

---

**METODOLOGIA DE CRIAÇÃO, MANUTENÇÃO DE  
ADULTOS E ESTOCAGEM DE OVOS DE *Aedes*  
*Aegypti* (LINNAEUS, 1762) EM LABORATÓRIO**

---

Heloisa Helena Garcia da Silva<sup>1</sup>, Ionizete Garcia da Silva,<sup>1</sup> Kênia da Silva Lira<sup>2</sup>

**RESUMO**

Foi construída e climatizada uma câmara biológica para criar, manter adultos e estocar ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae), com o objetivo de atender à alta demanda de insetos utilizados em ensaios biológicos com diferentes tipos de inseticidas, bem como avançar nos estudos biológicos desse mosquito com relação às dietas alimentares. A câmara biológica foi climatizada à temperatura de  $28 \pm 1$ :C, com umidade relativa de  $80 \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas. Apresentam-se os dados sobre a eclosão das larvas, desenvolvimento larval e pupal, ciclo evolutivo, sexagem, longevidade das fêmeas e machos de *A. aegypti*.

**UNITERMOS:** *Aedes aegypti*. Criação. Metodologia. Biologia.

**INTRODUÇÃO**

O *Aedes aegypti* é, sem dúvida, o mosquito mais importante nos registros epidemiológicos da febre amarela e dos quatro sorotipos do vírus da dengue (Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4), os quais têm causado as formas benigna e hemorrágica (Franco, 1969; OMS, 1987; Chippaux et al., 1993; Chungue et al., 1993; Halstead, 1993; Khiem et al., 1993; Okabe, 1993; Soedarmo, 1993; Sucharit et al., 1993).

Evidências faunística, primitiva e silvestre do *A. aegypti* na África indicam que esse mosquito surgiu naquele continente. É provável que o *A. aegypti* tenha sido introduzido nas Américas pelas expedições colonizadoras dos europeus (Franco, 1969). A sua alta densidade, aliada à aversez por sangue humano, tornou-o uma praga das cidades. No Brasil, o *A. aegypti* foi erradicado e reintroduzido várias vezes. Atualmente o *A. aegypti* distribui-se

---

1 Laboratório de Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico

2 Bolsista de Iniciação Tecnológica CNPq/RHAE.

3 Apoio Financeiro: FUNAPE.

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo esq. com 1ª Avenida, Setor Universitário, Caixa Postal 131, CEP 74605-050, Goiânia, GO.

Recebido para publicação em 08/04/98. Aceito em 18/06/98.

em 2.719 municípios brasileiros (dados da Fundação Nacional de Saúde – Distrito Federal-1997), ocupando todas as regiões, com poucas perspectivas de ser controlado, e trazendo consigo dengue. Essa doença é predominantemente de países subdesenvolvidos, devido à alta densidade de *A. aegypti* e à má distribuição de recursos. O intrínseco relacionamento dos problemas de gerenciamento de programas, as interrupções e as limitações técnico-científicas inviabilizam as ações de combate, deixando sem controle tanto o mosquito quanto a doença. (Silva et al., 1991; Oya, 1993; Silva et al., 1993b; Silva, 1994; Silva et al., 1994b; Moreira et al., 1994; Macoris et al., 1995; Fernandes et al., 1996a,b).

Porque não dispomos de vacina efetiva até o momento para a dengue, embora haja pesquisa, progresso e perspectivas de obtenção (Yasui, 1993; Oya, 1993; Kitamura, 1993; Khin et al., 1994), e nem de tratamento específico, o combate ao vetor é a medida mais eficiente na prevenção de surtos de dengue. Para isto, é imprescindível elaborar um programa de combate, sustentado nos conhecimentos de biologia, em medidas de eliminação de criadouros integradas às da eficiência dos inseticidas sobre o *A. aegypti*. Para se conhecer a eficiência dos inseticidas já existentes e/ou testar novos, realizam-se ensaios biológicos, o que depende da criação em alta escala, manutenção e estocagem de ovos do *A. aegypti* em laboratório.

## MATERIAL E MÉTODOS

Criação - construiu-se uma câmara biológica para criar *A. aegypti*, com acesso através de uma antecâmara, que visa à segurança do trabalho e possibilita a recaptura no caso de fuga de mosquitos. Essa câmara foi climatizada a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  pela interligação de um termostato, um eletroímã e uma chave térmica com um condicionador de ar. A umidade de  $80 \pm 5\%$  foi obtida pela evaporação natural da água, a partir de frascos com água e fraldas brancas (Fig. 1), e controlada com um higrômetro. A fotofase foi obtida da luz natural através de uma parede dupla de esquadrias e vidro transparente (semiadiabática), por cerca de 12 h. Os ovos foram coletados durante um período de 24 meses e estocados, para constituir uma ovoteca.

O termostato e o higrômetro foram aferidos com controles de temperatura e umidade anotados três vezes ao dia, utilizando-se de um termômetro de máxima e mínima (mercúrio) e de um termômetro úmido.

A cartela de ovos, em papel-filtro, foi colocada para incubar em bacia branca esmaltada, medindo 30 cm de diâmetro por 7 cm de altura e contendo 1,5 l de água proveniente da rede pública de abastecimento (Fig. 1).

Optou-se pelo uso desse tipo de bacia, pelo contraste que ela oferecia e por tornar mais fácil a visualização das larvas de 1º estágio, logo após a sua eclosão.

A temperatura da água era medida diariamente, usando um termômetro digital, e foi em média de  $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Incubação – após a imersão dos ovos em água, as bacias eram examinadas em intervalos de 2 horas para verificar as eclosões das larvas. As observações diárias foram feitas durante um período de 8 meses.

Procurou-se manter constante o volume de água, com reposições diárias; a limpeza das bacias era feita em intervalos de 7 dias. Para isso, retirava-se o papel com ovos, que era colocado em uma bacia limpa, e os ovos soltos eram transferidos com o auxílio de uma pipeta de vidro.

Desenvolvimento – para estudos de biologia, logo após a eclosão, as larvas de 1º estágio eram retiradas com o auxílio de uma pipeta de vidro, individualizadas em tubos de polietileno, transparentes, medindo 4,0 cm de altura x 4,7 cm de diâmetro, contendo 8 ml de água (Fig. 2). Estes eram numerados e colocados em bandejas plásticas identificadas com o número da bacia. A reposição da água evaporada era feita, retirando-se a quantidade necessária de uma bacia plástica com água da rede pública de abastecimento, que ficava em repouso dentro da câmara. Com esse procedimento, compatibilizava-se a temperatura da água com o ambiente climatizado e, desta forma, evitava-se o choque térmico e, por conseguinte, a diapausa (Wigglesworth, 1974). Quando se verificava fermentação da ração, a água era totalmente trocada. Para criação em alta escala, o desenvolvimento larvário ocorre dentro da bacia e, na fase de pupa, estas são transferidas para gaiolas de emergência e acasalamento.

Para facilitar a visualização das larvas de 1º estágio, utilizou-se um foco luminoso de uma lanterna incidindo sobre a bacia.

As larvas foram alimentadas, imediatamente após a eclosão, com ração para gatos (Silva et al., 1995) triturada em gral e pistilo e, depois, coada em tela fina, até se obterem finíssimas partículas. Utilizando-se a ponta de uma espátula de polietileno, que colhia, aproximadamente, 1,9 mg de ração, colocava-se esta quantidade quando se individualizava a larva para determinação do ciclo em cada tubo. A reposição era feita quando se verificava diminuição ou desaparecimento da ração.

Nas observações diárias, as exúvias eram retiradas e as ecdises, anotadas. No estágio de pupa, trocava-se a água do tubo, ao qual se prendia, com fita crepe, outro tubo, com as mesmas características, assim permanecendo até a emergência do adulto.

Ao emergir o adulto, identificava-se o sexo e, imediatamente após, transferia-se o mesmo para gaiolas de acasalamento (Silva et al., 1994a).

Os adultos, provenientes dos ciclos de cada bacia, foram colocados nas gaiolas, identificadas com os respectivos números das bacias.



Figura 1. Parte interna da câmara biológica mostrando detalhes da prateleira, bacias esmaltadas, termostato e frascos para umidificação.

Para a alimentação das fêmeas usaram-se camundongos albinos “empastelados”. Segundo esta técnica, os camundongos são grampeados em tela de náilon, ficando imobilizados, com o abdome recurvado sobre o ventre, posição que se assemelha a um pastel (Fig.3). Na parte superior do interior da gaiola, com o auxílio de um clipe semi-aberto, pendurava-se o camundongo, e, embaixo deste, colocava-se um recipiente plástico, com a finalidade de reter fezes e urina do camundongo. Este ficava exposto às fêmeas do *A. aegypti* por um período médio de 6 horas, em dias alternados. Após a alimentação das fêmeas, o camundongo era retirado e solto em gaiola apropriada, no biotério.

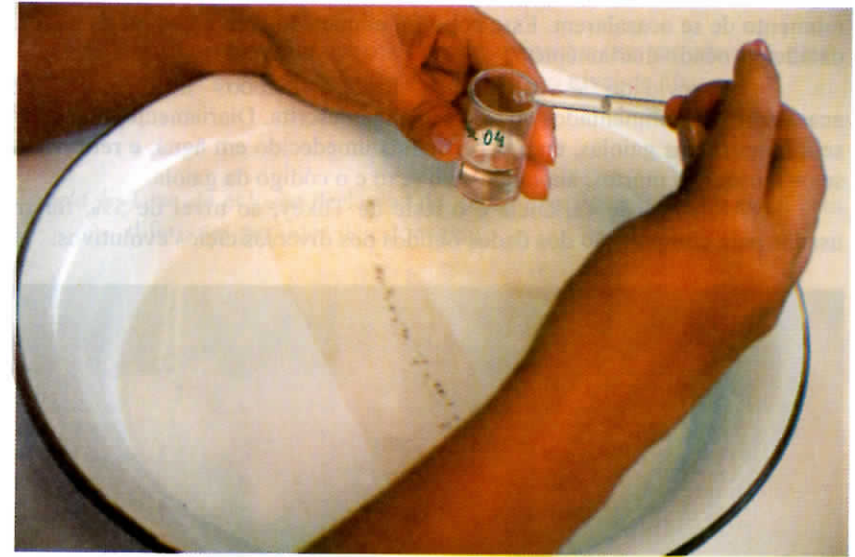


Figura 2. Tubos de polietileno para individualização de larvas de 1º estágio e bacia esmaltada com cartela de ovos ao fundo para criação em alta escala.

Os machos alimentavam-se em algodão (absorvente interno feminino o.b., Johnson & Johnson) embebido em água açucarada na proporção de 12 g de açúcar cristal por 250 ml de água (Fig.3). Preparava-se a solução açucarada, retirava-se o o.b. de sua embalagem original, colocando-o imerso nesta solução, até que se apresentasse completamente embebido. Em seguida era retirado, introduzido na gaiola e preso pelo próprio cordão em um clipe (Fig.3). Optou-se por esse tipo de algodão, após verificar-se a sua resistência ao desenvolvimento de fungos, possibilitando a sua utilização por um período maior do que outros tipos de algodão. O o.b. era trocado semanalmente, e, neste intervalo, era umedecido, em dias alternados, com água açucarada e não açucarada. Para isto, introduzia-se na gaiola, através do manguito, um copo com solução açucarada, onde se imergia o o.b.

Fecundidade – no interior da gaiola de acasalamento colocou-se um copo de vidro âmbar, com um terço de sua capacidade com água, na qual se imergiu uma parte do papel-filtro, do tipo coador de café (Melita nº 100), para as fêmeas realizarem suas posturas. O copo foi coberto com um cone de papel cartolina, cortado no ápice, criando um microambiente propício à postura e impedindo também a morte de adultos, por afogamento, no

momento de se acasalarem. Esse copo foi etiquetado com o código da gaiola, datado e trocado diariamente.

Longevidade – os adultos foram mantidos nas gaiolas de acasalamento e alimentados com a técnica já descrita. Diariamente, procedia-se à limpeza das gaiolas, com papel-toalha umedecido em água, e retiravam-se os mosquitos mortos, anotando-se o sexo e o código da gaiola.

A análise de variância e o teste de Tukey, ao nível de 5%, foram usados para comparação dos dados obtidos dos diversos ciclos evolutivos.

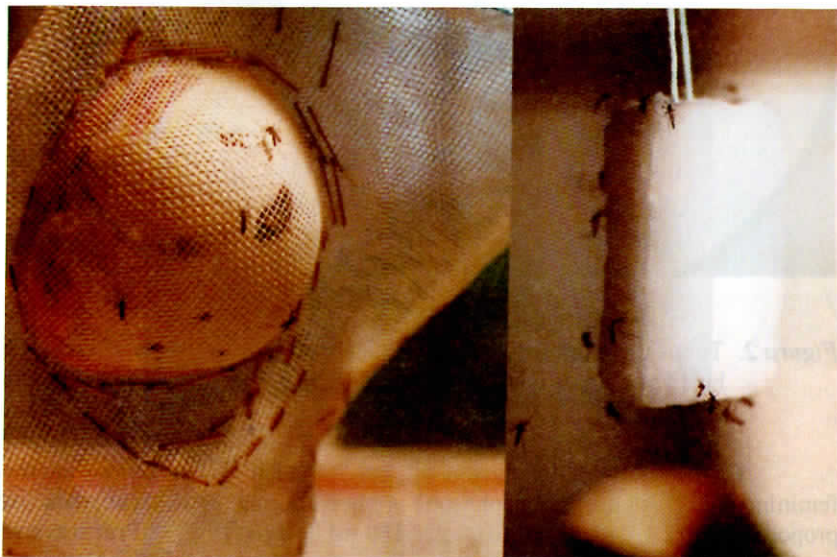


Figura 3. Alimentação de fêmeas de *Aedes aegypti* em camundongo, e de machos e fêmeas no absorvente o.b., embebido em água açucarada, presos na parte superior da gaiola de criação e acasalamento.

O teste de Qui-quadrado de heterogeneidade foi usado na determinação da sexagem.

## RESULTADOS

Das 11 amostras de ovos colocadas para incubar (Tabela 1) houve eclosão de larvas em todas elas, tendo o período de estocagem no laboratório interferido significativamente na incubação. Os períodos de estocagem de 3 e 121 dias foram os mais favoráveis à eclosão. A taxa de eclosão média diária

foi significativamente maior em ovos recém-ovipostos (no período de 3 dias), do que nos outros períodos, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Tabela 1. Taxa de eclosão de larvas de *Aedes aegypti*, a partir de ovos com diferentes períodos de estocagem.

Cartela	Estocagem (dias)	Total de ovos	Média eclosão diária	Eclosão (%)
01	03	8.007	86,1 ± 51,12a	85,4
02	32	6.698	5,3 ± 0,98b	41,1
03	63	5.786	6,4 ± 2,13b	36,0
04	91	7.938	12,1 ± 4,76c	47,7
05	121	6.749	13,2 ± 5,36c	97,2
06	154	6.600	1,6 ± 0,30d	1,3
07	273	4.612	8,6 ± 3,78bc	4,3
08	337	3.611	1,0 ± 0,00d	0,3
09	427	3.842	5,6 ± 0,25b	10,9
10	462	4.800	1,0 ± 0,00d	0,5
11	492	7.708	1,0 ± 0,00d	0,2

Obs.: As médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Pela análise da Tabela 2, constatou-se diferença significativa entre os ciclos, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%; pelo cálculo do coeficiente de determinação da incubação sobre o ciclo, pode-se afirmar que 99,79% da variação do ciclo foram preditas pela incubação. A sexagem foi equilibrada, mantendo-se sempre a razão de 1 para 1, em todos os ciclos estudados.

Tabela 2. Duração do ciclo evolutivo (dias) de *Aedes aegypti*, provenientes de ovos, após 121 dias de estocagem.

Nº de ciclos	Incub	Estádios Larvais				Pupa	ciclo evolutivo (dias)
		Larva-1	Larva-2	Larva-3	Larva-4		
1	0,9 a	2,4 a	0,9 ab	1,2 a	2,6 a	2,0 ab	9,9 a
2	3,3 b	1,7 bc	0,8 d	0,9 a	2,5 a	2,0 ab	11,0 b
3	6,0 c	1,2 d	0,8 ab	1,0 a	2,8 a	2,2 ab	14,0 c
4	32,5 d	1,6 bd	1,0 bc	1,0 a	2,5 a	2,3 a	41,0 d
5	33,0 d	1,7 bc	1,0 ab	1,0 a	2,9 a	2,1 b	41,7 d
6	33,0 d	1,7 bc	1,0 abc	1,0 a	2,9 a	2,2 ab	41,8 d
7	42,4 e	1,3 cd	0,9 ab	1,1 a	2,6 a	2,2 ab	50,5 e
8	53,2 f	1,2 d	1,4 d	1,0 a	2,8 a	2,1 ab	61,7 f
9	54,6 g	1,4 cd	0,9 ±ab	1,0 a	2,7 a	1,8 b	62,5 f
10	63,0 h	2,6 a	1,3 cd	1,1 a	2,4 a	1,9 ab	72,3 g
11	64,4 i	1,5 cd	1,1 --	1,1 a	2,4 a	1,9 ab	72,2 g
12	74,4 j	2,0 ab	1,0 ac	1,2 a	3,8 b	2,0 ab	84,0 i
13	79,5 k	2,6 a	1,1 ac	1,1 a	2,5 a	2,1 ab	88,9 i

Obs.: As médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não apresentam diferença significativa entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Incub.= Incubação

## DISCUSSÃO

A fertilidade dos ovos de *A. aegypti*, observada após o período de armazenamento, demonstrou que esses continuaram viáveis até 492 dias após a oviposição. Isso mostra uma adaptação muito importante desse mosquito para a dispersão passiva, pois essa circunstância possibilita o transporte desses ovos resistentes em qualquer tipo de artefatos, dá maiores perspectivas de vida ao *A. aegypti* e, ainda, viabiliza seu recrudescimento na mesma ou em outras localidades. Como exemplo, a comercialização de pneus usados que pode sinalizar como um mecanismo factível de dispersão. Esse fato torna imprescindível uma maior atenção da vigilância entomológica ou epidemiológica. Outro fato muito interessante, com relação à viabilidade dos ovos de *A. aegypti*, foi o de que a maior taxa de eclosão (97,2%) ocorreu no período de armazenamento de 4 meses. Esse comportamento tinha sido observado por Shannon & Putnam (1934) em períodos de até 180 dias.

O período de incubação variou entre 1 e 79,5 dias, com eclosões em bloco ou em grupos, definindo os ciclos evolutivos. Destes grupos emergiam populações com sexagem equilibrada para o acasalamento na razão aproximada de 1 para 1. Esse comportamento tinha sido observado por Silva et al. (1995), para a mesma espécie com ciclos idênticos. Houve apenas uma diferença no período de incubação, que variou de 1 a 53 dias.

A abertura de diferentes ciclos evolutivos do *A. aegypti*, provenientes de uma mesma cartela, evidencia um mecanismo que o mosquito utiliza para colocar na natureza de forma contínua, embora flutuante, diversas populações em diferentes períodos ou estações.

O desenvolvimento pós-embrionário do *A. aegypti*, nos ciclos estudados, variou de 7 a 10 dias. Este desenvolvimento foi muito similar aos dados encontrados por Shannon & Putnam (1934), Forattini (1965), que foram entre 6 e 8 dias; e em Silva et al. (1994a), Silva et al. (1995), esse desenvolvimento variou entre 10 e 11 dias.

Para se obter sucesso no desenvolvimento de *A. aegypti* em laboratório, com pouca ou nenhuma mortalidade, deve-se ter cuidado no manuseio de larvas de 1º estágio, esperar o mínimo de uma hora após a eclosão, ou, ainda, só manusear aquelas com o tegumento escuro, com a cápsula cefálica bem visível. Quando não se observam estas recomendações no manuseio de larvas de 1º estágio, a mortalidade pode atingir até 80%, como foi demonstrado em experiências pilotos. Com esses cuidados podem-se obter milhares de adultos por dia e, assim também, realizar vários bioensaios por dia.

Outro fator importante a ser observado para se ter sucesso na criação em alta escala de *A. aegypti* em laboratório é a umidade relativa do ar. Vários experimentos pilotos foram inviabilizados com umidade relativa inferior a 40%, condição em que ocorre alta mortalidade de larva. Talvez isto explique por que a densidade desse mosquito é baixa em nossa região (Centro-Oeste) nos meses de junho a setembro. A umidade relativa do ar funciona, nesse caso, como fator desfavorável, limitando o adensamento do mosquito.

No acompanhamento de todos os ciclos evolutivos, observou-se que as larvas comiam as exúvias, ficando apenas as cápsulas cefálicas. Este comportamento foi mais freqüente nas larvas de 3º e 4º estádios, sendo, neste último, a ingestão de aproximadamente 100%. De acordo com Snodgrass (1935), Chapman (1969) e Wigglesworth (1974), o tegumento dos insetos, principalmente os aquáticos, tem em sua camada externa uma cutícula composta de quitina, como elemento predominante, esclerotina, resilina e óxido de cálcio. Esses autores mostraram que, na fisiologia da muda ou ecdise, há reabsorção de quase todo o tegumento antes da ecdise e elimina-se apenas a epicutícula. Esta é perdida e renovada em cada fase do desenvolvimento (crescimento); desta forma, cada muda representa, ainda, uma perda de nitrogênio e óxido de cálcio e de outras substâncias contidas na exúvia. O hábito da ingestão de exúvias, principalmente em L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub>, talvez seja uma maneira rápida e mais fácil de reposição dessas substâncias, principalmente quando se trabalha com dietas artificiais. A criação em alta escala tem sido feita com sucesso com a ração utilizada para gatos, que talvez não seja ainda a ideal para L<sub>3</sub> e L<sub>4</sub>.

As fêmeas de *A. aegypti* apresentaram antropofilia acentuada; mesmo com um camundongo empastelado, como fonte sangüínea disponível dentro da gaiola, elas atacavam avidamente o braço quando este era introduzido na gaiola através do manguito. Para evitar o contato com as fêmeas sugere-se o uso de luvas de cano longo, semelhantes às usadas por veterinários. Observou-se que, eventualmente, também as fêmeas se alimentavam do fluido açucarado que era oferecido aos machos.

#### SUMMARY

Laboratory methods of cultivation and maintenance of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) adults and eggs

Due to the high demand of insects for biological studies and other uses, a temperature controlled biological chamber was built with the purpose of cultivating and keeping *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) adults and eggs. The chamber was regulated to  $28 \pm 1$  °C, humidity of  $80 \pm 5\%$ , and dark/light cycle of 12 hours. Data on larvae development and hatching, life cycle, gender and life span of males and females are presented.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*. Cultivation. Methodology. Biology. Culture.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chapman, R.F. Diapause. In: *The insects. Structure and function*. The English Universities Press Ltd, p.717-731, 1969.
2. Chippaux, A.; Deubel, V.; Moreau, J.P.; Reynes, J.M. Atual situação da febre amarela na América Latina. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 86:460-464, 1993.
3. Chungue, E.; Laudon, F.; Giaziou, P. Dengue and dengue haemorrhagic fever in French Polynesia. Current situation. *Trop. Med.*, 35:209-215, 1993.
4. Fernandes, F.F.; Silva, I.G.; Camargo, M.F.; Elias, C.N. Desempenho da deltametrina, em ultra-baixo-volume, na dosagem de 0,8g/Ha, no combate ao *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) em Goiânia, Goiás. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29: 61, 1996.
5. Fernandes, F.F.; Silva, I.G.; Camargo, M.F.; Elias, C.N. Eficácia da deltametrina em ultra-baixo-volume, na dosagem de 1,0g/Ha, no combate ao vetor da dengue e febre amarela urbana em Goiânia, Goiás. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 29: 62, 1996b.
6. Forattini, O.P. *Entomologia médica*. Vol. 2. São Paulo, EDUSP., 506 p, 1965.
7. Franco, O. *História da febre amarela no Brasil*. 1º ed. Rio de Janeiro. DNERu, 208 p, 1969.
8. Halstead, S.B. Global epidemiology of dengue: health systems in disarray. *Trop. Med* 35: 137-146, 1993.
9. Kitamura, T. A rapporteurs summary: research on dengue vaccine. *Trop. Med.*, 35: 325-330, 1993.
10. Khiem, H.B.; Ha, D.Q.; Huong, V.T.Q.; Loan, H.T.K. Some recent data on dengue epidemic in the South of Vietnam. *Trop. Med.*, 35: 185-187, 1993.

11. Khin, M.N.; Jirakanjanakit, N.; Yoksan, S.; Bhamarapravati, N. Infection, dissemination, transmission, and biological attributes of dengue-2 PDK53 candidate vaccine virus oral infection in *Aedes aegypti*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 51:864-869, 1994.
12. Macoris, M.L.G.; Camargo, M.F.; Silva, I.G.; Takaku, L.; Andrighetti, M.T. Modificação da suscetibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* ao temephós. *Rev. Pat. Trop.*, 24: 31-40, 1995.
13. Moreira, T.M.S.; Almeida, M.C.M. Índices de infestação predial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em Minas Gerais, 1993. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 363, 1994.
14. Okabe, N. Situation on dengue fever and dengue haemorrhagic fever in the Western Pacific Region. *Trop. Med.*, 35: 147-160, 1993.
15. Organização Mundial de Saúde. *Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle*. Genebra, 1987, 79 p.
16. Oya, A. Summarization of the Symposium. *Trop. Med.*, 35: 341-342, 1993.
17. Shannon, R.C. & Putnam, P. The biology of *Stegomyia* under laboratory conditions. I. The analysis of factors which influences larval development. *Proc. Ent. Soc. Wash.*, 36: 185-216, 1934.
18. Silva, H.H.G.; Silva, I.G.; Elias, C.N.; Lemos, S.P.S.; Rocha, A.P. Idade fisiológica de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae). *Rev. Pat. Trop.*, 24:269-273, 1995.
19. Silva, I.G. Aplicações espaciais do Cythion e K-Othrine na formulação de ultra-baixo volume, visando combater o *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus,1762) na cidade de Goiânia. *Rev. Pat. Trop* 23: 164, 1994.
20. Silva, I.G.; Araújo, E.S.O.; Silva, H.H.G.; Soares, A.W.; Cantuária, P.B. Ocorrência de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em Goiânia. *An. Soc. Ent. Brasil*, 20: 459-460, 1991.
21. Silva, I.G.; Camargo, M.F.; Elias, C.N.; Isac, E.; Santos, A.H. Metodologia de criação de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Rev. Goiana Med.*, 39: 23-26, 1994a.
22. Silva, I.G.; Camargo, M.F.; Guimarães, F.L.; Elias, M.; Oliveira, A.W.S. Estudo da eficácia da deltametrina (K-Othrine UBV 0,4% e 1%) no combate ao *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e ao *Culex quinquefasciatus* (Wiedmann, 1828) (Diptera, Culicidae). *Rev. Pat. Trop.*, 22: 49-56, 1993b.
23. Silva, I.G.; Camargo, M.F.; Silva, H.H.G.; Guimarães, F.L.; Elias, M.; Oliveira, A.W.S. Estudo da eficácia do Cythion no combate ao *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). *Rev. Goiana Med.*, 39: 13-16, 1994b.
24. Snodgrass, R.E. The organs of distribution, conservation, and elimination. In: *Principles of insect morphology*. New York, Mc Graw-Hill Book Co., p.381-421, 1935.
25. Soedarmo, S.P. The epidemiology, control and prevention of dengue haemorrhagic fever (DHF) in Indonésia. *Rev. Trop. Med.*, 35: 161-172, 1993.
26. Sucharit, S.; Rongsriyam, Y.; Deesin, V.; Komalamisra, N.; Apiwathnasorn, C.; Surathint, K. Biology of dengue vectors and their control in Thailand. *Trop. Med* 35: 253-257, 1993.
27. Wigglesworth, V.B. Growth. In: *Insect Physiology*. Tokyo, Toppan Co. Ltd., p.96-113, 1974.
28. Yasui, K. Strategies of dengue vaccine development by W.H.O. using new biotechnology. *Trop. Med.*, 35: 233-241, 1993.