.). *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 9:378-383, 1978.
- Chiong R, Ortega AN, Caicedo JG & Vidal MF. Susceptibilidad de una cepa de *Aedes (S) aegypti* procedente de Güines al temephos y fenthion. *Rev Cub Med Trop*, 37:92-97, 1985.
- Chippaux JP & Coustard JM. Sensitivity and accuracy of a bio-assay for the determination of the concentration of residual pesticide in natural water bodies. *Acta Tropica*, 50:267-270, 1992.
- Chippaux JP, Deubel JP, Moreau JP & Reynes JM. Atual situação da febre amarela na América Latina. *Bull Soc Pathol Exot*, 86:460-464, 1993.
- Chungue E, Laudon F & Glaziou P. Dengue and dengue haemorrhagic fever in French Polynesia current situation. *Trop Med*, 35:209-215, 1993.
- Cillek JE & Knapp FW. Residual activity of three slow release temephos formulations against *Aedes aegypti* larvae. *J Am Mosq Contr Assoc*, 11:358-359, 1995.
- Cillek JE, Webb JD & Knapp FW. Residual concentration and efficacy of three temephos formulations for control of larval *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Contr Assoc*, 7:310-312, 1991.
- Cornet M. The potential vectors of the amaril virus in the Republic of Senegal. *Med Afr Noire*, 14:423-425, 1967.
- Das PK & Rajagopalan PK. Susceptibility of larvae of *Culex fatigans* (Wiedmann), *Anopheles stephensi* (Liston) and *Aedes aegypti* (Linn.) to insecticides in Pondicherry. *Indian J Med Res*, 70:412-416, 1979.
- Dorta DM, Vasuki V, Rajavel A. Evaluation of organophosphorus and synthetic pyrethroid insecticides against six vector mosquito species. *Rev Saúde Pública*, 27:391-397, 1993.
- Eamchan P, Nisalak A, Foy HM & Chareonsook OA. Epidemiology and control of dengue virus infections in thai villages in 1987. *Am J Trop Med Hyg*, 41:96-101, 1989.
- Failloux AB, Ung A, Raymond M & Pasteur N. Insecticide susceptibility in mosquitoes (Diptera: -Culicidae) from French Polynesia. *J Med Entomol*, 31:639-644, 1994.
- Forattini OP. *Entomologia Médica*. EDUSP, São Paulo 1965. 506p.
- Franco O. *História da febre amarela no Brasil*. 1<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro, DNERu, 1969. 208p.
- Fukunaga T, Phommasack B, Bounlu K, Saito M, Tadano M, Makino Y, Kanemura K, Arakaki S, Shinjo M & Insisiengmay S. Epidemiological situation of dengue infection in Lao P.D.R. *Trop Med*, 35:219-227, 1993.
- Geevarghese G, Dhanda V, Rao PNR & Deobhankar RB. Field trials for the control of *Aedes aegypti* with Abate in Poona city and suburbs. *Indian J Med Res*, 65:466-473, 1977.
- Godoy O, Montiel L & Bañuelos A. Epidemiologia del dengue y el dengue hemorragico en Venezuela 1989-1997 *Rev Soc Bras Med Trop*, 31:131, 1998.
- Gratz NG. What must we do to effectively control *Aedes aegypti*. *Trop Med*, 35:243-251, 1993.
- Halstead SB. Global epidemiology of dengue: health systems in disarray. *Trop Med*, 35:137-146, 1993.

31. Halstead SB & Yamarat C. Recent epidemics of hemorrhagic fever in Thailand. Observations related to pathogenesis of a "new" dengue disease. *Amer J Public Health*, 55:1386-1395, 1965.
32. Igarashi A. Current situation of dengue virus infection and control. *Trop Med*, 35:131-136, 1993.
33. Kalyanasundaram M, Reddy CMR, Mariappan T & Das P K. Evaluation of controlled release formulations of mosquito larvicides. *Indian J Med Res*, 80:649-652, 1984.
34. Khiem HB, Ha DQ, Huong VTQ & Loan HTK. Some recent data on dengue epidemic in the South of Vietnam. *Top Med*, 35:185-187, 1993.
35. Kojima S A rapporteur's summary: vector control. *Trop Med*, 35:331-334, 1993.
36. Lam SK. Two decades of dengue in Malaysia. *Trop Med*, 35:195-200, 1993a.
37. Lam SK. Strategies for dengue control in Malaysia. *Trop Med*, 35:303-307, 1993b.
38. Laws Jr, E R, Sedlak VA, Miles JW, Joseph CR, Lacombe J R & Rivera AD. Field study of safety of Abate for treating potable water and observations on the effectiveness of a control programme involving both Abate and Malathion. *Bull Wld Hlth Org*, 38:439-445, 1968.
39. Lien JC, Lin TH & Huang HM. Dengue vector surveillance and control in Taiwan. *Trop Med*, 35:269-276, 1993.
40. Lloyd LS, Winch P, Ortega-Canto J & Kendall C. The design of a community-based health education intervention for the control of *Aedes aegypti*. *Amer J Trop Med Hyg*, 50:401-411, 1994.
41. Macoris MLG, Camargo MF, Silva IG, Takaku L & Andrighetti MT. Modificação a suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* ao Temephos. *Rev Pat Trop*, 19:31-40, 1995a.
42. Macoris MLG, Andrighetti MTM & Takaku L. Efeito residual de temephos em larvas de *Aedes-aegypti*. *Rev Soc Bras Med Trop*, 28:375-377, 1995b.
43. Madhukar BVR & Pillai MKK. Insecticide susceptibility in indian strains of *Aedes aegypti* L. *Mosq News*, 28:222-225, 1968.
44. Mekuria Y, Gwinn T A, Williams DC & Tidwell MA. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingos Dominican Republic. *J Am Mosq Contr Assoc*, 7: 69-72, 1991.
45. Nathan M B & Giglioli MEC. Erradicacion de *Aedes aegypti* en Caiman Brac y Pequeño Caiman, Antillas Britanicas, con abate (temephos) en 1970-1972. *Bol Of Sanit Panam*, 92:18-32, 1982.
46. Novak D. Granular Abate for control of mosquitoes larvae. *Arch Roum Path Exp Microbiol*, 31:579-582, 1972.
47. Novak JR, Gubler DJ & Underwood D. Evaluation of slow-release formulations of temephos (Abate) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. *J Am Mosq Contr Assoc*, 1:449-453, 1985.
48. Okabe N. Situation on dengue fever and dengue haemorrhagic fever in the western pacific region. *Trop Med*, 35:147-160, 1993.
49. Organizacion Mundial de la Salud. *Resistencia de los vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas*. Ser Inf Tec n° 737. Ginebra, 1986.
50. Organizacão Mundial de Saúde. *Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle*. Genebra, 1987. 79p.
51. Osanai CH, Rosa APAT, Tang AT, Amaral RS, Passos ADC & Tauli P L. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima. *Rev Inst Med trop São Paulo*, 1:53-54, 1983.
52. Pinheiro FP, Rosa AP AT, Moraes MA, Almeida-Neto JC, Camargo S & Filgueiras JP. An epidemic of yellow fever in Central Brazil, 1972-1973. I. Epidemiological studies. *Am J Trop Med Hyg*, 27:125-132, 1978.
53. Rawlins SC & Ragoonansingh R. Comparative organophosphorus insecticide susceptibility in caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorhynchites moctezuma*. *J Am Mosq Contr Assoc*, 6:315-317, 1990.
54. Rawlins SC & Wan JOH. Resistance in some caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. *J Am Mosq Contr Assoc*, 11:59-65, 1995.
55. Reyes-Villanueva F, Juarez-Eguia M & Flores-Leal JA. Effects of sublethal dosages of Abate upon adult fecundity and longevity of *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Contr Assoc*, 6:739-741, 1990.
56. Reyes-Villanueva F, Garza-Garza H & Flores-Leal JA. Efecto de concentraciones subletales de Abate sobre algunos parámetros biológicos de *Aedes aegypti*. *Salud Pública Mex*, 34:406-412, 1992.
57. Rudnick A, Tan EE, Lucas JK & Omar MB. Mosquito-borne haemorrhagic fever in Malaya. *Brit Med J*, 5445:1269-1272, 1965.
58. Schofield CJ, Hemingway J & Balderrama S. Insecticide resistance in Bolivian *Aedes aegypti*. *Bol Cient CENETROP*, 10:22-28, 1984.
59. Serufo JC, Souza AM, Tavares VA, Jammal M C & Silva J G. Dengue in the South-eastern region of Brazil: historical analysis and epidemiology. *Rev Saúde Pública*, 27:157-167, 1993.
60. Silva HHG. *Período de quiescência dos ovos de Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera Culicidae) em condições de laboratório*. Tese de Mestrado, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, UFG, 1996.
61. Silva HHG, Silva IG, Lira KS. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Rev Pat Trop*, 27:53-63, 1998.
62. Silva IG, Araújo ES O, Silva HHG, Soares AW & Cantuária PB. Ocorrência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em Goiânia. *An.Soc Ent Brasil*, 20:459-460, 1991a.
63. Silva IG, Camargo MF, Elias CN, Isac E. & Santos AH. Metodologia de criação de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Rev Goiana Med*, 39:23-26, 1994.
64. Silva IG, Cantuária PB, Silva HHG, Araújo ESO. Distribuição do *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em Goiânia. *Rev Pat Trop*, 20:1-5, 1991b.
65. Sjogren RD & Mulla MS. Drip application of three organophosphorus insecticides for mosquito control. *Mosq News* 28:172-177, 1968.
66. Soedarmo SP. The epidemiology, control and prevention of dengue hemorrhagic fever (DHF) in Indonesia. *Trop Med*, 35:161-172, 1993a.
67. Soedarmo SP. Community participation in the control and prevention of DHF in Indonesia. *Trop Med*, 35:315-324, 1993b.
68. Sucharit S. Epidemiological situation of dengue in Thailand. *Trop Med*, 35:173-177, 1993.
69. Sucharit S, Rongsriyan Y, Deesin V, Komalamisra N, Apiwathnasorn C & Surathint K. Biology of dengue vectors and their control in Thailand. *Trop Med*, 35:253-257, 1993.
70. Swaddiwudhipong W, Lerdlukanavong P, Khumklam P, Koonchote S, Nguntra P & Chaovakiratipong C. A survey of knowledge, attitude and practice of the prevention of dengue hemorrhagic fever in an urban community of Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 23:207-211, 1992.
71. Taylor RT & Schoof HF. Experimental field treatments with larvicides for control of *Anopheles*, *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *J Econ Entomol*, 64:1173-1176, 1971.
72. Tewari SC, Reuben R & Batra CP. Dose determination with temephos against *Anopheles stephensi* Liston in wells. *Indian J Med Res*, 73:890-894, 1981.
73. Torres EM. *Dengue hemorrágico em crianças* Ed. José Martí, Havana, Cuba, 1991. 180p.
74. Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Nunes M, Travassos da Rosa E, Barra GA, Rodrigues SG, Cerqueira DI, Cruz ACR, Mesquita N, Silva MR, Travassos da Rosa JF C, Mahagama AK, Pinto E. & Magalhães MTF. Epidemia de dengue na grande Belém: aspectos conceituais e abordagem clínico-epidemiológica, no ano de 1997. *Rev Soc Bras Med Trop*, 31:130, 1998.
75. Umenai T, Nishigaki M, Osaka K, Miura H & Ishii K. Health system for dengue control: early case detection and focal control. *Trop Med*, 35:297-302, 1993.

76. Upatham ES & Sa-Nguankul P. Controlled release Ecopro<sup>tm</sup> 1707 as mosquito larvicide and molluscicide. *Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth*, 13:231-237, 1982.
77. Uttley KH. The mortality of yellow fever in Antigua, west indian, since 1857. *West Indian Med J*, 9:185-188, 1960.
78. World Health Organization. *Resistance of vectors of disease to pesticides*. Technical Report Series 655. Geneva, 1980.
79. World Health Organization. *Vector resistance to pesticides*. Technical Report Series 818. Geneva, 1992.
80. Wu YC, Lien JC & Chen HY. Recent outbreak of dengue in Taiwan. *Trop Med*, 35:201-207, 1993.
81. Ya KL. Community participation in the control of dengue fever. *Trop Med*, 35:293-296, 1993.
82. Yow-Cheong C, Kee-Tai G, Bee-Hoon H & Boon-Teng T. Epidemiology of dengue in Singapore—current situation. *Trop Med*, 35:189-194, 1993a.
83. Yow-Cheong C, Kee-Tai G, Boon-Teng T & Bee-Hoon H. Health sistem for dengue control in Singapore. *Trop Med*, 35:309-314, 1993b.