

Call 1.200.00.3131  
R 13846147106  
16103106

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE SAÚDE COMUNITÁRIA**  
**MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL E DA MORTALIDADE**  
**DE LARVAS DE *Aedes aegypti* EXPOSTAS**  
**AO *Bacillus thuringiensis* VAR. *israelensis* E AO**  
**TEMEPHOS**

**ANA CLÁUDIA FERREIRA REGAZZI**

T614.591  
R8583  
A 3

**FORTALEZA**

**2003**



**ANA CLÁUDIA FERREIRA REGAZZI**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL E DA MORTALIDADE  
DE LARVAS DE *Aedes aegypti* EXPOSTAS  
AO *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* E AO  
TEMEPHOS**

*Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde Pública, Área de Concentração em Epidemiologia do Departamento de Saúde Comunitária da Universidade Federal do Ceará, para Obtenção de Título de Mestre em Saúde Pública.*

**ORIENTADOR: PROF.DR.RICARDO JOSÉ SOARES PONTES**

**CO-ORIENTADOR: PROF.DR.JOSÉ WELLINGTON DE O. LIMA**

**Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (Processo 521162/98-0) e Fundação Cearense de Apoio Científico e Tecnológico- FUNCAP (Processo 164/01)**

13846597  
18/01/06

R258a Regazzi, Ana Cláudia Ferreira  
Avaliação do efeito residual e da mortalidade de larvas de *Aedes Aegypti* expostos ao *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e ao Temephos / Ana Cláudia Ferreira Regazzi. – Fortaleza, 2003  
147f. : il.  
Orientador: Prof. Dr. Ricardo José Soares Pontes  
Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Curso de Mestrado em Saúde Pública.  
1. Dengue. 2. Larvicida. 3.Efeito residual.  
4. Controle vetorial I.Título  
CDD 614.571

**ANA CLÁUDIA FERREIRA REGAZZI**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL E DA MORTALIDADE  
DE LARVAS DE *Aedes Aegypti* EXPOSTAS  
AO *Bacillus thuringiensis* VAR. *israelensis* E AO  
TEMEPHOS**

Datada defesa: 07/05/2003

**BANCA EXAMINADORA**



---

**Prof. Dr. Ricardo José Soares Pontes**  
Orientador

---

**Prof. Dr. José Wellington de Oliveira Lima**  
1º Membro

---

**Prof. Dr. Almério de Castro Gomes**  
2º Membro

---

**Prof. Dr. Eddie Willian Santana de Pinho**  
3º Membro

*“Dai-me Senhor, a perseverança das ondas do mar que fazem de cada recuo um ponto de partida para um novo avanço”.*

*Gabriela Mistral*

## DEDICATÓRIA

*Dedico esta Dissertação a todos de minha família, em especial aos meus pais, minha irmã e meu marido que sempre me deram muita força e luz.*



## AGRADECIMENTOS

- A Deus, que com sua imensa sabedoria e amor nos guia no universo de forças biológicas, físicas e metafísicas, iluminando nossa caminhada.
- Quero deixar registrado, em primeiro lugar, que todos que comigo compartilharam neste trabalho, foram e são muito importantes para mim agora e sempre, pois muito contribuíram para o êxito desta pesquisa.
- A minha querida mãe e amiga Livia Fernandes Ferreira Regazzi, que sempre me apoiou, em todos os momentos, com sua fortaleza, sabedoria, dedicação e amor.
- Ao meu pai Paulo Roberto Regazzi, pelo incentivo e força, prestados nesta caminhada.
- A minha irmã e amiga Ana Lígia Ferreira Regazzi, pela compreensão, incentivo e carinho neste longo e árduo percurso.
- Ao meu marido e amigo Luiz Fernando Barbosa do Amaral, pela ajuda, paciência e incentivo, mesmo nos momentos mais difíceis. Obrigada pela sua dedicação e sobretudo pelo seu amor.
- Ao meu orientador Dr. Ricardo José Soares Pontes, pelo seu conhecimento científico, tranquilidade, atenção e dedicação, estando sempre presente mesmo nos momentos mais difíceis.

- Ao Dr. José Wellington de Oliveira Lima, por sua amizade, capacidade, profissionalismo e também por todo incentivo e apoio neste percurso difícil, mostrando que a vida é cheia de avanços e retrocessos, mas que vale a pena, basta acreditar. Obrigada por tudo.
- Ao Dr. Almério de Castro Gomes, mestre ilustre que muito admiro pela competência e sabedoria.
- Ao Dr. Eddie Willian Santana de Pinho, pelo estímulo, atenção e ajuda nos momentos necessários.
- A Dr<sup>a</sup> Lígia Regina Sansigolo Kerr Pontes, pela sua inestimável colaboração nesta pesquisa.
- Aos amigos da FUNASA/DIVEP/ASCOM, com quem dividi anseios e preocupações, nas horas difíceis desta jornada.
- Aos amigos do Departamento de Saúde Comunitária da U.F.C, pelo apoio, atenção e, sobretudo paciência na construção desta obra.
- Aos amigos do Laboratório de Entomologia da FUNASA, CETRAV/SESA e U.F.C que muito me ajudaram nesta jornada, tornando o caminho mais fácil, mais ameno, menos espinhoso e muitas vezes, prazeroso.
- As instituições financiadoras FUNCAP e CNPq que tornaram possível a realização desta pesquisa. A todos meu muitíssimo obrigado.



## SUMÁRIO

### RESUMO

### ABSTRACT

### PARTE I

1. INTRODUÇÃO	PÁGINA
1.1 Dengue .....	1
1.2 Dengue no Mundo .....	2
1.3 Dengue no Brasil .....	3
1.4 Dengue no Ceará .....	5
1.5 Febre Amarela .....	7
1.6 Vetor .....	9
1.7 <i>Aedes aegypti</i> .....	10
1.8 Biologia e Ciclo de Vida .....	10
1.9 Distribuição Geográfica .....	13
1.10 Combate ao <i>Aedes aegypti</i> no Brasil .....	14
1.11 Controle .....	15
1.12 Controle Químico .....	16
1.13 Organofosforados .....	19
1.14 Temephos .....	20
1.15 Controle Biológico .....	23
1.16 <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> .....	28
1.17 Justificativa .....	46

## 2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral .....	49
2.2 Objetivos Específicos .....	49

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

## PÁGINA

3.1 Modelo de Estudo e Infra-Estrutura Laboratorial .....	50
3.2 Procedimentos para Reprodução de Larvas em Laboratório .....	50
3.3 Apresentações Comerciais dos Larvicidas .....	52
3.4 Etapa 1: Avaliação do Efeito Residual de 2 apresentações comerciais do Temephos em Recipientes com Renovação de Água	53
3.5 Etapa 2: Avaliação Comparativa do Efeito Residual de ..... uma Apresentação Comercial do Temephos com uma Apresentação Comercial do <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> (Bti) em Recipientes com Renovação de Água	54
3.6 Etapa 3: Avaliação Comparativa do Efeito Residual .....	56
3 Apresentações Comerciais do Temephos e de 2 Apresentações Comerciais do <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> em Recipientes com Renovação de Água	
3.7 Esquema Para a Realização dos Testes em Laboratório .....	58

## 4. RESULTADOS

4.1 Etapa 1: Avaliação Comparativa do Efeito Residual .....61  
de duas Apresentações Comerciais do Temephos (A e B)  
em Recipientes com Renovação de Água

4.2 Etapa 2: Avaliação Comparativa do Efeito Residual .....69  
de uma Apresentação Comercial do Temephos (A)  
com uma Apresentação Comercial do *Bacillus Thuringiensis Israelensis*  
(D) em Recipientes com Renovação de Água

4.3 Etapa 3: Avaliação Comparativa do Efeito Residual .....83  
de Três Apresentações Comerciais do Temephos (A, B e C)  
e de Duas Apresentações Comerciais do  
*Bacillus Thuringiensis Israelensis*(D e E) em Recipientes  
com Renovação de Água

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES .....120

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....132

## ANEXOS

### PARTE II

#### ARTIGO I

#### ARTIGO II

## SUMÁRIO

### LISTA DE TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

**Tabela 1:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 2:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 3:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 4:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial B (Temephos) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 5:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 6:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 7:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 8:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 9:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo de exposição

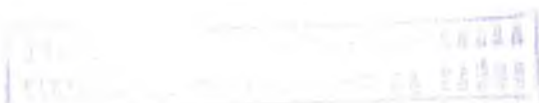
**Tabela 10:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 11:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 12:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 13:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 14:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial B (Temephos) segundo categorias de mortalidade



**Tabela 15:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial C (Temephos) em relação ao tempo de exposição

**Tabela 16:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial C (Temephos) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 17:** Distribuição da mortalidade média (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em relação ao tempo de exposição

**Tabela 18:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*), segundo categorias de mortalidade

**Tabela 19:** Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em relação ao tempo de exposição.

**Tabela 20:** Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

**Tabela 21:** Distribuição da mortalidade de larvas (%) de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E, em relação ao tempo

**Tabela 22:** Distribuição da mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E em períodos selecionados de tempo

**Tabela 23:** Distribuição do Risco Relativo (RR) das apresentações comerciais B, C, e E em relação à apresentação comercial A segundo alguns períodos selecionados de exposição

**Tabela 24:** Distribuição do Risco Relativo (RR) das apresentações comerciais B, C e E em relação à apresentação comercial D segundo alguns períodos selecionados de exposição

**Tabela 25:** Razões de chance (odds ratio) de mortalidade de larvas das apresentações comerciais de melhor desempenho (B, C e E) em relação à de pior desempenho (A) em 102 dias de exposição

**Tabela 26:** Razões de chance (odds ratio) de mortalidade de larvas das apresentações comerciais de melhor desempenho (B, C e E) em relação à de pior desempenho (D) em 102 dias de exposição

**Gráfico 1:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 2:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 3:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Gráfico 4:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 5:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Gráfico 6:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) e D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Gráfico 7:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 8:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 9:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial C (Temephos) em relação ao tempo

**Gráfico 10:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Gráfico 11:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Gráfico 12:** Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D, E, em relação ao tempo

**Gráfico 13:** Curvas teóricas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E durante todo o período de exposição (102 dias)



**Gráfico 14:** Curvas teóricas (individualizadas) de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a cada apresentação comercial em relação ao tempo de exposição.

#### ETAPA 1

### AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS (A e B) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

#### ANEXO 1

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

#### ANEXO2

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos).

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

## ETAPA 2

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO TEMEPHOS (A) COM UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* (D) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

### ANEXO 3

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

### ANEXO 4

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*).

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

### ANEXO 5

## ETAPA 3

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE TRÊS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS (A, B, C) E DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* (D e E) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

#### **ANEXO 6**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos).

#### **ANEXO 7**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial C (Temephos).

#### **ANEXO 8**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

#### **ANEXO 9**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais: A, B, C (Temephos) e D, E (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

## RESUMO

Quando o *Aedes aegypti* foi detectado em Fortaleza/Ceará (1986), o programa de controle vetorial vinha utilizando um larvicida químico do grupo dos organofosforados, denominado Temephos. Durante o ano de 1999, a apresentação comercial do produto então em uso (Abate G) foi substituída por outra apresentação comercial do mesmo larvicida (Larvell G). Após a substituição do produto, a percepção empírica das equipes que atuavam nas atividades de campo do programa de controle era de que o efeito residual desta segunda apresentação comercial seria inferior em relação àquela utilizada anteriormente. Esta questão, suscitada no trabalho de campo, indicou a necessidade de avaliar-se comparativamente as duas apresentações do Temephos, correspondendo desta forma a etapa 1 deste estudo. Em 2000, a gerência nacional do Programa de Controle decidiu introduzir um larvicida biológico – o *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) em substituição ao Temephos, em virtude da possível presença de populações resistentes a esta última substância química. Como se tratava de um novo produto (o Bti), não se sabia se sua efetividade seria superior à do produto tradicionalmente utilizado, no caso o Temephos. Iniciamos então um estudo para avaliar comparativamente o efeito residual de uma apresentação comercial do Temephos (Abate G) com uma apresentação comercial do Bti (Vectobac G) sobre larvas de *Aedes aegypti*, correspondendo a etapa 2 do estudo. Supõe-se, com base em evidências da literatura, que o efeito residual do Temephos seria em torno de 90 dias, em depósitos sem renovação de água. Entretanto, essa avaliação de efetividade não tem sido realizada de maneira sistemática em nossa realidade, nem se conhece o efeito residual de larvicidas em depósitos com renovação constante de água. Estudos anteriores sobre o efeito residual de apresentações comerciais do Temephos e do Bti, mostraram diferenças no desempenho de alguns larvicidas testados. Resolvemos então comparar todos os larvicidas em uso recente e atual no Programa de Controle em Fortaleza, em 2002, correspondendo desta forma a etapa 3 do estudo. Em todas as etapas, os experimentos foram realizados em laboratório. Nos depósitos de vidro (beckers) utilizados como testes introduzimos no 1º dia do experimento dosagem dos larvicidas de acordo com o indicado pelo Programa de Controle. Nos demais depósitos que serviram de controles, não foram introduzidos os larvicidas. A cada dia, eram colocadas larvas de 3º estágio nos beckers. Após, os depósitos eram esvaziados por meio de mangueiras plásticas permanecendo um volume residual de acordo com o experimento. As leituras dos testes eram de 24 horas, através da contagem do número de larvas mortas, indicador do efeito residual dos larvicidas. O tempo de observação dos experimentos variou de 29 a 102 dias. Os resultados mostraram diferenças importantes no efeito residual dos larvicidas utilizados no Programa de Controle, principalmente entre os pertencentes ao mesmo grupo químico (Temephos). Uma das apresentações comerciais (A) mostrou um desempenho inferior a todas as demais, não condizendo com o descrito na literatura. Outra formulação de Temephos obteve um desempenho muito superior aos 90 dias de experimento, próximo ao descrito na literatura. Quanto ao Bti, observou-se pouca persistência de seu efeito residual, destacando a apresentação comercial E como a de melhor desempenho.

## ABSTRACT

When the *Aedes aegypti* was detected in Fortaleza/Ceará (1986), the vectorial's control program had been using a quimical larvicide from organofosforado's group, entitled Temephos. During the year of 1999, the commercial presentation of the product used by then (Abate G) was replaced by other commercial presentation of the same larvicide (Larvell G). After the replacement of the product, the empirical perception of the teams that acted in activities of field of control's program was that the residual effect of this second commercial presentation would be inferior related to that used formerly. This question, originated from field's work, pointed the need to assess comparatively the two presentations of Temephos, corresponding thus the stage 1 of this study. In 2000, the national management of Control's Program decided to introduce a biological larvicide- the *Bacillus thuringiensis var israelensis* (the Bti) replacing Temephos, due the possible presence of populations resistant to this last quimical substance. As it was a new product (the Bti), it didn't know if its effectivity would be superior to the product traditionally used, in this case the Temephos. We began then a study to assess comparatively the residual effect of a commercial presentation of Temephos (AbateG) with a commercial presentation of Bti (Vectobac G) about *Aedes aegypti*'s larvae, corresponding to the stage 2 of the study. It supposes, based upon literature's evidence, that the residual effect of the Temephos would be around 90 days, in containers without renewal of water. Although, this evaluation of effectiveness doesn't occur in a systematic way in our reality, nor it is known the residual effect of larvicides in containers with constant renewal of water. Former studies about the residual effects of commercial presentations of Temephos and Bti, show differences in the development of some larvicides tested. We decide so to compare all the larvicides in recent and actual use in Control's program of Fortaleza, in 2002, corresponding this way to the stage 3 of the study. In all stages, the experiments took place in laboratory. In glass containers (beckers) used as test we introduce in the first day of experiment dosage of larvicides according to the indicated by the Control's Program. In the others containers that served of controllers, it didn't introduce larvicides. Every day, it put larvae from the third stage in the beakers. After, The containers get empty by plastic hoses keeping a residual volume according to the experiment. The test's reading was of 24 hours, through the counting of number of dead larvae, indicator of residual effect of larvicides. The observation's time ranged of 29 to 102 days. The results shown important differences in residual effect of larvicides used in Control's Program, mainly among the ones belonged to the same quimical group (Temephos). One of the commercial presentations (A) showed a development inferior to the others ones, didn't match with the literature. Other Temephos formulation got a development much superior to the 90 days of experiment, next to the described in the literature. Regarding the Bti, it observed few persistence of its residual effect, underlying the commercial presentation E as the best.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 DENGUE

O Dengue é uma doença febril aguda transmitida por vetor, endêmica em mais de 100 países, na África, Américas, Mediterrâneo Leste, Sudeste Asiático e Pacífico Oeste. No Brasil, vem apresentando elevada incidência nos últimos 15 anos, com ocorrência de grandes epidemias <sup>1</sup>. O isolamento do vírus só ocorreu na década de 40 por Kimura (1943) e Hotta (1944). Esta cepa recebeu a denominação de Mochizuki. Em 1945, Sabin e Schlesinger isolaram a cepa Havaí – sorotipo 1. No mesmo ano, Sabin, identificou outro vírus em Nova Guiné – o sorotipo 2. Com a descoberta deste novo sorotipo, Sabin observou que as cepas tinham características antigênicas diferentes e considerou que eram sorotipos do mesmo vírus. Em 1956, foram isolados os vírus 3 e 4. Definiu-se, a partir deste momento, que o complexo Dengue é formado por quatro sorotipos: Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4 <sup>2</sup>. Este arbovírus pertence à família *Flaviviridae*. Sua evolução é benigna na forma clássica (Dengue Clássico) e grave na sua forma hemorrágica (Síndrome de Choque/Febre Hemorrágica do Dengue). Quanto aos aspectos clínicos, no primeiro caso, as manifestações são variáveis, sendo as mais comuns: febre alta (39° a 40°) de início súbito, seguido de cefaléia, mialgia, prostração, artralgia, anorexia, astenia, dor retroorbital, náuseas, vômitos, exantema, prurido cutâneo. Na Síndrome de Choque/Febre Hemorrágica do Dengue (FHD), os sintomas de início são bem

semelhantes ao Dengue Clássico, mas evoluem de forma rápida para a Síndrome de Choque e/ou manifestações hemorrágicas <sup>1</sup>.

Em se tratando de imunidade relacionada a esta doença, não existe imunidade cruzada, ou seja, a infecção causada por um dos sorotipos só vai conferir uma imunidade permanente ou duradoura para aquele sorotipo. Existe a possibilidade de haver uma imunidade cruzada transitória e de curta duração entre os sorotipos <sup>3</sup>.

Quanto à transmissão do vírus do Dengue, vários mosquitos podem servir de transmissores, porém no Brasil as espécies de maior importância são o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*. Este último é considerado um dos principais transmissores no continente asiático. A transmissão da doença ocorre através da picada da fêmea da espécie vetora e para isso ela necessita picar um indivíduo que esteja infectado, durante a fase virêmica da doença. Passado um período de 10 a 14 dias, a fêmea torna-se capaz de transmitir o vírus durante toda a sua vida adulta <sup>4</sup>.

## 1.2 DENGUE NO MUNDO

Os primeiros relatos históricos sobre o Dengue foram mencionados na Ilha de Java, em 1779. Também na Filadélfia, nos Estados Unidos, em 1780, ocorreram os primeiros surtos da doença. Alguns autores citam que a primeira epidemia de Dengue ocorreu em 1784, nas cidades de Cádiz e Sevilha, na Europa. Outros autores citam que a primeira epidemia de Dengue ocorreu em Cuba no ano de 1782. Já no século XIX, existem referências de três epidemias envolvendo o Caribe e a Austrália. No século XX, ocorreram várias epidemias na Austrália, Panamá, África do



Sul, África Oriental e Grécia. As primeiras epidemias de Síndrome de Choque/Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) começaram a ser registradas após a Segunda Guerra Mundial no Sudeste Asiático. Os primeiros relatos foram nas Filipinas, Tailândia, Vietnã do Sul, Singapura, Malásia, Indonésia, Birmânia, onde foram isolados os sorotipos 2, 3 e 4. Na Índia, houve circulação dos sorotipos 2 e 4, na Oceania, os sorotipos 1, 2 e 3 e nas Ilhas de Seychelles no Oceano Índico, o sorotipo 2<sup>5</sup>.

O Dengue tem sido relatado há mais de 200 anos nas Américas e a primeira grande epidemia comprovada laboratorialmente ocorreu na região do Caribe e na Venezuela em 1963/64 e foi associada ao sorotipo Den-3<sup>5</sup>.

Na epidemiologia da doença nas Américas, podemos considerar como aspecto de grande relevância, a ocorrência da primeira epidemia de dengue hemorrágico em Cuba, em 1981. De 1945 até 1977, este país esteve livre da doença quando então foi atingida por uma pandemia que ocorreu nas Antilhas, com a introdução do sorotipo 1. O surgimento de grandes epidemias de Dengue nas Américas, sugere que a doença esteja evoluindo nessa região com a circulação simultânea de vários sorotipos, ocorrência endemo-epidêmica do dengue clássico em um número crescente de países, intensificação da infestação por *Aedes aegypti* nos centros urbanos e surgimento das primeiras epidemias de DH/SCD. Estas circunstâncias também foram verificadas na Ásia a partir da década de 50<sup>6</sup>.

### 1.3 DENGUE NO BRASIL

Desde 1846, existem evidências que apontam epidemias de Dengue no



Brasil, nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro. As primeiras referências na literatura de casos de Dengue no século XX ocorreram em 1916 em São Paulo e 1923 em Niterói/RJ. A primeira grande epidemia da doença com confirmação laboratorial data de 1982 em Boa Vista/Roraima. Nesta epidemia foram isolados os sorotipos: Den-1 e Den-4. Em 1987 foi identificado o sorotipo Den-1 na cidade de Nova Iguaçu no Rio de Janeiro. Neste mesmo ano foram registrados casos de Dengue no Estado do Ceará com uma taxa de incidência de 138,1 por 100 mil habitantes. Ainda neste período, ocorreram epidemias da doença em Pernambuco, e também nos estados de São Paulo, Bahia e Minas Gerais. Em 1990, houve um recrudescimento da doença em consequência do aumento da circulação do sorotipo Den-1 e introdução do sorotipo Den-2 na cidade do Rio de Janeiro. Nesta época, surgiram os primeiros casos de Síndrome de Choque/Dengue Hemorrágico no Brasil<sup>2</sup>.

De 1990 a 2000, foram registradas várias epidemias, principalmente em grandes cidades das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. Na segunda metade da década de 90, as regiões Centro-Oeste e Norte, foram também acometidas pela doença com ocorrência de epidemias. Isto se deu pelo fato do mosquito *Aedes aegypti* ter se dispersado no território brasileiro, e também pela disseminação dos sorotipos Den-1 e Den-2 para 20 dos 27 estados do Brasil<sup>7</sup>.

Em 1994 ocorreram grandes epidemias da doença em alguns estados do Brasil, como no Estado do Ceará e no Rio de Janeiro. Neste último, em um estudo realizado por Cunha e cols., na cidade de Paracambi<sup>8</sup> registrou-se através de um inquérito soropidemiológico em escolares uma positividade de 39,2% e em um estudo anterior (1990), detectou-se a presença dos sorotipos Den-1 e Den-2,

mostrando uma circulação simultânea dos dois vírus na região.<sup>9</sup>

Em 2002, observou-se a maior incidência da doença, onde foram registrados mais de 700 mil casos. A circulação do vírus Den-3 foi identificada pela primeira vez em dezembro de 2000, no Rio de Janeiro. Em seguida, no Estado de Roraima em novembro de 2001 e nos primeiros meses do ano de 2002, o sorotipo Den-3, foi detectado em quase todo o território nacional<sup>7</sup>.

#### 1.4 DENGUE NO CEARÁ

No Ceará, a primeira epidemia de Dengue data de 1986, com notificações de 26.786 casos. Estes casos predominaram em municípios do interior do estado. Os municípios mais afetados foram: Pacajus, Itapipoca e Caucaia. Ainda neste ano, o vetor da doença, o mosquito *Aedes aegypti*, já estava presente em 20 municípios. Em 1987, ele disseminou-se para 82 cidades do interior do estado<sup>10</sup>.

Em 1994, ocorreu uma epidemia de grandes proporções, com notificação de 47.221 casos. Foram registrados 185 casos suspeitos de Síndrome de Choque/ Febre Hemorrágica do Dengue, com a confirmação de 25 casos, incluindo 12 óbitos<sup>5</sup>.

Neste mesmo ano, um inquérito soropidemiológico randomizado foi realizado em Fortaleza por Vasconcelos et.al.,<sup>9</sup> para determinar a prevalência da doença e a frequência dos sintomas. Das 1341 amostras coletadas, 44% foram positivas para Dengue. Os principais sintomas foram: febre, dor ocular, prurido, tontura, artralgia e gengivorragia.

Também em Fortaleza, um estudo realizado por Campos e cols.,<sup>11</sup> mostrou que a doença vem apresentando sucessivas epidemias de 1986 a 1997 (1986, 1990/1991, 1994), intercaladas por períodos de baixa incidência e que de 1998 a 2000 observou-se que os coeficientes de incidência da doença vem crescendo em anos sucessivos (1998, 1999 e 2000).

No ano de 2001, foram confirmados 28.751 casos de Dengue, correspondentes à incidência de 399,31 casos por cada 100.000 habitantes, com transmissão da doença em 132 (71,73%) municípios. Neste Estado, ocorreu circulação simultânea dos sorotipos Den 1 e Den 2<sup>12</sup>.

E estudo realizado por Timbó e cols.,<sup>13</sup> sobre o perfil clínico-epidemiológico da doença no estado mostrou que do início de 2001 até novembro, dos 27.927 casos de Dengue Clássico, 78 foram do tipo Hemorrágico (FHD/SCD), com 8 casos evoluindo para o óbito e a letalidade foi de 10,2%. Outros dados de grande importância neste trabalho foram quanto à faixa etária mais atingida (35 a 64 anos), correspondendo a 51,2%, o sexo mais atingido foi o feminino (56,4%) e os principais sintomas foram febre (88,5%), cefaléia (80,8%), mialgia (73,1%), dor abdominal (33,3%), petéquias (42,3%), gengivorragia (17,9%) e epistaxe (16,7%).

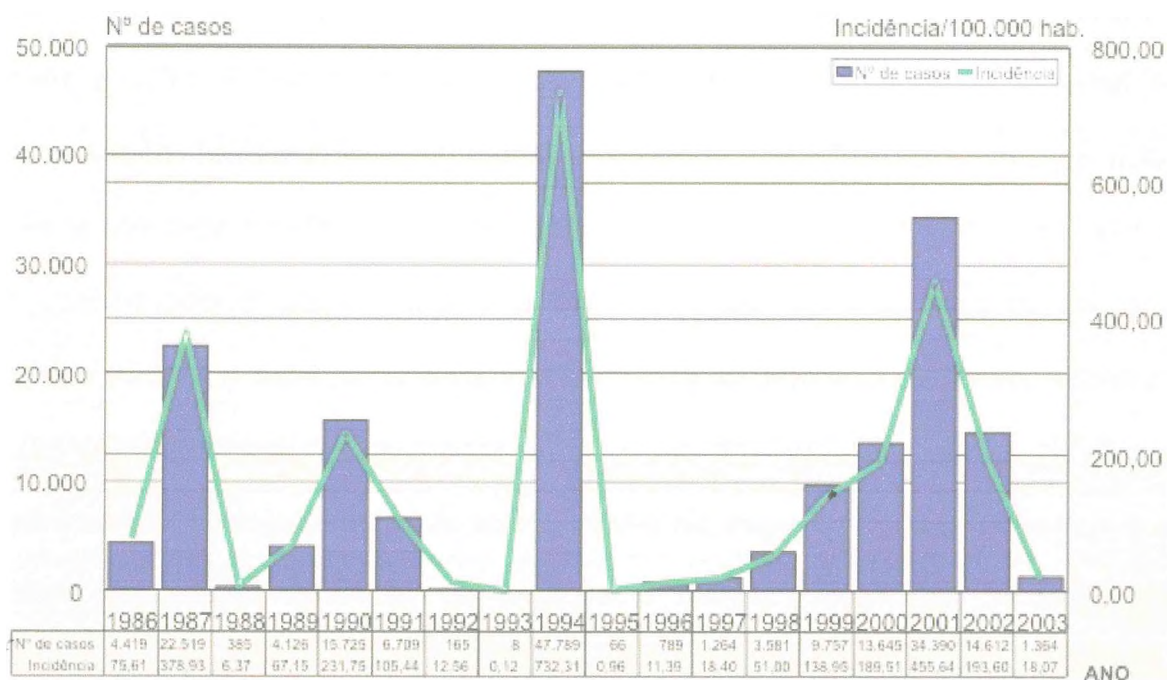
No ano de 2002, a Secretaria de Saúde do Estado (SESA) confirmou 8.578 casos de Dengue que correspondem à incidência de 227,30 casos por 100.000 habitantes. Dos 8.578 casos confirmados no Estado, 1.887 (22%) foram procedentes de Fortaleza e 6.691 (78%) do interior. Neste Estado, já houve a introdução recente do vírus Den 3, aumentando assim o risco de epidemias<sup>12</sup>.

Até fevereiro de 2003 foram notificados 2.779 casos suspeitos de Dengue, sendo que 1.364 casos foram confirmados laboratorialmente, dos quais 142 (10,5%)

são de Fortaleza e 1.222 (89,5%) procedentes de 80 municípios do interior. Em relação ao Dengue hemorrágico, já foram confirmados 16 casos no Estado <sup>12</sup>.

A seguir, no Gráfico 1, encontram-se o número de casos e a incidência da doença no Estado do Ceará no período de 1986 a 2002.

**Gráfico 1: Número de casos e incidência de Dengue, no Ceará, de 1986 a 2002\***



Fonte: Secretaria da Saúde do Estado do Ceará/Núcleo de Epidemiologia

\* Dados até 21/02/2003

## 1.5 FEBRE AMARELA

Inicialmente, a Febre Amarela era denominada *Thipho* Icteroide, *Thipho* Amarel, Mal de São, Vômito Negro e Febre das Antilhas. Esta doença ocorre no

Brasil desde o século XVII e foi descrita pela primeira vez em 1694, no Tratado Único da Constituição Pestilencial de Pernambuco, por João Ferreira da Rosa<sup>14</sup>.

A Febre Amarela é uma doença febril aguda de curta duração (no máximo 12 dias) e sua gravidade é variável. O agente etiológico é um arbovírus do gênero *Flavivirus*. A forma grave da doença é caracterizada clinicamente por manifestações de insuficiência hepática e renal, que podem levar o indivíduo à morte. Epidemiologicamente apresenta-se sob duas formas distintas: a Febre Amarela Silvestre e a Febre Amarela Urbana. As duas formas são semelhantes do ponto de vista etiológico, fisiopatológico, imunológico e clínico. As diferenças entre as duas formas se dá pela localização geográfica, espécie vetorial e o tipo de hospedeiro. Esta doença ocorre acidentalmente através da penetração do homem no ciclo enzoótico natural e representa uma séria ameaça às populações rurais. Também representa um permanente risco para a introdução do vírus nas grandes cidades e outras localidades infestadas pelo mosquito *Aedes aegypti*. O vírus amarílico é o protótipo do gênero *Flavivirus* pertencente à família *Flaviviridae*. A forma de transmissão da Febre Amarela Urbana se dá através da introdução do vírus no ciclo pelo homem no período de viremia. Ao ser picado pelo mosquito *Aedes aegypti*, o vetor torna-se infectado e passa pelo período de incubação extrínseca, transmitindo assim o vírus a outras pessoas susceptíveis, dando início ao ciclo de transmissão: homem – *Aedes aegypti* – homem<sup>15</sup>.

Em 1901, Oswaldo Cruz deu início a primeira campanha contra a Febre Amarela, onde adotou-se medidas específicas sobre o *Aedes aegypti*. Oito anos depois, em 1909, a Febre Amarela foi eliminada da capital federal (Rio de Janeiro)<sup>16</sup>.

Nos anos de 1928/29, uma nova epidemia no Rio de Janeiro foi enfrentada sob a liderança de Clementino Fraga. A partir de 1937, iniciou-se a produção da vacina antiamarílica pelo instituto Oswaldo Cruz. Em 1940, foi organizado o Serviço Nacional de Febre Amarela, onde foram executadas estratégias nacionais de combate ao vetor urbano, e o *Aedes aegypti* foi erradicado do território brasileiro em 1955. O país foi declarado então, pela OMS/OPAS, livre deste mosquito <sup>17</sup>.

Em áreas silvestres, os transmissores são os mosquitos do gênero *Haemagogus* e do gênero *Sabethes*. Estes são importantes transmissores na América Latina. Na África, os vetores são mosquitos do gênero *Aedes*. Nas áreas urbanas, o mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor em ambos os continentes (África Oriental e África Ocidental) <sup>15</sup>.

## 1.6 VETOR

Os principais vetores envolvidos na transmissão do Dengue são o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Diptera: *Culicidae*). Nesta família *Culicidae* se encontram os mosquitos e pernilongos que são sugadores de sangue, onde se destacam as espécies dos gêneros *Aedes*, já mencionadas, *Culex* onde algumas espécies são transmissoras da Filariose ou Elefantíase e as do gênero *Anopheles*, transmissores da Malária. No gênero *Aedes*, encontramos o mosquito *Aedes aegypti*, que além de ser um vetor do Dengue nas Américas, é também responsável pela transmissão da Febre Amarela Urbana no Brasil <sup>18</sup>. Em se tratando do *Aedes albopictus*, este mosquito também está incriminado na transmissão da doença na Ásia, uma vez que sua susceptibilidade ao vírus amarílico já foi comprovada

laboratorialmente. Outro fato de extrema importância aconteceu em 1979, onde foi comprovada a transmissão vírica do vírus no mosquito <sup>19</sup>.

Outro importante aspecto com relação aos vetores desta doença foi detectado por alguns autores como Rosen e cols <sup>20</sup>., sobre a transmissão transovariana. Foi observada uma alta taxa de infecção do vírus tipo 1 em *Aedes albopictus* e uma baixa taxa do vírus tipo 3. Em *Aedes aegypti* a transmissão transovariana foi observada com o sorotipo 1.

## 1.7 AEDES AEGYPTI

## 1.8 BIOLOGIA E CICLO DE VIDA

O *Aedes aegypti* apresenta duas fases evolutivas. Uma fase larvária (aquática) e uma fase adulta (alada ou aérea). É uma espécie holometabólica (metamorfose completa) que passa por quatro estádios distintos: ovo, larva (com quatro instares), pupa (última fase aquática) e adulto. As fases de ovo, larva e pupa desenvolvem-se em águas paradas e limpas. A proliferação deste mosquito é sinantrópica nas cidades e vilas onde existam alterações antrópicas do meio ambiente, favorecendo a procriação em ambientes artificiais, como pneus, latas, garrafas, floreiras que acumulam água da chuva etc. É comum invadir caixas d'água, cisternas mal vedadas, piscinas, aquários mal cuidados, lagos artificiais e até mesmo vasos com água em residências ou cemitérios <sup>21</sup>.

Em cemitérios, um estudo realizado no município de Fortaleza, detectou a presença de formas imaturas (larvas e pupas) do *Aedes aegypti* em ocas e/ou

bifurcações de árvores como criadouros. Segundo os autores, este mosquito mostrou uma grande capacidade de adaptação a este tipo de criadouro e que em termos de controle estes devem ser considerados para tratamento ou até mesmo eliminação <sup>22</sup>.

Bezerra (1999) <sup>23</sup> mostrou que a maior prevalência dos depósitos é no intradomicílio e que os principais criadouros são os de alvenaria, concreto e amianto. Com relação ao volume dos depósitos, a água ser límpida e o diâmetro da boca menor que o diâmetro do corpo são fatores de risco para infestação dos depósitos pelo *Aedes aegypti*.

Na biologia deste mosquito, o ovo representa uma das fases do ciclo vital. Na espécie *Aedes aegypti* a formação do embrião se inicia dentro da fêmea e se completa no ambiente externo. Porém, não é em qualquer lugar que a oviposição ocorre. A biologia do ovo determina escolha de locais com umidade e temperatura adequadas. Estudos como o de Silva (1996), <sup>24</sup> demonstraram que a fêmea deposita seus ovos não diretamente sobre a água, mas na parte úmida logo acima do nível da água, daí ser necessário um suporte sólido para a sua fixação e contato prolongado do ovo com a umidade deste suporte. Segundo Bond e Fay <sup>25</sup> a fêmea de *Aedes aegypti* ovipõe preferencialmente em depósitos de coloração escura e com maior volume de água. A água de sua preferência deve ser limpa, ou seja, pobre em matéria orgânica em decomposição <sup>26</sup>.

A temperatura também é um fator importante para a presença do *Aedes aegypti* e para o seu ciclo de desenvolvimento. Um estudo recente sobre a influência de fatores climáticos e da sobreposição da distribuição das populações de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* realizado por Glasser e Gomes <sup>27</sup> (2002), mostrou que



quanto menor a temperatura mais lento é o processo de expansão geográfica da população de *Aedes aegypti*. Outro aspecto percebido pelos autores foi à influência dos índices pluviométricos nos padrões de expansão geográfica também na população de *Aedes aegypti*. Neste estudo não verificou-se influência da presença anterior de *Aedes albopictus* para estabelecimento de *Aedes aegypti*.

Gomes e cols <sup>28</sup>., em um estudo realizado em São Paulo, observaram a distribuição espacial de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* com relação ao comportamento de oviposição por meio de armadilhas de oviposição (ovitampas) e concluíram que a espécie *Aedes aegypti* delimita o seu território para as fêmeas grávidas em recipientes intradomiciliares, enquanto que o *Aedes albopictus* tem preferência e com isso maiores chances de depositar seus ovos em recipientes peridomiciliares.

O número de ovos depositados pelos mosquitos varia de acordo com a espécie. Usualmente uma fêmea de mosquito da família Culicidae ovipõe de 100 a 300 ovos por postura. A oviposição ocorre sempre após o repasto sangüíneo, variando de duas a oito posturas por fêmea <sup>29</sup>. Uma fêmea da espécie *Aedes aegypti* deposita de 70 a 150 ovos <sup>30</sup>. Após um período de aproximadamente dois a quatro dias, em temperatura média de 26°C, os ovos dão origem às larvas <sup>29</sup>.

A alimentação das larvas consiste de plâncton, microorganismos como bactérias, fungos, protozoários e detritos orgânicos animais ou vegetais. Até o momento não foi evidenciada a existência de qualquer processo seletivo de alimentos. Tal fato tem aplicação no uso de substâncias larvicidas. Estes produtos, sob a forma de pó, quando espalhados na superfície líquida e em vista da falta de seletividade, são ingeridos pelas larvas exercendo desse modo sua ação letal <sup>31</sup>.

Na fase adulta, após sua emergência e do endurecimento de seu revestimento quitinoso, voa em busca de abrigo de preferência sombrio e com certo grau de umidade. As fêmeas são anautogênicas, ou seja, necessitam de sangue de preferência humano (espécie antropofílica), pois o sangue fornece proteínas necessárias à maturação dos ovos <sup>32</sup>.

Em estudo realizado por Barata e cols.<sup>33</sup>, os autores observaram que esta espécie revelou uma grande tendência à endofilia, ou seja, prefere exercer a hematofagia no interior dos domicílios.

Na fase adulta o mosquito caracteriza-se por possuir linhas prateadas no tórax em forma de lira e pelas listras brancas nos segmentos tarsais <sup>34</sup>.

## 1.9 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

O *Aedes aegypti* é originário do Velho Mundo, provavelmente da região etiópica e foi descrito no Egito. Acompanhou o homem em suas migrações pelo mundo, permanecendo onde as alterações antrópicas propiciaram a sua proliferação. Atualmente é considerada uma espécie cosmopolita, ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais. Devido a sua disseminação ter sido na maioria das vezes de forma passiva pelo homem, esta espécie tem sua distribuição geográfica descontínua, pois está presente nos locais onde o homem o levou em embarcações, trens, automóveis, aviões, etc., e onde encontrou condições favoráveis para a sua proliferação. O *Aedes albopictus*, ocorre em áreas de clima temperado e tropical em diversas regiões do mundo, tendo sido descrito da Índia. Em 1985, invadiu o continente americano, ocupando áreas ao Sul dos Estados Unidos. Em 1986, foi

encontrado pela primeira vez no Brasil, nos Estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. Posteriormente invadiu outros Estados vizinhos (Espírito Santo e São Paulo) e já se encontra em algumas capitais do nordeste <sup>35</sup>. Até o momento, não foi registrada a sua presença no Estado do Ceará.

### 1.10 COMBATE AO *Aedes aegypti* NO BRASIL

Desde o século XVII que o mosquito *Aedes aegypti* é conhecido em nosso país. Em 1881, o médico cubano Carlos Finlay comprovou que o *Stegomyia fasciata* ou *Aedes aegypti* é o transmissor da febre amarela <sup>16</sup>. Com isso começou a ser combatido no início do século XX. A partir de 1903, na cidade do Rio de Janeiro, Oswaldo Cruz estruturou campanha com base no isolamento de doentes, medidas de saneamento geral e combate específico ao vetor <sup>17</sup>.

Outro fato marcante no combate ao *Aedes aegypti* no Brasil ocorreu em 1931, quando o governo brasileiro assinou um convênio com a Fundação Rockefeller e o Serviço de Febre Amarela estendeu-se a todo o território brasileiro. Nesta ocasião a técnica empregada para o controle do *Aedes aegypti* foi à utilização de petróleo no combate às larvas. Em 1940, propôs-se a erradicação deste mosquito como resultado do sucesso alcançado na erradicação do *Anopheles gambiae*, grande transmissor da Malária no Brasil, originário da África. Algumas medidas de controle foram adotadas como o emprego do DDT. Em 1958 o mosquito foi considerado erradicado do território brasileiro pela XV Conferência Sanitária Panamericana. Porém, em 1967 ocorre a reintrodução do mosquito no Brasil em Belém/Pará e em mais 23 municípios. Em 1973, o último foco de *Aedes aegypti* foi

eliminado e novamente o mosquito foi considerado erradicado do território brasileiro. Novamente, em 1976, na cidade de Salvador, Bahia, ocorreu a reintrodução do mosquito. Em 1986, foi registrada pela primeira vez, a presença do *Aedes albopictus* na cidade do Rio de Janeiro em terreno da Universidade Rural – município de Itaguaí. No ano de 1998, o mosquito *Aedes aegypti* já se encontrava presente em todo o território nacional <sup>16</sup>.

### 1.11 CONTROLE

O controle do *Aedes aegypti* é realizado através de medidas que reduzem o número de criadouros no ambiente domiciliar e/ou através do controle químico das formas imaturas (larvas e pupas) e das formas adultas. No ambiente domiciliar existem dois tipos de potenciais criadouros para o *Aedes aegypti*, aqueles que o homem necessita para armazenar água (depósitos essenciais) e outros que podem ser dispensados (depósitos dispensáveis). Com relação aos depósitos essenciais, uma medida de controle eficaz seria torná-los inacessíveis ao *Aedes aegypti*, e quanto aos depósitos dispensáveis, seria a exclusão dos mesmos do ambiente domiciliar. As estratégias de controle que visam à redução do número de criadouros, para serem implementadas, necessitam da participação da população, e alguns acreditam que poderiam até mesmo, ser desenvolvidas exclusivamente pela população. Todavia, quando a redução de criadouros não for exequível ou não produzir os resultados esperados, pelo menos no curto e médio prazo, deveremos implementar o controle químico ou biológico. O controle das formas imaturas é considerado mais eficiente do que das formas adultas, e este último deve ser

reservado apenas para momentos no qual está ocorrendo transmissão de Dengue e existe uma grande densidade das formas aladas do vetor <sup>36</sup>.

## 1.12 CONTROLE QUÍMICO

O controle do *Aedes aegypti* de início era realizado através da aplicação de querosene ou de petróleo nos depósitos encontrados com foco de mosquito <sup>37</sup>.

Outro método que foi utilizado para o controle de larvas de mosquitos, foi o uso do Verde-paris. Este produto consistia em um aceto-arsenito de cobre, onde seu conteúdo de arsênico variava muito e deveria ser usado o que continha no mínimo 50%. Seu peso específico era maior que o da água, porém suas partículas flutuavam na superfície da água por algumas horas, dependendo da natureza do diluente e da composição da água. Por sua propriedade em flutuar na superfície da água, foi mais utilizado no controle de larvas de anofelinos (mosquitos transmissores da malária), pois estas procuram este lugar para respirar <sup>38</sup>.

No ano de 1947, iniciou-se o emprego do diclorodifenil-tricloroetano (DDT) no controle deste mosquito. Desta forma conseguiu-se combater o *Aedes aegypti*. Porém começaram a aparecer algumas populações resistentes ao DDT e o mosquito voltou a invadir o Brasil em 1967 <sup>37</sup>.

Sob este aspecto, as substâncias inseticidas devem ter algumas características básicas para que possam ser avaliadas. Segundo Giannotti e cols <sup>39</sup>., as características mais importantes são: que a substância inseticida seja completamente inócua para o homem; não apresentar fitotoxicidade; deve agir com rapidez, causando a morte do inseto, independente do estágio de desenvolvimento e



não somente a paralisação temporária do ciclo evolutivo. Esta condição possibilita que o inseto reinicie suas atividades adquirindo assim uma imunidade. Deve ter uma ação que persista ou pelo menos que seja longa. Contudo, dificilmente encontramos todas essas características em um único produto. A ação provocada por uma substância inseticida é muito específica e de acordo com sua estrutura química, pode apresentar variedades em sua ação tóxica para animais, plantas e insetos.

Dos inseticidas químicos que estão em uso, temos os de origem sintética (compostos produzidos pelo homem), como os organoclorados (DDT, BHC), os organofosforados, que são menos persistentes que os organoclorados, carbamatos, piretróides e os piretróides não ésteres (pseudopiretróides). Os que são de origem natural, os mais conhecidos são os de origem vegetal como a rotenona, produto extraído de uma planta que os índios usavam para matar peixes. Além da rotenona, temos o piretro, do qual se extraiu as piretrinas, que não matavam os insetos e sim nocauteavam os mesmos. Das piretrinas, extraíram-se os piretróides <sup>40</sup>. Os piretros foram muito utilizados na antiguidade e eram obtidos do macerado de flores de *Chrysantemum*. Provocavam uma ação nervosa paralisante e irreversível. Além dos compostos de origem vegetal, citamos também os de origem animal e os derivados de petróleo <sup>41</sup>.

Atualmente o controle do *Aedes aegypti*, pode ser realizado pela aplicação de produtos químicos ou biológicos, por meio de tratamento focal, tratamento perifocal e da aspersão aeroespacial de inseticidas em ultrabaixo-volume (UBV). O tratamento focal consiste em aplicar um produto que seja larvicida em depósitos positivos, a fim de atingir as formas imaturas de mosquitos, quando estes depósitos não podem ser eliminados mecanicamente. Nos imóveis que apresentarem um ou

mais depósitos positivos (com presença de formas imaturas), deverão ser tratados todos os depósitos com água que não possam ser eliminados. Em áreas bem delimitadas, que estejam infestadas e desprovidas de fonte de abastecimento coletivo de água, o tratamento focal deve atingir todos os depósitos de água de consumo vulneráveis a oviposição do vetor <sup>16</sup>.

Na rotina do PEAA (Plano Diretor de Erradicação do *Aedes aegypti*), os larvicidas utilizados são:

- **Temephos** – consiste num granulado a 1% (Abate, Larvell, Larvyn etc), que possui baixa toxicidade e é empregado em dose inócua para o homem, porém letal às larvas de mosquitos;
- ***Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti)** que é um larvicida biológico e que pode ser utilizado de forma rotativa com o Temephos, evitando um possível surgimento de resistência das larvas a estes produtos;
- **Metoprene** – substância análoga ao hormônio juvenil dos insetos e que atua sob as formas imaturas (larvas e pupas), impedindo o desenvolvimento dos mosquitos para a fase adulta.
- Em alguns casos o cloreto de sódio ou sal de cozinha, em solução a 3%, poderá ser utilizado também como larvicida <sup>16</sup>.

Os larvicidas Temephos, Bti e o Metoprene são agentes de controle de mosquitos, aprovados pela OMS (Organização Mundial de Saúde) para serem utilizados em água de consumo humano, pois possuem características de inocuidade para os mamíferos em geral e o homem <sup>16</sup>.

Os larvicidas são assim denominados porque dirigem-se a fase larvária dos mosquitos. O tratamento larvário ou focal é realizado em recipientes que possam favorecer o desenvolvimento do mosquito desde a fase larvária até a fase adulta ou alada, representado assim criadouros ou focos <sup>42</sup>.

O tratamento focal consiste em tratar internamente com larvicida de baixa toxicidade os recipientes que não possam ser removidos ou não possam ser alterados de posição e de estrutura <sup>42</sup>.

Os larvicidas normalmente são utilizados nas formas granuladas, que consistem em formulações em que o inseticida grau técnico (inseticida na sua forma mais pura) é associado a grãos de areia de tamanho entre 0,3 a 0,6 mm de diâmetro a 1%. Estes são usados no controle larvário de mosquitos (formulações larvicidas) e aplicados em pântanos e águas servíveis. Deste modo, penetram em meio à vegetação atingindo a água e liberando gradativamente o inseticida, cobrindo assim os focos de larvas <sup>43</sup>.

Há mais de duas décadas, que o controle químico das larvas de *Aedes aegypti* é feito através de um inseticida do grupo dos organofosforados, o Temephos. Este organofosforado é considerado de baixíssima toxicidade para os mamíferos <sup>44</sup>.

### 1.13 ORGANOFOSFORADOS

Os organofosforados foram desenvolvidos na década de 40 e foram os primeiros a substituírem os representantes do grupo dos organoclorados, aos quais os insetos já apresentavam resistência. Possuem uma ampla gama de produtos



(agrícolas e sanitários), desde os extremamente tóxicos até aqueles com baixa toxicidade como o Temephos, que tem seu uso permitido em água potável. Na área da Saúde têm sido bastante usados. Os organofosforados possuem em sua estrutura molecular, compostos ésteres, amidas ou derivados tiol dos ácidos de fósforo (ácido fosfórico, ácido tiofosfórico, ácido ditiofosfórico e outros), contendo várias combinações de carbono, hidrogênio, oxigênio, fósforo, enxofre e nitrogênio. Possuem vários grupos segundo sua estrutura, estando entre os mais numerosos os fosfatos (diclorvos), fosforotiotatos (fenitrothion, Temephos) e fosforoditioatos (malathion, dimetoato) <sup>41</sup>.

Os organofosforados agem nos insetos inibindo a enzima colinesterase, bloqueando assim a transmissão nervosa ao nível da sinapse. Desta forma, ligam-se à colinesterase impedindo a remoção da acetilcolina. Estas substâncias provocam contrações rápidas na musculatura voluntária, causando principalmente paralisia do aparelho respiratório <sup>40</sup>.

#### 1.14 TEMEPHOS

O Temephos foi registrado pela primeira vez nos Estados Unidos em 1965 pela Companhia Cyanamid e tendo a EPA (Environmental Protection Agency – U.S.) como responsável pelo produto em 1991. Após, em 1997 o registro deste larvicida foi transferido para a Clarke Mosquito Control Products, Inc <sup>45</sup>.

A solubilidade do Temephos em água é extremamente baixa (inferior a 1 ppm). Esta característica química o torna muito adequado para ser posto na água, pois, independente da quantidade do sal colocado num determinado volume de

água, a concentração final será muito baixa, diminuindo assim os riscos para quem usa a água, inclusive a sua ingestão. Importante também é o fato de que, numa concentração inferior a 1 ppm, o Temephos mata 100% das larvas de uma população que nunca foi exposta à referida substância química <sup>46</sup>. Outra grande vantagem do Temephos, que torna economicamente viável o seu uso, é a duração do efeito residual de uma das suas formulações, o Abate. O Abate é uma formulação do Temephos a 1% em grãos de areia <sup>47</sup>.

Apesar de todas as vantagens mencionadas acima, depois de anos de intensivo uso deste produto químico, como ocorre com todos os inseticidas, aparece resistência na população de insetos alvo. A resistência do *Aedes aegypti* aos organofosforados, tem sido registrada em algumas partes do mundo <sup>48</sup>. No Brasil, o monitoramento da resistência do *Aedes* aos organofosforados não vinha sendo feito de forma sistemática, de modo que não se sabe exatamente quando ela surgiu. Mas o fato é que testes realizados em amostras de larvas emergidas de ovos coletados em algumas capitais brasileiras em 1999 demonstraram a presença de resistência em alguns lotes de larvas de algumas cidades, inclusive Fortaleza e Caucaia (Fundação Nacional de Saúde, comunicação pessoal).

Em um estudo realizado por Oliveira e cols., <sup>49</sup> detectaram-se populações no Estado do Ceará resistentes ao Temephos. Foram testadas larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti*, a fim de avaliar a ação de Temephos (Abate 1% adsorvido em areia), onde os autores seguiram a técnica preconizada pela Organização Mundial de Saúde. Todos os testes foram aplicados à população F1 simultaneamente com a população Rockefeller (padrão sensível). As populações oriundas dos municípios de Fortaleza (Jardim Iracema) e Caucaia (Tabapuazinho A e B), apresentaram-se

resistentes ao Temephos com apenas 16% de mortalidade e 18% e 28% de mortalidade respectivamente.

Esta resistência também foi detectada em outros estados do Brasil. No Distrito Federal, estudo realizado por Carvalho et.al.,<sup>50</sup> detectou algumas populações resistentes ao Temephos nas cidades de Taguatinga, Guará e Núcleo Bandeirante, pois as larvas de *Aedes aegypti* apresentaram uma mortalidade inferior a 80%, considerada desta forma resistente ao Temephos de acordo com os procedimentos padrões da Organização Mundial de Saúde.

Outro estudo de grande importância foi realizado em São Paulo por Bracco e cols.,<sup>51</sup> onde os autores pesquisaram o surgimento de mecanismos bioquímicos de resistência ao Temephos. Para isso, eles investigaram a atividade e o padrão eletroforético de esterases, o percentual de inibição da acetilcolinesterase e a atividade de glutathione-S-transferases, pois estes são mecanismos bastante comuns de resistência a organofosforados. Das populações testadas, as dos municípios de Marília e Campinas, apresentaram alterações nos mecanismos de resistência. A primeira na atividade de esterase e forma alterada (resistente) da acetilcolinesterase. A segunda apresentou alteração da acetilcolinesterase.

Também no Estado de São Paulo Macoris et.al.,<sup>52</sup> observaram alterações dos níveis de susceptibilidade do *Aedes aegypti* a organofosforados como o Temephos e o fenitrothion.

Em face da resistência aos organofosforados e da necessidade de sua substituição, uma das alternativas que existem no momento é o controle biológico através da utilização de larvicidas biológicos, entre estes, as toxinas produzidas por bacilos que crescem no solo. Existem vários bacilos do Grupo *Cereus* que produzem

substâncias que são tóxicas para insetos. Uma delas, o *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) produz uma toxina chamada toxina paraesporal que apresenta uma toxicidade muito específica para larvas de culicídeos (pernilongos e *Aedes*) e simúlídeos (vetores da oncocercose). A toxina paraesporal é ingerida pelas larvas e após a ingestão da toxina é liberada uma proteína que lesa o epitélio do aparelho digestivo e leva a larva à morte. Pode ocorrer também infecção e septicemia da larva pelo bacilo de forma que o *Bacillus thuringiensis* pode ser recuperado de cadáveres de larvas que foram expostas ao Bti. Devido a esta alta especificidade, a aplicação de Bti é considerada extremamente segura, pois sua ação sobre vertebrados e insetos não alvos é insignificante <sup>53</sup>.

### 1.15 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico tem se mostrado bastante eficaz no controle de diversas espécies de organismos vivos na natureza. O controle biológico de pragas tem como objetivo a redução de prejuízos, através de ações selecionadas, após os sistemas vitais, tanto dos predadores como das pragas, terem sido compreendidos e as conseqüências ecológicas, bem como as econômicas, destas ações tenham sido previstas, o mais acuradamente possível, para o melhor interesse da sociedade <sup>54</sup>.

Os agentes responsáveis pelo controle biológico na realidade são aqueles organismos que têm a capacidade de parasitar ou preda insetos ou outros organismos vivos <sup>41</sup>.

O controle biológico pode ser definido como qualquer atividade que envolva a manipulação de inimigos naturais tais como predadores, parasitas ou patógenos a fim de reduzir ou suprimir uma população animal ou vegetal que represente uma praga. Um programa para ser completo em termos de controle biológico precisa cobrir uma ampla gama de atividades, desde a simples conservação de inimigos naturais, através de criteriosa seleção de um pesticida que lhes seja menos tóxico, até a liberação deliberada ou introdução de inimigos naturais <sup>54</sup>.

Atualmente os microorganismos que estão sendo utilizados no controle biológico são: bactérias, fungos e alguns vírus. Com relação às bactérias as mais comuns são o *Bacillus thuringiensis* para o controle de lepidópteros, larvas de mosquitos que vivem em ambientes aquáticos como *Aedes spp*, *Anopheles pp*, *Culex spp* e também no controle de simulídeos (borrachudos). Outra bactéria é o *Bacillus popilliae* para o controle de larvas de besouros pertencentes à família *Scarabaeidae* <sup>54</sup>.

Quanto ao grupo *Bacillus thuringiensis*, este é composto por bactérias gram-positivas cujos esporos são entre elípticos, cilíndricos e em posição central com um esporângio distendido <sup>55</sup>. Este grupo é composto também por esporulados aeróbicos, que por sua vez, formam cristais de conteúdo protéico e são chamados de corpos paraspóricos. Estes corpos possuem a delta-endotoxina que é uma protoxina que só será ativada quando o inseto começar a se alimentar, provocando desta maneira uma ação letal a níveis bem baixos <sup>41</sup>. Os cristais formados por esta bactéria permitem a diferenciação desta espécie de *Bacillus cereus* <sup>55</sup>.

Além desses bacilos citados, outro também, bastante utilizado é o *Bacillus sphaericus*. O *Bacillus sphaericus* também é uma bactéria gram-positiva constituída por células vegetativas em forma de bastonete possuindo como uma de suas principais características a presença de esporos esféricos que deformam o esporângio, dando-lhe a forma de raquete<sup>55</sup>. Este bioinseticida contém alta toxicidade para as larvas de mosquitos e simúlideos, sendo muito eficiente contra larvas de *Culex quinquefasciatus* e espécies de *Anopheles*, porém menos eficiente para *Aedes aegypti*<sup>21</sup>. O *Bacillus thuringiensis var. israelensis* possui um espectro mais amplo. Possui uma maior eficácia contra larvas de culicídeos do que contra anofelinos, devido à maneira de como as larvas de anofelíneos se alimentam na superfície da água, e desta forma terem menos contato com o inseticida. O *Bacillus thuringiensis israelensis* é especialmente eficaz para as espécies de *Aedes*, *Psorophora* e *Culex*. Tanto o *Bacillus thuringiensis israelensis* quanto o *Bacillus sphaericus*, tem seus esporos ingeridos junto com a alimentação quando estes misturam-se a água<sup>21</sup>.

Alguns estudos têm demonstrado que as larvas de *Aedes aegypti* têm a capacidade de ingerir quase 11 vezes mais esporos de *Bacillus thuringiensis israelensis* do que as larvas de *Anopheles albimanus*<sup>56</sup>.

Pesquisadores em diversas partes do mundo têm buscado encontrar novas estirpes (sorotipos) de *Bacillus thuringiensis israelensis* e *Bacillus sphaericus* que sejam capazes de produzir toxinas ou que sejam eficazes para o controle de outros organismos. Atualmente, estima-se que existam e sejam conhecidas mais de 40.000 estirpes<sup>57</sup>.

No controle biológico também têm-se utilizado larvas de outros mosquitos com bons resultados. Há mosquitos predadores de larvas, como os *Toxorhynchites*, que tratariam de diminuir populações de *Aedes* em criadouros antrópicos. Outros mosquitos predadores, como *Trichoprosopon pallidiventer*, *Sabethes aurecens* e *Culex (Lutzia)* são utilizados para o controle de larvas de mosquitos vetores e importunadores <sup>21</sup>.

Além de larvas de mosquitos, temos outros predadores invertebrados como planárias, em especial a espécie *Dugesia dorotocephala*, microcústáceos *Mesocyclops*, baratas d'água (Hemíptera: *Belostomatidae*), helmintos nematódeos da família *Mermithidae*, protozoários Microsporídios de transmissão transovariana. Neste caso podemos destacar a espécie *Hedzardia aedis*, que tem sua ação específica contra larvas de *Aedes aegypti* sendo capaz de eliminar 100% das formas imaturas deste mosquito em condições laboratoriais. Alguns fungos também têm sido estudados como o *Metharizium anisopliae* e *Lagenidium gigantum*. Estas espécies têm demonstrado muita eficiência em água limpa, onde os esporos podem atuar por mais de 30 dias, porém seu uso é limitado pela baixa especificidade, pela necessidade de altas dosagens e pela dificuldade de cultivo <sup>58</sup>.

Outro aspecto importante no controle biológico é a utilização de peixes larvófagos. Este recurso é mais indicado para grandes porções de águas limpas e permanentes. Nos Estados Unidos tem sido amplamente utilizado o peixe *Gambusia affinis*, no controle de diversas espécies de mosquitos. Na África do Sul, o peixe utilizado é o *Poecilia reticulata*, pois além de nativo, este também tolera bem águas poluídas, mesmo sem ser um predador tão voraz quanto o *Gambusia affinis* <sup>21</sup>.

No Estado do Ceará tem-se utilizado o peixe *Betta splendens* como principal meio de controle biológico do *Aedes aegypti*. Estudos como de Santana e cols.,<sup>59</sup> tem mostrado que uma fêmea de *Betta splendens* pode ingerir até 500 larvas de 3º estágio/dia em depósitos como caixas d'água.

Além de peixes larvófagos, alguns estudos como de Rivière<sup>60</sup> (1987), na Polinésia Francesa, tem utilizado outros tipos de predadores de larvas como o copépoda *Mesocyclops aspericornis*. Este, quando usado dentro de buracos de caranguejo, poças d'água e pneus, reduziu consideravelmente a população larval de *Aedes polynesiensis* e/ou *Aedes aegypti* em 91-99% por até 29 meses em buracos de caranguejo e 60 meses em outros criadouros como poças d'água e pneus. Porém este não foi eficaz para larvas de *Culex* e com isto seu uso foi associado a outro organismo o *Bacillus thuringiensis israelensis* que agiu em ambos os gêneros (*Aedes* e *Culex*).

Em um estudo realizado por Santos e Andrade<sup>61</sup> (1997), onde utilizou-se copépodes ciclopídeos para o controle de larvas de 1º estágio de *Aedes albopictus*, os mesmos demonstraram ser bons controladores das formas imaturas de mosquitos. As espécies testadas *Metacyclops mendocinus*, *Tropocyclops prasinus*, *Eucyclops* sp, *Eucyclops serrulatus*, *Eucyclops solitarius*, *Eucyclops ensifer*, *Macrocyclus albidus* var. *albidus* e *Mesocyclops longisetus* var. *longisetus*, apresentaram potencial predador variando de 0 a 97,3% sendo que esta última espécie foi a que apresentou o melhor percentual predador.



Atualmente, tem-se utilizado como principal meio de controle biológico para as larvas de *Aedes aegypti* um bioinseticida, já mencionado anteriormente, denominado *Bacillus thuringiensis israelensis*.

### 1.16 BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS

As bactérias incluem todos os organismos que possuem como características parede celular rígida e quando são móveis possuem flagelos. Quanto à morfologia podemos distinguir três grandes grupos: as bactérias propriamente ditas (onde está incluído o *Bacillus thuringiensis israelensis*), os actinomicetos e as bactérias que formam gemas. Nas bactérias propriamente ditas as células de muitas delas são envolvidas por cápsulas, normalmente compostas por polissacarídeos ou polipeptídeos constituídas por um ou mais aminoácidos diferentes <sup>62</sup>. Outra característica exclusiva das bactérias é a formação de esporos (endósporos). Estes esporos são encontrados em apenas dois gêneros de bactérias em forma de bastonetes: *Bacillus* e *Clostridium*. Estes dois gêneros diferem entre si pela sua fisiologia. Os *Bacillus* são bactérias aeróbicas e os *Clostridium* são anaeróbicos <sup>62</sup>.

As bactérias que formam esporos normalmente possuem a forma de bastonetes. Todas as bactérias esporuladas bastonetiformes são classificadas na família *Bacillaceae*, onde encontra-se o *Bacillus thuringiensis*. Outra característica importante que está associado à formação dos esporos é a formação de um cristal bipiramidal no citoplasma vegetativo. Os cristais podem separar-se dos esporos após desintegração da parede da célula vegetativa. Eles são compostos de

proteínas e estas são tóxicas para os insetos. As bactérias esporuladas têm como habitat característico o solo e algumas espécies são patogênicas para insetos ou para animais superiores <sup>63</sup>.

A formação de esporos representa a fase dormente do ciclo de vida bacteriano, quando o organismo espera por melhores condições de crescimento. No caso desta bactéria, o *Bacillus thuringiensis*, também cria os esporos que formam cristais de proteína. Estes cristais são o componente tóxico de *Bacillus thuringiensis*, que após serem ingeridos pelas larvas de mosquitos são então dissolvidos no intestino alcalino do inseto. As enzimas digestivas e a estrutura cristalina do inseto ativam o componente inseticida de *Bacillus thuringiensis*, chamado de delta-endotoxina. Esta toxina fixa-se nas células que revestem a membrana do intestino das larvas, criando esporos na membrana, alterando o equilíbrio de íons do intestino e com isso o inseto deixa de se alimentar, levando-o à morte <sup>64</sup>.

Segundo Tadei <sup>65</sup> (Inpa), fora do aparelho digestivo dos insetos, esta toxina não é tóxica para as larvas, porque para que ela se rompa é necessário que esteja em meio alcalino com um pH maior que 8. Com isso, o intestino médio das larvas de mosquitos como os de *Culex*, *Anopheles* e *Aedes*, que apresentam esse nível de pH, oferecem as condições necessárias para a liberação da proteína.

A delta-endotoxina produzida nos cristais está relacionada com o processo de esporulação da bactéria, resultando em esporos e cristais separados. Outras toxinas produzidas por algumas cepas de *Bacillus thuringiensis* já foram constatadas, sendo a mais conhecida denominada de thuringiensina ou beta-exotoxina. Sua ação também é entomocida, porém ao contrário da delta-endotoxina, esta toxina é termo-estável e obtida a partir do sobrenadante das culturas

centrifugadas. A beta-exotoxina possui um largo espectro de ação contra invertebrados, aves e mamíferos, além de possivelmente mutagênica. Por apresentar estes riscos, a maioria das cepas de *Bacillus thuringiensis* que são utilizadas para o controle de insetos, têm sido selecionada para não produzir exotoxinas<sup>66</sup>.

Vários programas de controle têm como meta estarem isolando um número novo de tensões (estirpes). O desenvolvimento destas tensões tem resultado em uma ampla variedade de bactérias Gram-positivas, incluindo *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* e outras bactérias para o qual a não atividade inseticida tem sido relatada previamente como: *Brevibacillus laterosporus* e *Clostridium bifermentans*. Tensões isoladas de bactérias entomopatogênicas têm sido caracterizadas pelo nível de atividade e especificidade. Para muitas bactérias a principal toxicidade é devido à presença de inclusão de corpos protéicos que são produzidos durante esporulação da bactéria. Esses fatores tóxicos são chamados de toxinas Cry e Cyt para *Bacillus thuringiensis* e toxina Bin para *Bacillus sphaericus*. A diversidade da toxina produzida é a razão para a alta especificidade dessa bactéria. O *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) é composto por quatro grandes proteínas com peso molecular de 135, 125, 68 e 28 Kda. Após a descoberta de *Bacillus thuringiensis israelensis*, diversas outras tensões de *Bacillus thuringiensis* têm sido isoladas. Essas tensões diferem de *Bacillus thuringiensis israelensis* e outros sorotipos pela atividade contra mosquitos ou pela composição de polipeptídeos, podendo ser classificados em três grupos: o primeiro grupo inclui tensões com larvicidas e atividade hemolítica, além de cristais de polipeptídeos semelhantes aos do *Bacillus thuringiensis israelensis*. O segundo grupo, contém poucas tensões que são quase

tóxicas como o Bti, porém produzem diferentes polipeptídeos que são o *Bacillus thuringiensis* sorovar. *jegathesan* (Btjég) e *Bacillus thuringiensis* sorovar. *medellin*. O terceiro grupo, inclui um número de tensões que sintetizam diferentes polipeptídeos dos encontrados em Bti, mas com única atividade e esta é considerada fraca<sup>34</sup>.

Em se tratando de produtos utilizados para matar mosquitos, que são tipicamente aplicados em ambientes aquáticos, a principal necessidade é que o princípio ativo não afunde muito depressa ou que fique em suspensão na interface ar-água, de maneira que possa aumentar a probabilidade de ingestão das toxinas pelas larvas de dípteros (insetos que possuem duas asas)<sup>67</sup>.

A fim de melhorar a persistência do *Bacillus thuringiensis* (subesp.) *israelensis*, estão sendo desenvolvidas algumas formulações do tipo “slow release” que liberam lentamente o complexo esporo-toxina mantendo-o disponível para as larvas por um período maior de tempo. Essas formulações são em forma de pastilhas, “pellets” ou briquetes. Segundo Becker<sup>67</sup> (1990) uma formulação de *Bacillus thuringiensis* (subesp.) *israelensis* em pastilhas, mostrou-se efetiva no controle de *Aedes aegypti* por 50 dias em experimento utilizado na Indonésia.

O primeiro relato de doenças em insetos causadas por bactérias entomopatogênicas data de 1902, quando ISHIWATA, no Japão, descreveu uma bactéria esporulante que causava mortalidade em bicho-da-seda (*Bombix mori*). Em 1911, BERLINER, na Alemanha, descreveu o mesmo tipo de bactéria atuando sobre traça-das-farinhas (*Anagasta Kuhnella*) e, em 1915, a batizou de *Bacillus thuringiensis*<sup>67</sup>.

Nos Estados Unidos, foi utilizado comercialmente pela primeira vez em 1958, quando foi concedida uma isenção de controle. Atualmente é usado em colheitas e florestas para o controle de lepidópteros e mosquitos<sup>68</sup>.

O *Bacillus thuringiensis israelensis* foi registrado primeiramente como inseticida em 1983 pela United States Environmental Protection Agency (EPA)<sup>69</sup>.

O *Bacillus thuringiensis* pertence à família *Bacillaceae*, que possui duas divisões de gêneros: *Clostridium*, com 205 espécies e *Bacillus* com 33 espécies. O *Bacillus thuringiensis* tem mais de 19 variedades. Dessas, 5 são atualmente comercializadas: *kurstaki*, usado em controle de peste de silvicultura; *israelensis*, usado para o controle de mosquitos; *aiyawai*, *morrisoni* e *diego de san*, usados em colheitas.<sup>63</sup> Essas variedades são também chamadas de sorotipos ou subespécies<sup>64</sup>.

Em 1977 e em 1983 ocorreram descobertas marcantes, que ampliaram o espectro de utilização dos bacilos entomopatogênicos. No primeiro caso, Goldberg e Margalit (1977) trabalhando com solos de Israel, encontraram uma estirpe de *Bacillus thuringiensis* efetiva contra dípteros (culicídeos e simulídeos) que logo chamou a atenção por sua elevada potência larvicida e que foi batizada como *Bacillus thuringiensis* (subesp.) *israelensis*. Já em 1983, na Alemanha, foi isolada uma estirpe bacilar efetiva contra coleópteros, principalmente crisomelídeos, e que foi batizada com *Bacillus thuringiensis* (subesp.) *tenebrionis*<sup>67</sup>.

A espécie *Bacillus thuringiensis*, que é a mais estudada em campo, apresenta uma patogenicidade seletiva, de acordo com a estirpe em questão. Esta espécie é bastante heterogênea e suas características bioquímicas e sorológicas estão relacionados à especificidade e virulência das estirpes, realçando a

necessidade de maior aprofundamento nos estudos taxonômicos dos membros desta espécie. Outra característica importante é sua ampla distribuição, sendo encontrada tanto em ambientes de clima tropical como em zonas temperadas, o que a classifica como uma espécie cosmopolita <sup>70</sup>.

Panbangred et al., <sup>71</sup> avaliaram a toxicidade de *Bacillus thuringiensis* para as larvas de *Aedes aegypti*. Entre as seis variedades de *Bacillus thuringiensis* e cinco outras espécies do *Bacillus*, somente duas variedades de *Bacillus thuringiensis* foram tóxicas para as larvas de *Aedes aegypti* dentro de 24 horas. Neste estudo as variedades testadas foram: *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, sorotipo 3a, 3b (HD-1), *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* sorotipo 1 (BA-068), *Bacillus thuringiensis* var. *alesti* variedade S-3 (crystalliferous, variedade sporogenic), *Bacillus thuringiensis* variedade HL-1 (crystalliferous, asporogenous) e HL-2 (acristalliferous, variedade sporogenic) e *Bacillus thuringiensis* var. *tolwolrthi* variedade HB 9-2 (acristalliferous, variedade sporogenic). As espécies testadas foram: *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus circularis*, *Bacillus cereus* e *Bacillus sphaericus*. As variedades de *Bacillus* que foram tóxicas para as larvas de *Aedes aegypti* foram HD-1 e BA-068, apresentando os LC50  $5,6 \times 10^4$  e  $2,4 \times 10^5$  esporos/ml, respectivamente. Os fatores tóxicos estavam associados com o corpo cristalino do *Bacillus thuringiensis*.

Ignoffo e cols., <sup>72</sup> estudaram a susceptibilidade de *Aedes aegypti* em quatro variedades de *Bacillus thuringiensis* que foram: *galleriae*, *israelensis*, *kurstaki* e *thuringiensis*. A variedade *israelensis* foi a mais ativa das quatro testadas. Todas as larvas morreram após uma hora de exposição. Em segundo lugar foi à variedade *kurstaki* seguindo em ordem decrescente de atividade a *galleriae* e *thuringiensis*.

Houve uma diferença muito grande na rapidez de matar entre as variedades *israelensis* e *galleriae*. As larvas, devido à ação de *israelensis*, tiveram morte imediata, provavelmente devido à rápida ação da toxina. Na variedade *galleriae*, poucas larvas morreram rapidamente após exposição a esta bactéria.

O *Bacillus thuringiensis israelensis* sorotipo H-14, tem altíssima atividade larvicida para várias espécies de mosquitos, especialmente o *Aedes aegypti*. Em um estudo realizado na Tailândia, indicou que o *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14, nome comercial Skeetal, foi bastante eficiente contra as larvas do *Aedes aegypti*, coletadas em sete regiões da Tailândia e todas foram igualmente susceptíveis ao *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14 <sup>73</sup>.

Quanto à infecção causada por estes patógenos como as bactérias, as enzimas secretadas por elas atuam ao nível da membrana peritrófica e epitélio intestinal, tornando-os permeáveis à passagem de microorganismos para a hemolinfa, podendo acarretar septicemia <sup>74</sup>.

Tsrer e cols., <sup>75</sup> avaliaram a atividade larvicida de *Bacillus thuringiensis israelensis* em larvas de 2º e 4º estádios de *Aedes aegypti*. Neste estudo, observou-se que a morte das larvas é um processo muito rápido causado pelo Bti, começando 6 minutos depois da aplicação da dosagem utilizada que foi 4mg/ml (400 x LC50) da bactéria em pó, alcançando 100% de mortalidade após 27 minutos de exposição. Outro aspecto importante que foi objeto de estudo desta pesquisa foram as mudanças histopatológicas observadas nas larvas que ocorreram principalmente na zona anterior do intestino como: separação das células epiteliais da membrana, destruição completa ou parcial da membrana peritrófica e hipersecreção pela célula epitelial.

O *Bacillus thuringiensis* pode provocar problemas digestivos em insetos, mesmo em subdosagens, podendo com isso levar a uma perda de apetite e atraso no crescimento. Esta bactéria tem a capacidade de induzir altas mortalidades em insetos quando se associam os seus princípios tóxicos representados por esporos, cristais tóxicos e células vegetativas <sup>76</sup>.

A associação de *Bacillus thuringiensis* com outros tipos de bactérias como *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter* entre outras, não tem resultado em efeitos sinérgicos ou antagônicos, prevalecendo quase sempre a ação de *Bacillus thuringiensis* <sup>76</sup>.

A associação de *Bacillus thuringiensis israelensis* com o protozoário *Tetrahymena pyriformis* aumentou a toxicidade da bactéria nas larvas de *Aedes aegypti* e isto se deu através da encapsulação neste protozoário. Este estudo foi conduzido por Manasherob e cols <sup>77</sup> , onde os autores observaram que as larvas alimentadas com o *Tetrahymena pyriformis* carregadas de Bti morreram três vezes mais rápido do que as que se alimentaram com a mesma concentração de *Bacillus thuringiensis israelensis* sozinho. Isto ocorreu devido a ingestão de alta concentração de toxina, refletido pelo curto tempo de morte da população exposta. As melhores atividades larvicidas foram realizadas nas proporções de nº de células/esporo no alcance de 1:200 a 1:500. Esta elevação da mortalidade pela pré-incubação com *Tetrahymena pyriformis* foi mais alta nas baixas concentrações ou em larvas mais velhas de 3º estágio. O melhor efeito deu-se após noventa minutos de pré-incubação. O aumento da toxicidade é provável que tenha acontecido como consequência da grande quantidade de Bti e cristais contendo delta-endotoxina pelas células de *Tetrahymena pyriformis*.



Quanto aos fatores climáticos, a temperatura é um dos fatores de grande importância, pois esta atua sobre os patógenos afetando sua estabilidade na estocagem e subseqüentemente a sua aplicação e eficiência no campo <sup>74</sup>.

As formulações de bactérias são mais estáveis à baixa temperatura, portanto devem ser mantidas em ambientes frescos. Segundo Ignoffo <sup>74</sup> (1962) uma formulação de *Bacillus thuringiensis* não perde a sua viabilidade quando é estocada por 200 dias a uma temperatura de 10 ou 30° C, no entanto uma suspensão de Thuricidae apresentou 100% de perda de viabilidade quando mantida por 100 dias a 50° C.

A temperatura considerada ideal para o crescimento do *Bacillus thuringiensis* está na faixa de 25 a 28° C. Provavelmente, em condições de campo, a fase de colonização do ciclo das relações patógenos/hospedeiro devem ser muito beneficiadas. As aplicações desta bactéria devem ser realizadas sob temperaturas que oscilam dentro desta faixa, mas são aceitáveis temperaturas de até 37°C. A partir dessa temperatura a bactéria pode ser sensivelmente prejudicada <sup>74</sup>.

Alguns autores têm mostrado que diversos fatores podem influenciar na ação de *Bacillus thuringiensis israelensis*. Os principais fatores envolvidos na ação desta bactéria são: a temperatura da água, já mencionada, a densidade larval, a luz solar e a presença de outros organismos filtradores de alimento.

Estudos como de Becker e cols., <sup>78</sup> mostraram que em amostras de larvas de *Aedes aegypti*, *Aedes vexans* e *Culex pipiens*, testadas em campo, em larvas de 2º estágio há um aumento significativo da mortalidade em temperaturas entre 15°C e 25°C. Em temperaturas inferiores à 8°C, há necessidade de se aumentar a dosagem de Bti. Com relação à densidade larval, existe uma correlação linear entre densidade

larval e eficácia de Bti. Um aumento do número de larvas influencia negativamente na eficácia do produto. Na análise da influência da luz solar, quando esta aumenta, abaixa a eficácia de Bti, fato de grande relevância para aplicações de campo. Com relação a outros organismos filtradores de alimento, em análise com *Daphnia curvirostris*, em larvas de *Culex* e *Culiseta*, observou-se que a competição na filtração do alimento leva à uma diminuição na concentração da delta-endotoxina de *Bacillus thuringiensis israelensis* na água.

A influência da temperatura sobre a ação de *Bacillus thuringiensis israelensis* e a susceptibilidade larval de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* também foram observados por Luz et.al.,<sup>79</sup> em algumas formulações da bactéria. As formulações testadas foram: Teknar e Vectobac (aquosas) e Mosquito Bits e Mosquito Dunks (granuladas). Os testes foram realizados em larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti*, criadas em condições de laboratório. Quanto à avaliação da susceptibilidade larval das duas espécies o produto utilizado foi uma formulação granulada Vectobac G. Os bioinseticidas estudados demonstraram ter um efeito residual alto em ausência de luz tanto em água poluída como em água limpa. Todavia, houve uma queda da ação em Vectobac, formulação líquida em água poluída após 120 e 150 dias. Passado 330 dias de estudo, o produto Teknar apresentou alta mortalidade (maior ou igual a 90%) e Mosquito Bits (maior ou igual a 92,50%). Em larvas de 3º estágio de *Aedes aegypti* houve uma redução nítida de mortalidade em Vectobac (0%) e Mosquito Dunks (30%) em água poluída. As duas populações de *Aedes* testadas, foram susceptíveis ao Vectobac G.

Formulações em tabletes também foram avaliadas sob o efeito da luz solar por Santos et.al.,<sup>80</sup> (2001), onde os autores utilizaram a formulação de *Bacillus*

*thuringiensis israelensis* (C4P1). Os testes foram realizados em simulações de campo com larvas de 3º estágio. Neste estudo a mortalidade inicial alcançou de 93 a 100% com um efeito residual maior ou igual a 70% por 13-35 dias em recipientes expostos à luz solar e 40-54 dias em recipientes sombreados.

Quanto à eficácia e a persistência de *Bacillus thuringiensis israelensis*, Santos <sup>81</sup> (2001), testou formulações sólidas Vectobac G e em tabletes em recipientes plásticos expostos ao sol e à sombra para verificar o efeito dos raios ultravioletas sobre a persistência dos produtos. Para ambas as formulações a mortalidade inicial foi de 100%, apresentando uma perda de aproximadamente 80% da atividade residual em recipientes expostos ao sol, 5 a 7 dias após o tratamento. Uma mortalidade superior a 70% foi observada para a formulação em tabletes, por um período de 20 dias em recipientes à sombra.

Silveira e cols., <sup>82</sup> avaliaram o efeito residual do *Bacillus thuringiensis israelensis* (Vectobac G) em condições de campo, em recipientes como caixas d'água, pneus, vasos sanitários e tambores com exposição ou não a luz solar. Nas caixas d'água a mortalidade máxima de 100% perdurou por 22 dias (ambiente interno) e 29 dias (ambiente externo), nos vasos sanitários a mortalidade de 100% foi observada por um período de 9 a 14 dias; nos tambores de 9 a 10 dias e em pneus por até 28 dias, após a aplicação do produto.

Ainda sobre o efeito residual de *Bacillus thuringiensis israelensis*, Sebba et.al., <sup>83</sup> testou algumas formulações aquosas (Vectobac e Teknar) e granuladas (Mosquito Bits e Mosquito Dunks) nas dosagens recomendadas pelos produtores em larvas de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Os experimentos foram realizados em depósitos com água limpa (água destilada) e poluída (água destilada

acrescida de lodo). A concentração final de lodo foi de 0,33%. Todos os quatro produtos levaram a uma alta mortalidade nas duas espécies testadas durante 35 dias, independente da natureza da água. Todas as larvas morreram após 24 horas de aplicação dos produtos, porém em Mosquito Dunks, a mortalidade 24 horas após aplicação do produto foi muito reduzida durante os primeiros 25 dias de experimento, principalmente em água poluída.

Outro aspecto importante sobre a ação letal de *Bacillus thuringiensis israelensis* em larvas de *Aedes aegypti*, foi o estudo conduzido por Hare e Nasci<sup>84</sup> (1986), para verificar a influência da bactéria em larvas de 2º estágio em efeitos adversos como aumento na duração do desenvolvimento larval e diminuição no tamanho dos mosquitos adultos. Nenhum efeito evidente foi detectado em sobreviventes quando utilizadas dosagens suficientes para matar 50% da população de larvas nos grupos submetidos a tratamento. Entretanto, quando não for controlada a densidade larval e a competição pelo alimento\* for reduzida em virtude da mortalidade das larvas expostas ao Bti, há um aumento significativo no comprimento das asas da população de adultos que em estágio larval, foram submetidos à bactéria. A mortalidade residual foi observada em larvas que foram expostas ao Bti por 24 horas e depois removidas para habitat sem Bti. Observou-se também, que após 72 horas que as larvas foram removidas do Bti, houve uma mortalidade de 100%, indicando desta forma que o *Bacillus thuringiensis israelensis* tem um efeito residual mais extenso sobre as larvas de *Aedes aegypti*, após 24 horas de exposição.

Quanto ao último estágio na fase aquática (pupas), os larvicidas não têm demonstrado nenhum efeito sobre elas uma vez que as mesmas não se alimentam.

Um estudo conduzido por Khawaled e cols.,<sup>85</sup> mostrou que esta bactéria é capaz de induzir a morte da pupa de *Aedes aegypti* e de se reciclar a partir da carcaça resultante. Isto foi obtido pelo tratamento de 40 horas sincronizando o último estágio larval (4º) com a baixa dose de esporo (8000/ml). A fração de pupas mortas foi reduzida pela alta ou baixa concentração de esporo assim como pelo tratamento da população larval jovem ou velha (ambas de 4º estágio). Outro aspecto importante neste estudo é que por meio das carcaças das larvas mortas pelo *Bacillus thuringiensis israelensis* a bactéria tem condições de completar o seu ciclo de crescimento que corresponde às fases de germinação, crescimento vegetativo e esporulação. Desta forma as carcaças de larvas tratadas com esta bactéria tornam-se tóxicas para as larvas de *Aedes aegypti* uma vez que elas se alimentam das larvas em estado de putrefação.

Alguns pesquisadores têm estudado o efeito residual do Temephos e do *Bacillus thuringiensis israelensis* contra larvas de *Aedes aegypti*, utilizando diferentes metodologias e formulações de larvicidas. Cilek e cols.<sup>86</sup> (1991), avaliaram a concentração residual e eficácia do Abate 5CG (Concentrate Granules), Abate 4E (Emulsifiable) e Temephos técnico (puro), obtendo 100% de mortalidade durante seis semanas de testes.

Em um outro estudo, realizado por Anderson e cols.,<sup>87</sup> (1983), uma formulação de Temephos em pastilhas (pellets) foi testada em laboratório, resultando em uma mortalidade maior ou igual a 80%, até 80 dias de tratamento a 0.19ppm, 122 dias de tratamento a 0.38ppm e 150 dias de tratamento a 0.76ppm.

Novak e cols.<sup>88</sup>, em Porto Rico (1985), testaram formulações de Temephos (granular de 5% e 10%) e *Bacillus thuringiensis israelensis* em grânulos de espiga de

milho e cascas de coco molhadas, encontrando um controle de larvas de *Aedes aegypti*, em pneus de automóveis, que variou de 27 a 63 dias e de 61 a 134 dias, respectivamente dependendo do tamanho dos grãos. Grãos pequenos (2 a 3g) e grandes (3 a 5g). Em depósitos do tipo tambores com 167 litros, pedaços de casca de coco, apresentaram um controle de larvas que variou de 55 a 105 dias. Quanto ao *Bacillus thuringiensis israelensis*, este mostrou um controle de larvas em pneus de 19 a 33 dias e *Bacillus thuringiensis israelensis* briquets exibiu atividade larvicida em grandes recipientes de 26 a 78 dias. Resultados similares foram detectados por Var Essen e Herubree em 1980.

Em estudos para avaliar a susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao *Bacillus thuringiensis israelensis* e ao Temephos, Andrade e Modolo<sup>89</sup> detectaram que o larvicida biológico, apresentou uma  $LT_{50}$  variando de 4 para 6,5 horas exceto em larvas de 4º estágio. A diferença da susceptibilidade larval em diferentes estágios larvais, provavelmente se dá pela maior porcentagem de filtração do alimento em larvas de 4º estágio prematuras do que em larvas de 3º e 4º estágio mais velhas. Quanto ao Temephos, de acordo com as tentativas das dosagens diagnósticos propostas pela Organização Mundial de Saúde, não houve sobrevivência de larvas de *Aedes aegypti* exposta a 0,02mg/l de Temephos o que sugere uma possível resistência entre a população testada. Uma mistura dos dois larvicidas foi avaliada, provocando uma mortalidade de 50% uma hora mais cedo do que somente o larvicida químico e 3,3 horas mais cedo do que causada pela bactéria sozinha.

O *Bacillus thuringiensis israelensis* não causa danos ao meio ambiente, podendo ser utilizado sem qualquer restrição, tanto seu ingrediente ativo (toxina

biológica) quanto seu agente veicular (grão de milho), tornando-o um produto 100% biológico<sup>90</sup>.

Este produto não permanece no solo ou na água por muitos dias, pois sua ação ativa é eliminada em poucos dias<sup>90</sup>.

Quanto a sua toxicologia, o *Bacillus thuringiensis israelensis* sorotipo H14, não apresentou infecciosidade e patogenicidade em mamíferos<sup>91</sup>.

Em estudos para avaliar a toxicidade aguda em mamíferos, houve mortalidade só quando o mesmo foi injetado no abdômem ou no cérebro. Em um estudo administrado em ratos, a mortalidade foi de 79%, após uma única injeção no cérebro<sup>64</sup>.

Houve apenas um caso de efeitos adversos documentados em humanos. Este caso envolveu um pesquisador que acidentalmente se injetou com uma mistura de Bti<sup>64</sup>.

Existem relatos na literatura, quanto ao Vectobac<sup>\*</sup>, de algumas alergias como: irritação nos olhos e pele se houver contato direto com este agente, sem nenhum efeito agudo ou crônico<sup>92</sup>.

Quanto a possíveis populações resistentes ao *Bacillus thuringiensis israelensis*, alguns estudos têm mostrado que até o momento ainda não foi detectada resistência a este tipo de larvicida. Em estudo realizado na Alemanha, onde submeteu-se algumas populações de *Aedes vexans* em áreas distintas, ou seja, áreas que já foram tratadas com o *Bacillus thuringiensis israelensis* por mais de 10 anos e áreas que nunca receberam tratamento com este larvicida. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as áreas testadas.

Populações de áreas tratadas foram até mais susceptíveis que populações de áreas nunca tratadas com este larvicida biológico<sup>93</sup>.

Em um estudo realizado por Goldman e cols.,<sup>94</sup> na cidade de Geórgia, foram observadas uma população de laboratório e duas populações naturais, a fim de selecionar populações resistentes ao *Bacillus thuringiensis israelensis*. Foi observada uma pequena, mas estatisticamente significativa mudança na geração F15 de uma das populações naturais, após testar a LC 50 em 14 gerações.

O uso das toxinas de *Bacillus thuringiensis israelensis* propicia maior chance de não levar ao aparecimento de resistência se a toxina não for purificada, pois a mistura de toxinas funciona como uma mistura de inseticidas, tornando mais difícil a seleção de indivíduos resistentes ao produto<sup>95</sup>.

No final do ano 2000, a Coordenação Nacional do Programa de Erradicação do *Aedes aegypti* decidiu introduzir o uso do *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) nas áreas onde provavelmente possa existir algumas populações de *Aedes aegypti* resistentes aos organofosforados. A experiência do Brasil com o uso do Bti é muito limitada, mas em outros países, notadamente nos Estados Unidos da América (EUA), inúmeros estudos foram realizados. Ocorre que nos EUA, o Bti tem sido usado quase que exclusivamente em criadouros que estão fora do domicílio, pois as espécies alvo não fazem oviposição em criadouros domiciliares<sup>96, 97</sup>. Existem poucas publicações no mundo sobre o uso do Bti em depósitos presentes no interior do domicílio.

Na avaliação da eficácia de um larvicida, devemos distinguir entre efeito residual de um larvicida e tempo de reinfestação de um criadouro tratado por um larvicida. O tempo que um depósito leva para se reinfestar pelo *Aedes aegypti* após



ser tratado por uma substância que tem um alto poder larvicida depende de vários fatores, dentre eles está o seu poder residual e sua capacidade em atrair ou repelir as fêmeas para fazer oviposição. Alguns fatores já foram descritos que atraem ou repelem as fêmeas grávidas para fazer oviposição num determinado criadouro <sup>98, 99</sup>. Por exemplo, água de um criadouro que foi tratado com o methoprene, um hormônio regulador do crescimento que impede a evolução de larva para pupa, exerce uma ação repelente sobre fêmeas de *Aedes* na hora da oviposição <sup>98</sup>. Também já foi demonstrado que um criadouro em que larvas estão sob stress de falta de alimento e de superpovoamento não são também atrativos para as fêmeas de *Aedes* quando procuram um lugar para oviposição <sup>99</sup>.

Acreditamos que quando um determinado larvicida que foi colocado num criadouro atinge uma concentração que não é mais letal para 100% das larvas do *Aedes aegypti*, a sua ação repelente ou atrativa é um importante fator determinante da reinfestação deste criadouro.

Em uma pesquisa realizada no município de Marília em São Paulo, foi utilizada uma metodologia para monitorar a densidade do vetor nas áreas testadas, além do índice de Breteau. Foi montada uma rede de ovitrampas (armadilhas utilizadas para coletar ovos), aproximadamente 20 armadilhas por área. Uma área foi tratada com o *Bacillus thuringiensis israelensis* e a outra com o Temephos. Após o recolhimento das ovitrampas as mesmas foram remetidas ao laboratório para a realização da contagem dos ovos e tabulação dos dados por área. Os resultados desta pesquisa indicaram que houve uma diferença estatisticamente significativa entre a produção de ovos nas duas áreas tratadas. A área tratada com o Temephos

apresentou um número menor de ovos do que as áreas tratadas com o Bti ( $t=2,1$   $p=0,02$ )<sup>100</sup>.

A avaliação da eficácia de um larvicida e seu efeito residual é um importante indicador para a determinação dos ciclos de tratamento dos depósitos para o controle do *Aedes aegypti*.

Trabalhos anteriores têm feito menção à aplicação de *Bacillus thuringiensis israelensis* e Temephos<sup>5, 68, 100</sup> em depósitos sem renovação de água. A avaliação do efeito residual com renovação constante de água até o momento ainda não foi realizada em condições de laboratório.

Podemos definir como efeito residual, quando o ingrediente ativo é aplicado num determinado local e permanece em dosagens letais para um organismo alvo por um tempo prolongado que pode variar de algumas semanas a meses<sup>41</sup>.

Quanto a sua persistência, os larvicidas são classificados segundo a meia vida, que é o tempo necessário, após aplicado, para que tenha sua eficácia reduzida à metade (50%). As persistências classificam-se em: curta (até 90 dias), média (de 91 a 180 dias) e longa (maior que 180 dias)<sup>41</sup>.

Em nosso meio, a avaliação de eficácia a larvicidas não tem sido realizada de maneira sistemática. Com isto, neste trabalho objetivou-se, avaliar comparativamente o efeito residual de larvas de *Aedes aegypti* a diferentes larvicidas utilizados no Programa de Controle do *Aedes aegypti*.

## 1.17 JUSTIFICATIVA

Desde 1986, quando o *Aedes aegypti* foi detectado em Fortaleza/Ceará, o Programa de Controle desse vetor utilizou um larvicida químico do grupo dos organofosforados, conhecido como Temephos, apresentação comercial Abate G. Este produto foi utilizado durante vários anos sem que houvesse uma avaliação de sua eficácia quanto ao efeito residual em larvas de *Aedes aegypti*. Entretanto, no ano de 1999, ocorreu a introdução de outra apresentação comercial do Temephos, denominada Larvell G. A percepção empírica das equipes que atuavam nas atividades de campo era de que o efeito residual desta nova apresentação comercial seria diferente que o produto utilizado anteriormente (Temephos, apresentação comercial Abate G). Para avaliar qual seria o real efeito residual desta apresentação de Temephos recém introduzida, iniciamos um estudo experimental, visando verificar a ação deste larvicida sobre as larvas de *Aedes aegypti* em comparação com a formulação utilizada tradicionalmente, o Abate G. Denominamos esta fase da investigação como Etapa 1 do presente estudo.

Ao compararmos o desempenho dos dois tipos de organofosforados Temephos, nas formulações comerciais Abate G e Larvell G, observamos diferença entre os produtos quanto ao seu efeito residual, conforme será mostrado posteriormente. Na ocasião, as observações não foram devidamente valorizadas e não provocaram nenhuma alteração no Programa de Controle do *Aedes aegypti*, continuando o uso do larvicida Temephos (Abate G) nos trabalhos de campo.

No final do ano de 2000, a gerência nacional do programa de controle vetorial resolveu introduzir um larvicida biológico, o *Bacillus thuringiensis israelensis*, em substituição ao Temephos, em virtude de evidências sobre a presença de resistência a esse larvicida, em amostras de *Aedes aegypti* oriundas de algumas cidades do Ceará, inclusive da grande Fortaleza. Demos então início a estudo laboratorial onde, em um primeiro momento, avaliamos isoladamente o efeito residual do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentação comercial Vectobac G). Em seguida, decidimos fazer uma análise comparativa do efeito residual do Temephos (apresentação comercial Abate G) e do *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentação comercial Vectobac G). Esses ensaios laboratoriais foram denominados Etapa 2, na presente investigação. Como será mostrado, ocorreram também diferenças entre os larvicidas estudados.

Resolvemos então, dado às diferenças observadas entre os diversos produtos testados nas Etapas 1 e 2 da investigação, principalmente em relação às duas apresentações comerciais do Temephos, realizar novo ensaio laboratorial comparando todos os larvicidas em uso recente e atual (ano de 2002) no Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza. Esse ensaio laboratorial foi denominado Etapa 3, na presente investigação. Os tipos de larvicidas testados neste experimento foram: Temephos, apresentações comerciais Abate G, Larvell G e Larvyn G; e *Bacillus thuringiensis israelensis*, apresentações comerciais Vectobac G e Vectobac WDG.

Em síntese, o trabalho foi desenvolvido em três etapas sucessivas, em condições de laboratório. Na primeira (Etapa 1), verificou-se o efeito residual sobre

larvas de *Aedes aegypti* de duas apresentações comerciais de Temephos. Em uma segunda etapa (Etapa 2), verificou-se o efeito residual sobre larvas de *Aedes aegypti* do *Bacillus thuringiensis israelensis* e de uma formulação comercial de Temephos. E na terceira etapa (Etapa 3), verificou-se o efeito residual sobre larvas de *Aedes aegypti* de duas formulações de *Bacillus thuringiensis israelensis* e de três formulações de Temephos, analisando desta forma simultaneamente diferentes produtos utilizados no Programa de Controle do *Aedes aegypti*, tanto os larvicidas químicos, como os biológicos.

Em todas as etapas desta investigação, optamos por utilizar o método de renovação de água nos recipientes usados nos testes laboratoriais, por ser mais similar aos tipos de depósitos considerados mais prevalentes para infestação pelo mosquito *Aedes aegypti* no município de Fortaleza, como por exemplo: caixas d'água, tambores, potes, cisternas e filtros<sup>101</sup>. Em alguns depósitos, como as caixas d'água, a renovação de água é muito intensa, devido ao uso contínuo pela população.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito residual do *Bacillus thuringiensis israelensis* e do Temephos, sobre larvas de *Aedes aegypti*, em recipientes com renovação de água.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

#### ETAPA 1

Avaliar, em condições de laboratório, o efeito residual de duas apresentações comerciais do larvicida químico Temephos, sobre larvas de *Aedes aegypti*, em recipientes com renovação de água.

#### ETAPA 2

Avaliar, em condições de laboratório, o efeito residual do larvicida biológico derivado do *Bacillus thuringiensis israelensis* e de uma formulação comercial do larvicida químico Temephos, sobre larvas de *Aedes aegypti*, em recipientes com renovação de água.

#### ETAPA 3

Avaliar comparativamente e simultaneamente, em condições de laboratório, o efeito residual de duas apresentações comerciais do larvicida biológico derivado do *Bacillus thuringiensis israelensis* e de três apresentações comerciais do larvicida químico Temephos, sobre larvas de *Aedes aegypti*, em recipientes com renovação de água.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MODELO DE ESTUDO E INFRA-ESTRUTURA LABORATORIAL

Foi realizada uma investigação experimental <sup>102</sup>, com o propósito de avaliar comparativamente o efeito residual de larvicidas usados no Programa de Controle do *Aedes aegypti*, conforme já referido. A investigação foi desenvolvida, em suas diversas etapas, no Laboratório de Entomologia da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) e da Célula de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetores da Secretaria de Saúde do Estado CETRAV/SESA (Etapas 1 e 2); e no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Ceará (U.F.C) – Departamento de Saúde Comunitária (Etapa 3). Estes Laboratórios possuem uma infra-estrutura completa, que serviu de suporte para todas as etapas desta pesquisa, desde a reprodução das larvas em laboratório até a formação do mosquito adulto.

#### 3.2 PROCEDIMENTOS PARA REPRODUÇÃO DE LARVAS EM LABORATÓRIO

Para a reprodução das larvas, utilizamos uma colônia de *Aedes aegypti*, originada de ovos coletados em campo, a partir de armadilhas ovitrampas, no município de Fortaleza (bairros Jardim Iracema, Quintino Cunha, Montese, Bela Vista, Papicu, Aldeota, Centro) e no município de Caucaia. Esses ovos foram submetidos a desenvolvimento no Laboratório de Entomologia da FUNASA, onde expandimos a colônia que produziu diversas gerações de larvas utilizadas nos testes

laboratoriais. Para isto, realizamos os seguintes procedimentos: após a eclosão dos ovos, as larvas foram mantidas em bandejas plásticas. Posteriormente, foram acompanhadas até o desenvolvimento de pupas (última fase aquática), onde foram coletadas manualmente com auxílio de pipetas plásticas e transferidas para beckers de 50 ml e então acondicionadas em gaiolas de madeira devidamente teladas. Após a emergência dos adultos, os mesmos foram alimentados com uma solução açucarada a 10% (alimentação de machos e fêmeas) e alimentação sangüínea para as fêmeas, dando início a oviposição em laboratório. Para a alimentação sangüínea, foram oferecidas codornas, mantidas em um biotério próximo ao laboratório. Para dar início à coleta dos ovos, utilizamos depósitos de coloração escura (âmbar), já que os mesmos possuem uma ação atrativa para as fêmeas de *Aedes aegypti*<sup>25</sup>. Nestes vidros colocamos papel de filtro aderido à parede do depósito para dar início a coleta dos ovos<sup>24</sup>. Após a coleta dos ovos, colocamos estes papéis para secar por processo de evaporação natural.

Num segundo momento estes ovos foram colocados novamente em bandejas plásticas brancas com água para que as larvas pudessem então eclodir. Após a eclosão, as mesmas foram alimentadas com carne de soja triturada. Este tipo de alimento, após experiências em laboratório, apresentou bons resultados quanto ao desenvolvimento larvário, sem prejudicar a nitidez da água<sup>103</sup>. Estas larvas foram acompanhadas até o terceiro estágio, quando foram encaminhadas para os testes em laboratório. Durante o desenvolvimento das larvas era verificada a temperatura da água.



### 3.3 APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DOS LARVICIDAS

O Temephos pertence ao grupo dos organofosforados na forma granulada a 1%. Deve ser aplicado nos depósitos com a finalidade de obter-se a concentração de uma parte por milhão, ou seja, um grama de ingrediente ativo em um milhão de milímetros de água (1ppm), que representa 1000 litros de água <sup>104</sup>. O Temephos apresenta várias apresentações comerciais, sendo que as utilizadas pelo programa de controle vetorial no Brasil são os produtos denominados Abate G, Larvell G e Larvyn G <sup>16</sup>.

O *Bacillus thuringiensis israelensis* é uma bactéria que produz uma toxina altamente eficaz contra insetos. Esta bactéria ao esporular, produz cristais paraesporais formados pela glicoproteína delta-endotoxina <sup>105</sup>. A toxina gerada pelo *Bacillus thuringiensis israelensis* é liberada gradualmente em contato com a água, onde alimenta as larvas, matando-as por intoxicação digestiva <sup>90</sup>. Existem no mercado diversas apresentações comerciais do *Bacillus thuringiensis israelensis* sorotipo H14, denominadas Vectobac, Bactimos, Teknar, Skeetal etc, de acordo com a empresa ou país de origem <sup>91</sup>. Os mais utilizados pelo programa de controle vetorial são o Vectobac G e o Vectobac WDG.

O Vectobac G apresenta-se sob forma de grãos de milho triturados uniformemente e cobertos pelo ingrediente ativo <sup>90</sup>. O Vectobac WDG apresenta-se sob a forma de pó, onde WDG significa “grânulo que dispersa na água” (Water Dispersable Granulate) <sup>106</sup>.

As apresentações comerciais avaliadas neste estudo foram aquelas em uso, atual e recente, no programa de controle vetorial em Fortaleza. As amostras de larvicidas usadas foram obtidas junto à gerência regional e nacional do programa de controle do *Aedes aegypti*, a partir dos lotes disponibilizados para uso no trabalho de campo. Foram elas: Larvell 10 - G (Temephos – 1%); Larvyn 1 - G (Temephos – 1%); Abate 1 - G (Temephos – 1%); Vectobac – WDG (*Bacillus thuringiensis subsp.israelensis*, sorotipo H14 – em pó); Vectobac G (*Bacillus thuringiensis subsp.israelensis*, sorotipo H14 – em grânulos de sabugo de milho).

Para efeito de descrição dos experimentos, a partir de agora, no texto da presente investigação, optamos por utilizar códigos em substituição ao nome comercial dos larvicidas usados nos testes laboratoriais. Os códigos de identificação usados foram: apresentação comercial A (correspondente ao Abate G); apresentação comercial B (correspondente ao Larvell G), apresentação comercial C (correspondente ao Larvyn G), apresentação comercial D (correspondente ao Vectobac G) e apresentação comercial E (correspondente ao Vectobac WDG).

### **3.4 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DE 2 APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA**

Com base nos procedimentos contidos no documento da Organização Mundial de Saúde/OMS <sup>107</sup> sobre testes de susceptibilidade larval, os ensaios realizados em laboratório seguiram metodologia que se segue.

Foram utilizados, numa primeira etapa, depósitos de vidro (beckers de 400ml) com água de torneira para a apresentação comercial B e, numa segunda etapa, para facilidade operacional, beckers de 1000 ml para a apresentação

comercial A. Para cada apresentação comercial testada usamos 8 beakers, onde foram adicionadas no primeiro dia de cada experimento uma dosagem do larvicida de acordo com o indicado pelo programa de controle. Para a apresentação comercial B (0,04g) e para a apresentação comercial A (0,1g). Em outros 4 beakers não foram adicionados larvicidas (controles). A cada dia, os depósitos eram esvaziados com o auxílio de mangueiras plásticas, permanecendo um volume residual (de 100ml – apresentação comercial B e de 200 ml – apresentação comercial A) para garantir a presença dos larvicidas, sendo em seguida adicionada nova água (sem reposição dos larvicidas). A seguir, em cada becker, foram introduzidas diariamente 20 larvas de *Aedes aegypti*. Estas larvas permaneciam nos beakers por 24 horas, quando era feita a leitura do número de indivíduos mortos, indicador do efeito residual dos larvicidas. O tempo de observação do experimento com a apresentação comercial B foi de 56 dias, e da apresentação comercial A, foi de 29 dias. A variável de estudo foi o percentual de mortalidade diária.

Para avaliação da mortalidade diária, calculamos a média de mortalidade, através da soma das mortalidades em cada um dos beakers utilizados nos ensaios laboratoriais e dividimos pelo total de larvas em todos os beakers. Os lotes de larvicidas usados nos dois experimentos eram os que estavam disponíveis no momento no programa de controle vetorial em Fortaleza.

### **3.5 ETAPA 2: AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO TEMEPHOS COM UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS* (Bti) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA**

Inicialmente, realizamos um ensaio laboratorial com o larvicida biológico D (*Bacillus thuringiensis israelensis*). Para este experimento, seguimos a seguinte metodologia: foram utilizados 02 filtros com 10 l de água da torneira que serviram de controles. Em cada um, foram introduzidas 100 larvas de terceiro estágio da espécie *Aedes aegypti*, totalizando 200 larvas. Em outros 06 filtros com 10 l de água da torneira foram introduzidas também 100 larvas de terceiro estágio da espécie *Aedes aegypti* e a dose de 0,2 g do larvicida D em cada um dos filtros, totalizando mais 600 larvas. O processo de esvaziamento dos filtros tratados foi realizado com auxílio de uma mangueira plástica permanecendo um volume de 2 l de água nos filtros e acrescido nova água. Os esvaziamentos foram realizados em dias consecutivos, com exceção dos domingos. A leitura dos testes foi realizada diariamente, exceto às segundas-feiras, pois no domingo não eram adicionadas novas larvas para o teste. A cada leitura eram trocadas as larvas dos filtros tratados e dos controles. As larvas foram retiradas com auxílio de pesca-larvas, pipetas plásticas e uma lanterna de três elementos. O tempo de observação deste experimento foi de 57 dias.

O teste subsequente comparou simultaneamente o larvicida biológico D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) com o larvicida químico A (Temephos). Foram utilizados 08 (beckers) de 1.000ml com água de torneira para cada larvicida e dosagem de acordo com o indicado pelo programa de controle: para a apresentação comercial D (0,02g) e para a apresentação comercial A (0,1g). Em cada becker, foram introduzidas diariamente 25 larvas de terceiro estágio, totalizando 400 larvas. Nos outros 08 beckers de 1.000ml que serviram de controles, foram introduzidas também 25 larvas, totalizando 200 larvas. Os controles foram os mesmos para os dois larvicidas, já que o experimento foi realizado simultaneamente entre ambas

apresentações comerciais. Todos os dias os depósitos eram esvaziados com auxílio de mangueiras plásticas permanecendo um volume residual de água de 200ml. Após os esvaziamentos era acrescida nova água até atingir o volume de 1.000 ml. As leituras também foram diárias com período de 24 horas através da contagem do número de larvas mortas, indicador do efeito residual dos larvicidas. O tempo de observação deste experimento foi de 39 dias. A variável de estudo foi o percentual diário de mortalidade de larvas.

Para avaliação da mortalidade diária, calculamos a média de mortalidade, através da soma das mortalidades em cada um dos beckers utilizados nos ensaios laboratoriais e dividimos pelo total de larvas em todos os beckers. Os lotes de larvicidas usados nos dois experimentos eram os que estavam disponíveis no momento no programa de controle vetorial em Fortaleza.

### **3.6 ETAPA 3: AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE 3 APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS E DE 2 APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA**

Os larvicidas testados nesta etapa foram: Temephos (aqui denominadas apresentações comerciais A, B e C) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentações comerciais D e E). Para cada apresentação comercial dos larvicidas foram utilizados 08 beckers de 1.000ml com água de torneira e dosagem dos larvicidas de acordo com o indicado pelo programa de controle. As dosagens utilizadas foram: Temephos, apresentações comerciais A, B e C (0,1g); B.t.i, apresentação comercial D (0,02g) e apresentação comercial E (0,002g). Em cada becker, foram introduzidas diariamente 25 larvas de terceiro estágio, provenientes da

colônia do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal do Ceará, totalizando 1.000 larvas. Em outros 04 beckers sem larvicidas (controles) foram introduzidas 25 larvas, totalizando 100 larvas. Todos os dias os depósitos eram esvaziados através de mangueiras plásticas deixando um volume residual de 200ml. Após os esvaziamentos, era acrescida nova água até atingir o volume de 1.000ml. Diariamente eram contados o número de larvas mortas, indicador do efeito residual dos larvicidas. A cada leitura eram trocadas as larvas dos beckers tratados e dos controles. As larvas foram retiradas com auxílio de pipetas plásticas. O período de observação deste experimento foi de 102 dias. A variável de estudo foi o percentual diário de mortalidade de larvas.

Para avaliação da mortalidade diária, calculamos a média de mortalidade, através da soma das mortalidades em cada um dos beckers utilizados nos ensaios laboratoriais e dividimos pelo total de larvas em todos os beckers. Os lotes de larvicidas usados neste experimento foram fornecidos pela Gerência Nacional do Programa de Controle, pois as apresentações comerciais A e B não estavam em uso no momento pelo programa de controle vetorial em Fortaleza.

Para a análise desta última etapa, usamos alguns indicadores como, Risco Relativo (RR), objetivando estudar a relação existente entre os larvicidas. Para efetuarmos o cálculo, utilizamos o percentual de mortalidade (risco de mortalidade de larvas) expostas ao larvicidas (razão entre dois riscos) <sup>102</sup> em intervalos de tempo selecionados. Também usamos um modelo de regressão logística, onde aplicamos o teste “logit Logit estimates” do programa Stata versão 6.0 <sup>108</sup> para calcularmos a razão de chances (odds ratio). Neste caso, a variável dependente foi a proporção de

larvas mortas e as variáveis independentes foram o tipo de larvicida e o tempo de observação.

Procuramos também avaliar o efeito residual dos larvicidas, utilizando como um dos indicadores de referência, o tempo equivalente ao período de um ciclo de tratamento.

Neste aspecto, embora inicialmente o Programa de Controle do *Aedes aegypti*, tradicionalmente, recomendasse realizar o tratamento focal a cada três meses (90 dias), sempre obedecendo ao efeito residual do inseticida utilizado<sup>104</sup>, e posteriormente em 2001, em ciclos bimensais<sup>16</sup>, constatou-se que, no período estudado, o Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza/CE vinha realizando o tratamento focal dos depósitos em ciclos de aproximadamente 40 dias (comunicação pessoal – Célula de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetores da Secretaria de saúde do Estado).

### 3.7 ESQUEMA PARA A REALIZAÇÃO DOS TESTES EM LABORATÓRIO

#### BECKERS UTILIZADOS COMO TESTES

PRODUTO: *Bacillus thuringiensis israelensis*

(8 beckers para cada produto)

VOLUME DOS BECKERS: 1000ml

DOSAGEM DO LARVICIDA: 0,02g (D)

DOSAGEM DO LARVICIDA: 0,002g (E)

#### BECKERS CONTROLES

Ana Cláudia Ferreira Regazzi – Avaliação do Efeito Residual e da Mortalidade de Larvas de *Aedes aegypti* Expostas ao *Bacillus thuringiensis israelensis* e ao Temephos

1

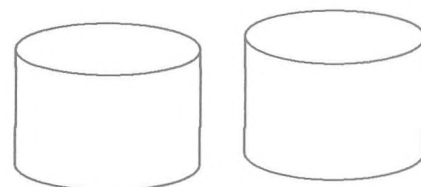
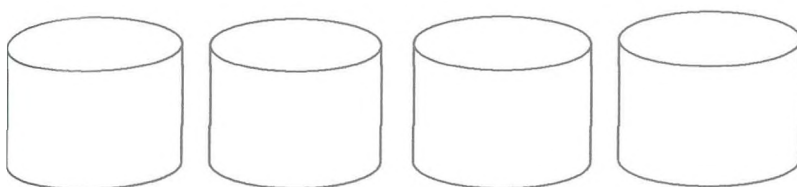
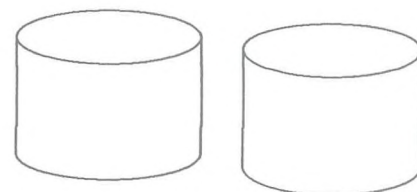
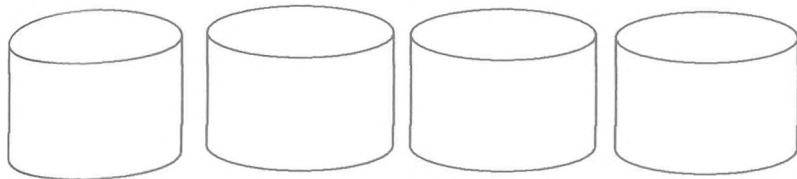
2

3

4

1

2



5

6

7

8

3

4

25 Larvas de 3º estágio da espécie *Aedes aegypti* em cada Becker.

### ESQUEMA PARA A REALIZAÇÃO DOS TESTES EM LABORATÓRIO

BECKERS UTILIZADOS COMO TESTES

BECKERS CONTROLES

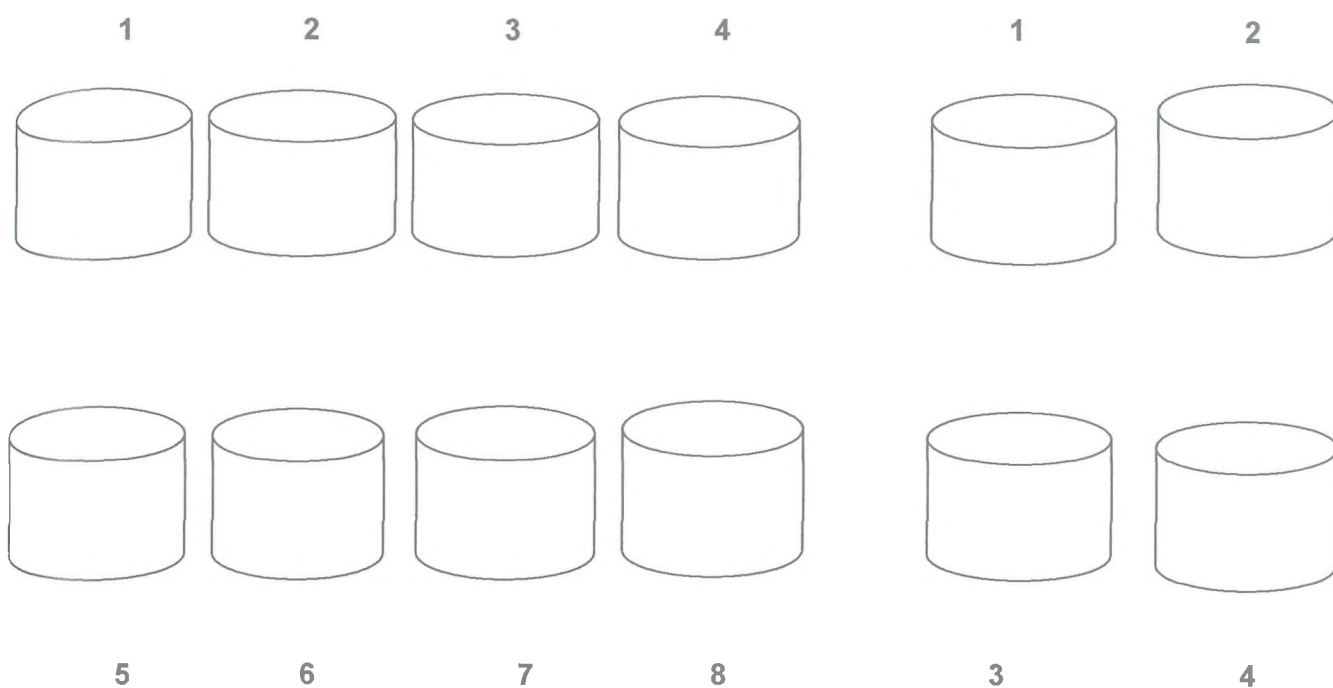
PRODUTO: Temephos (8 beakers p/produto

(A, B, C)

VOLUME DOS BECKERS: 1000ml

DOSAGEM DO LARVICIDA: 0,1g





25 Larvas de 3º estágio da espécie *Aedes aegypti* em cada Becker

Nos bioensaios realizados em laboratório, foram utilizadas larvas de 3º estágio, porque após vários testes realizados com larvas de diferentes estádios, os mesmos demonstraram que existe uma diferença na susceptibilidade destas larvas. Por exemplo, em estudos realizados por Mulla <sup>76</sup> (1990), as larvas de 1º estágio sofreram níveis mais altos de mortalidade. Foram realizados testes com diversas espécies de mosquitos e em todas, as larvas mais jovens foram mais susceptíveis que as mais desenvolvidas. Geralmente, as larvas de 4º estágio (último estágio larval), alimentam-se menos ou deixam de se alimentar, sendo por isso menos susceptíveis a doses letais em um período curto de tempo. As pupas são refratárias aos larvicidas por não se alimentarem e conseqüentemente não ingerirem as partículas tóxicas dos produtos. É aconselhável usar larvas de 3º estágio, as de 4º estágio e pupas não devem ser utilizadas em testes laboratoriais.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 ETAPA 1

#### AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS (A e B) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

A Etapa 1 do estudo constituiu-se da comparação do efeito residual de duas apresentações comerciais do larvicida químico Temephos, denominadas A e B, sobre larvas de *Aedes aegypti*. Esta etapa foi desenvolvida em duas fases seqüenciais, conforme se segue: em um primeiro momento, foi avaliada a apresentação comercial B, em um experimento que teve a duração de 56 dias; em seguida, foi avaliada a apresentação comercial A, em outro experimento, com duração de 29 dias.

Na Tabela 1 mostramos a mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A, em alguns períodos dos 29 dias de desenvolvimento do experimento. Os resultados diários completos desse experimento podem ser vistos no Anexo 1. No Gráfico 1, podemos acompanhar a evolução diária daquela mortalidade em todo o período desse ensaio. Já na Tabela 2, mostramos as médias e as medianas de mortalidade, com os respectivos períodos de exposição, referentes aos mesmos dados, agora agrupados em diferentes categorias de mortalidade. Para essa última análise, tomou-se como referência para a

categorização, a amplitude de variação do percentual de mortalidade de larvas com comportamento mais homogêneo, contornando-se dessa forma flutuações aleatórias, ou devidas a artefatos, possíveis quando da análise através da evolução diária. As categorias de mortalidade arbitrariamente definidas em relação a este experimento em particular foram: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (mortalidade de 98,75 a 98,13%); mortalidade intermediária (mortalidade de 72,50 a 68,13%); mortalidade baixa (mortalidade de 36,88 a 21,88%); mortalidade muito baixa (mortalidade de 11,25 a 8,13%).

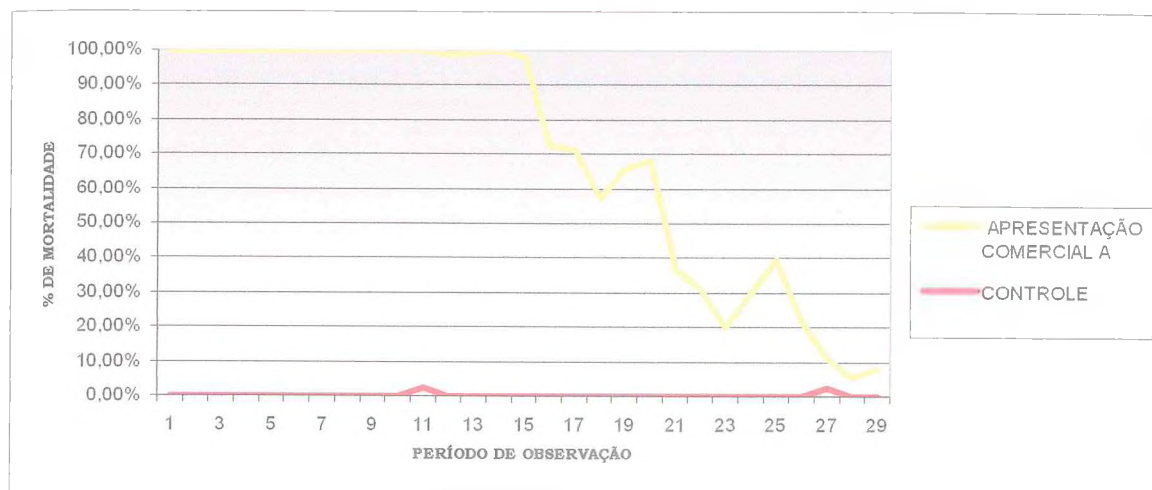
**Tabela 1**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas		% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	Nº	
1	160	0	160		100
6	160	0	160		100
11	160	0	160		100
12	160	2	158		98,75
13	160	1	159		99,38
14	160	0	160		100
15	160	3	157		98,13
16	160	44	116		72,5
21	160	101	59		36,88
26	160	125	35		21,88
28	160	151	9		5,63

**Gráfico 1**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo



**Tabela 2**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	100,00	100,00	1-----11
98,75-----98,13 (alta)	99,06	100,00	12-----15
72,50-----68,13 (intermediária)	67,00	57,50	16-----20
36,88-----21,88 (baixa)	29,89	30,00	21-----26
11,25-----8,13 (muito baixa)	8,33	5,63	27-----29

A análise conjunta dos dados mostra que a apresentação comercial A obteve um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores entre 100,00 a 5,63%, nos 29 dias de desenvolvimento desse experimento.

Observamos que, inicialmente, ocorreu uma mortalidade de larvas de 100,00% durante os primeiros 11 dias, duração um pouco superior a uma semana.

Em torno de duas semanas, esta apresentação comercial mostrou ainda uma mortalidade elevada, de 98-99,00% (entre 12 e 15 dias, a mortalidade média foi de 99,06%, com mediana de 100,00%). Com 20 dias, tempo que corresponde a aproximadamente 3 semanas, o percentual de mortalidade de larvas reduziu-se para 68,13% (entre 16 e 20 dias, a mortalidade média era de 67,00%, com uma mediana de 57,50%). Cerca de uma semana depois, aos 26 dias de observação, a mortalidade de larvas reduziu rapidamente para 21,88% (entre 21 e 26 dias, a mortalidade média de larvas correspondente ao período foi de 29,89%, com mediana de 30,00%). Finalmente, aos 29 dias, quando o experimento foi interrompido devido ao baixo efeito residual observado, já que a mortalidade de larvas havia decrescido para apenas 8,13% (entre 27 e 29 dias, a mortalidade média de larvas era de 8,33%, com mediana de 5,63%).

Observamos, dessa forma, que esta apresentação comercial mostrou um efeito residual muito baixo antes mesmo (29 dias) do período de tempo muito inferior ao correspondente a um ciclo de tratamento dos depósitos no Programa de Controle Vetorial em Fortaleza, que é de 40 dias.

Nos testes controles, o padrão de mortalidade foi de baixa intensidade, com uma mortalidade máxima observada de 2,50% (ver Anexo 1).

Em relação à apresentação comercial B podemos observar, na Tabela 3, o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a esse larvicida em alguns períodos dos 56 dias de observação (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 2). No Gráfico 2, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Já na Tabela 4 agrupamos esses dados em diferentes categorias de mortalidade, conforme já referido anteriormente. As categorias de mortalidade em relação a este experimento foram definidas como: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (98,75 a 93,12%); mortalidade intermediária (mortalidade de 85,62 a 81,25%); mortalidade baixa (mortalidade de 56,25 a 54,37%).

Tabela 3

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo de exposição.

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	160	0	160	100
6	160	0	160	100
11	160	0	160	100
16	160	0	160	100
17	160	0	160	100
21	160	3	157	98,12
25	160	7	153	95,62
26	160	4	156	97,5
30	160	11	149	93,12
31	160	23	137	85,62
36	160	32	128	80
40	160	28	132	82,5
46	160	30	130	81,25
51	160	84	76	47,5
55	160	26	134	83,75
56	160	73	87	54,37

Gráfico 2

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo

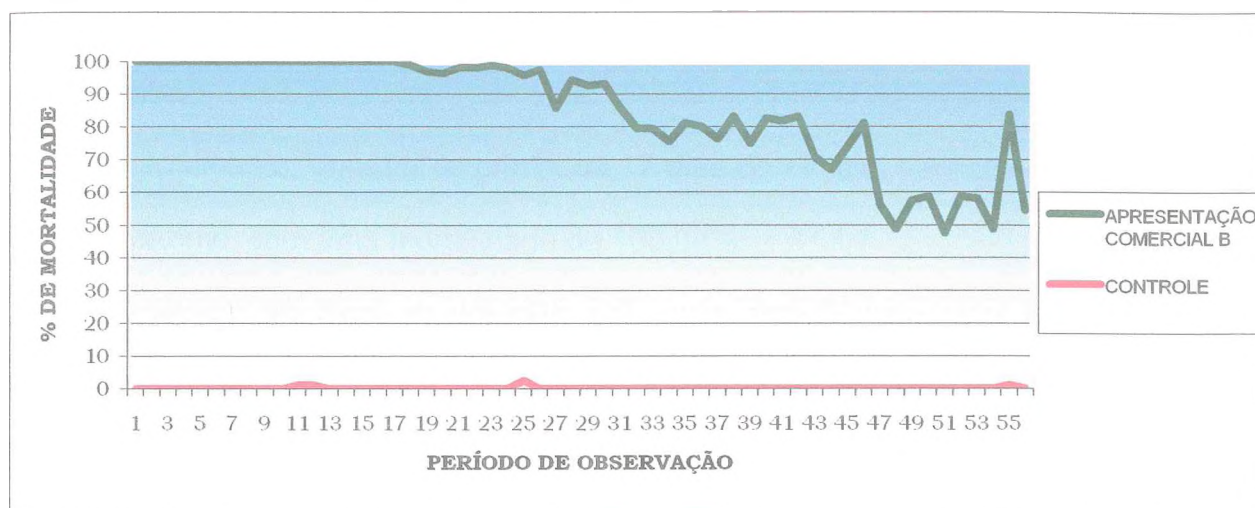


Tabela 4

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial B (Temephos) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade (%)	Média (%)	Mediana (%)	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	100,00	100,00	1-----17
98,75-----93,12 (alta)	95,67	98,12	18-----30
85,62-----81,25 (intermediária)	78,47	75,00	31-----46
56,25-----54,37 (baixa)	57,24	58,75	47-----56



Observamos, a partir desse conjunto de dados, que a apresentação comercial B mostrou um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores extremos entre 100,00 e 47,50%, nos 56 dias de desenvolvimento do experimento.

Inicialmente, durante os primeiros 17 dias do ensaio, verificou-se o efeito residual máximo, com uma mortalidade de 100,00%.

A seguir, em torno de um mês, esta apresentação comercial apresentou uma mortalidade em patamares ainda elevados, cerca de 93,12% (entre 18 e 30 dias, a mortalidade média era de 95,67%, com mediana de 98,12%).

Aos 46 dias do estudo, intervalo de tempo que corresponde aproximadamente a um ciclo de tratamento de depósitos domiciliares no Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza/CE (cerca de 40 dias), esta apresentação ainda atingiu 81,25% de mortalidade (de 31 a 46 dias de observação, a mortalidade média atingiu um percentual de 78,47% de larvas, com uma mediana de 75,00%).

No final desse experimento, com 56 dias de acompanhamento, ou seja, quase 2 meses, o percentual de mortalidade continuou acima de 50%, mais precisamente 54,37% (entre 47 e 56 dias de observação, a mortalidade média era de 57,24%, com uma mediana de 58,75%).

Nos testes controles, o padrão de mortalidade foi de baixa intensidade, com uma mortalidade máxima observada de 2,50% (ver Anexo 2).

## 4.2

## ETAPA 2

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO TEMEPHOS (A) COM UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* (D) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA**

A Etapa 2 do estudo compreendeu a comparação de uma apresentação comercial do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (no caso o produto denominado apresentação comercial D), com uma apresentação comercial do larvicida químico Temephos (A). Esta etapa foi desenvolvida em duas fases sucessivas: em um primeiro momento, através de um experimento que durou 57 dias, foi estudado isoladamente o efeito residual da apresentação comercial D (Bti), por se tratar de um produto recentemente introduzido pelo programa de controle, do qual não se conhecia a eficácia na realidade de Fortaleza; em seguida, foram avaliados simultaneamente, em um mesmo experimento com duração de 39 dias, ambos os larvicidas citados (A e D).

Os resultados do experimento feito isoladamente com a apresentação comercial D são apresentados nas Tabelas 5 e 6 e no Gráfico 3. Assim, na Tabela 5, mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* em alguns períodos dos 57 dias de observação (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 3). No Gráfico 3, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Na Tabela 6 esses dados são agrupados em diferentes categorias de mortalidade, conforme procedimento analítico-descritivo já realizado anteriormente. As categorias de mortalidade definidas para este experimento foram: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (99,67 a 97,83%); mortalidade

intermediária (mortalidade de 92,33 a 75,83%); mortalidade baixa (mortalidade de 71,17 a 33,83%).

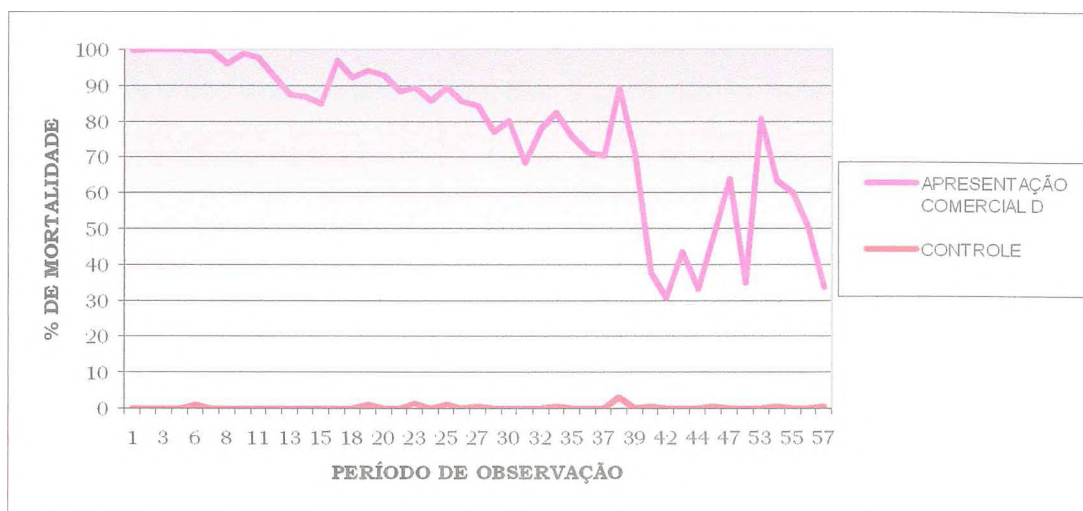
**Tabela 5**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	600	2	598	99,67
2	600	0	600	100
3	600	0	600	100
5	600	0	600	100
6	600	2	598	99,67
7	600	1	599	99,83
8	600	24	576	96
9	600	6	594	99
11	600	13	587	97,83
12	600	46	554	92,33
13	600	75	525	87,5
15	600	91	509	84,83
17	600	18	582	97
21	600	71	529	88,17
26	600	87	513	85,5
30	600	119	481	80,17
36	600	173	427	71,17
41	600	374	226	37,67
42	600	416	184	30,67
47	600	217	383	63,83
54	600	219	381	63,5
57	600	397	203	33,83

**Gráfico 3**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Tabela 6**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00* -----100,00 (máxima)	99,91	100,00	1-----5
99,67-----97,83 (alta)	98,46	96,00	6-----11
92,33-----75,83 (intermediária)	85,59	85,83	12-----35
71,17-----33,83 (baixa)	55,12	47,67	36-----57

\* exceto no dia 1

Verificamos que a apresentação comercial D mostrou um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores extremos entre 100,00 a 30,67%, nos 57 dias de desenvolvimento do experimento.

Observamos ainda que, nesta apresentação comercial, a mortalidade de larvas apresentou importantes oscilações a cada dia do experimento, evidenciando um comportamento muito instável desse larvicida em termos da tendência geral daquela mortalidade. Levantamos como hipótese provisória, para explicar este comportamento, a possibilidade de que possa haver cepas naturalmente resistentes a esta apresentação comercial nas amostras estudadas, já que o experimento foi realizado através da exposição de diversas gerações de larvas.

Nesta apresentação, o efeito residual máximo, ou seja, aquele que promoveu um percentual de mortalidade de 100,00%, ocorreu durante um período muito curto, somente nos primeiros 5 dias do experimento (exceto no primeiro dia, quando a mortalidade foi de 99,67%). Entretanto, até 11 dias de exposição, o percentual de mortalidade de larvas permaneceu muito elevado, acima de 97,00% (entre 1 e 11 dias, a mortalidade média de larvas era de 99,11%, com mediana de 99,67%). O período seguinte, até 35 dias de experimento, mostrou um percentual de mortalidade de larvas ainda elevado, embora com grandes flutuações, atingindo 75,83% no 35º dia (entre 12 e 35 dias, a mortalidade média das larvas era de 85,59%, com uma mediana de 85,83%). No período correspondente aproximadamente a um ciclo de tratamento dos depósitos no Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza, esta apresentação comercial mostrou um efeito residual de 37,67% (41 dias). E, finalmente, com 57 dias, momento em que o experimento foi interrompido, a mortalidade média de larvas era de 33,83% (entre 36

e 57 dias, a mortalidade média de larvas era de 55,12%, com uma mediana de 47,67%).

Nos testes controles, o padrão de mortalidade foi de baixa intensidade, com uma mortalidade máxima observada de 7,00% (ver Anexo 3).

Na seqüência do experimento acima descrito, foram então comparados, simultaneamente, a apresentação comercial A com a apresentação comercial D. Apresentaremos os resultados deste experimento primeiro isoladamente para cada larvicida, para depois apresentá-los em conjunto.

Na Tabela 7 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A em alguns períodos dos 39 dias de desenvolvimento do experimento (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 4). No Gráfico 4, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Já na Tabela 8 agrupamos esses dados em diferentes categorias de mortalidade: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (96,00 a 74,50%); mortalidade intermediária (mortalidade de 56,00 a 51,00%); mortalidade baixa (mortalidade de 15,00 a 24,00%); muito baixa (16,00 a 1,00%).

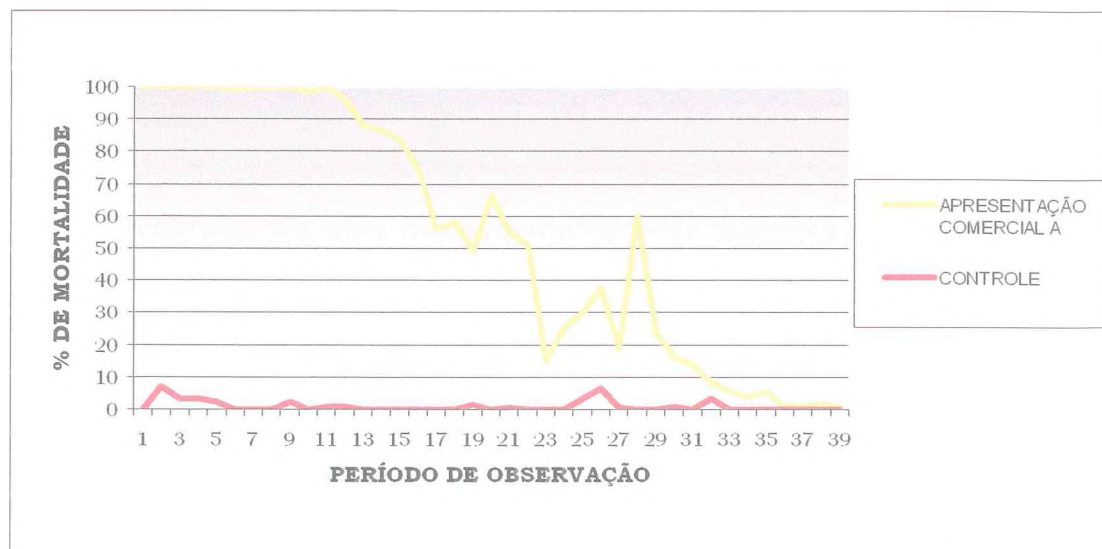
**Tabela 7**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
2	200	0	200	100
5	200	0	200	100
6	200	1	199	99,5
7	200	0	200	100
8	200	0	200	100
9	200	0	200	100
10	200	3	197	98,5
11	200	0	200	100
12	200	8	192	96
13	200	24	176	88
16	200	51	149	74,5
21	200	90	110	55
26	200	125	75	37,5
30	200	168	32	16
32	200	183	17	8,5
39	200	198	2	1

**Gráfico 4**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo

**Tabela 8**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	99,81	99,50	1-----11
96,00-----74,50 (alta)	85,70	86,50	12-----16
56,00-----51,00 (intermediária)	55,91	66,50	17-----22
15,00-----24,00 (baixa)	30,14	37,50	23-----29
16,00-----1,00 (muito baixa)	5,85	5,50	30-----39



Observamos que a apresentação comercial A mostrou um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores entre 100,00 a 1,00%, em apenas 39 dias de desenvolvimento do experimento.

O percentual máximo de mortalidade ocorreu durante os primeiros 11 dias do experimento - em geral de 100%, exceto no 6º e no 10º dias, com respectivamente 99,50% e 98,50% de mortalidade (entre 1 e 11 dias, a mortalidade média era de 99,81%, com mediana de 99,50%). Com 16 dias (cerca de duas semanas), a mortalidade de larvas foi de 74,50% (entre 12 e 16 dias, a mortalidade média era de 85,70%, com mediana de 86,50%). Aos 22 dias de observação, ou três semanas, esta apresentação comercial mostrou uma mortalidade de 51,00% (entre 17 e 22 dias, a mortalidade média era de 55,91%, com mediana de 66,50%). Aproximadamente com apenas um mês de experimento (29 dias), o percentual de mortalidade reduziu-se para 24% (entre 23 e 29 dias, a mortalidade média era de 30,14% e mediana de 37,50%). Ao final, aos 39 dias, período que corresponde aproximadamente a um ciclo de tratamento dos depósitos, quando o experimento foi interrompido, seu efeito residual foi de 1,00% (entre 30 e 39 dias, a mortalidade média era de 5,85%, com mediana de 5,50%). Nos testes controles a mortalidade máxima observada foi 7,00% (ver Anexo 4).

Na Tabela 9 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D em alguns períodos dos 39 dias de observação desse experimento (ver dados diários no Anexo 4). No Gráfico 5, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Os dados agrupados em diferentes categorias de mortalidade são mostrados na Tabela 10: mortalidade

máxima (mortalidade de 99,00%); mortalidade alta (98,50 a 93,00%); mortalidade intermediária (mortalidade de 88,50 a 82,50%); mortalidade baixa (mortalidade de 73,50 a 62,00%); muito baixa (26,00 a 2,50%).

**Tabela 9**

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo de exposição

ExperimentoDia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	2	198	99
2	200	0	200	100
6	200	3	197	98,5
8	200	7	193	96,5
10	200	14	186	93
11	200	23	177	88,5
13	200	20	180	90
15	200	7	193	96,5
16	200	48	152	76
20	200	27	173	86,5
21	200	30	170	85
24	200	81	119	59,5
26	200	108	92	46
30	200	148	52	26
32	200	157	43	21,5
36	200	192	8	4
38	200	196	4	2
39	200	195	5	2,5

**Gráfico 5**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo



**Tabela 10**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

<b>Categorias de mortalidade %</b>	<b>Média %</b>	<b>Mediana %</b>	<b>Período de observação (em dias)</b>
99,00-----99,00 (máxima)	98,50	97,50	1-----5
98,50-----93,00 (alta)	94,50	96,50	6-----10
88,50-----82,50 (intermediária)	83,62	78,00	11-----22
73,50-----62,00 (baixa)	55,21	46,00	23-----29
26,00-----2,50 (muito baixa)	11,65	12,00	30-----39

A apresentação comercial D mostrou um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores entre 100,00 a 2,00%, nos 39 dias de desenvolvimento do experimento.

Verificamos um percentual de mortalidade máxima de larvas, em torno de 99,00% , durante os primeiros 5 dias de desenvolvimento do experimento (entre 1 e 5 dias, a mortalidade média era de 98,50%, com mediana de 97,50%). Aos 10 dias, a mortalidade permanecia ainda em patamares elevados, com 93,00% (entre 6 e 10 dias, a mortalidade média era de 94,50% e mediana de 96,50%). Na terceira

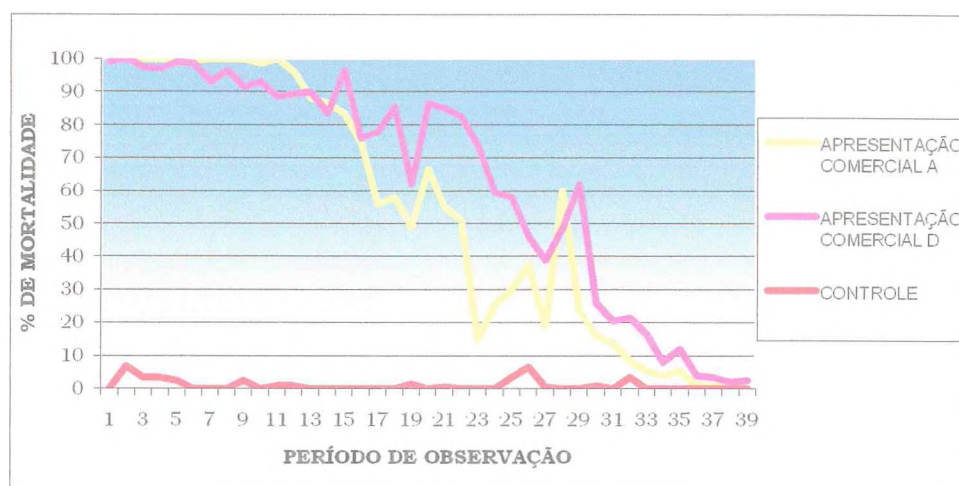
semana (22º dia de observação), esta apresentação comercial mostrou um percentual de mortalidade de 82,50% (entre 11 e 22 dias, a mortalidade média era de 83,62%, com mediana de 78,00%). Com cerca de um mês (29 dias), a mortalidade estava em 62,00%. Aos 39 dias de observação (período que corresponde aproximadamente a um ciclo de tratamento em Fortaleza), quando o experimento foi interrompido, seu efeito residual foi de 2,50% (entre 30 e 39 dias, a mortalidade média era de 11,65% e mediana de 12,00%).

Os testes controles foram os mesmos da apresentação comercial anterior, com uma mortalidade máxima observada de 7,00% (ver Anexo 4).

Em síntese, no Gráfico 6, podemos observar a evolução diária desse experimento em uma análise gráfica simultânea entre as duas apresentações comerciais A e D.

**Gráfico 6**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) e D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo



Observamos que a apresentação comercial A mostrou um efeito residual mais elevado e estável sobre as larvas de *Aedes aegypti* durante os primeiros 11 dias de observação, com valores, em geral, de 100,00% de mortalidade. Já a apresentação D, além de apresentar relativa variabilidade diária neste período, nunca alcançou de forma estável um patamar de mortalidade de 100,00%: sua mortalidade máxima, obtida até o quinto dia, foi de, em média, 98,50%; e sua mortalidade média entre o primeiro e o décimo primeiro dia, foi de 95,77%. Entretanto, a partir do 13º dia, a apresentação comercial D passou a apresentar maior eficácia que a apresentação comercial A, assim permanecendo até o final do de experimento: aos 20 dias, a mortalidade devida à apresentação comercial D foi

de 86,50%, enquanto era de 66,50% em relação à apresentação comercial A; com 30 dias de observação, o efeito residual da apresentação comercial D eliminou 26% das larvas, enquanto que a apresentação comercial A eliminou 16%. Porém, ambos eliminaram menos de 3% de larvas ao final de 39 dias de observação.

### 4.3

### ETAPA 3

#### **AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE TRÊS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS (A, B e C) E DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* (D e E) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA**

A Etapa 3 do estudo comparou simultaneamente, no mesmo procedimento experimental, três apresentações comerciais do larvicida químico Temephos (apresentações A, B e C) e duas apresentações comerciais do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentações D e E). Esse experimento foi desenvolvido durante 102 dias, em recipientes com renovação de água. Serão mostrados a seguir, isoladamente, os resultados obtidos com cada uma das apresentações comerciais testadas, para, posteriormente, realizar-se uma avaliação comparativa entre elas. Os testes controles foram os mesmos para os cinco tipos de apresentações comerciais, pois o experimento foi realizado de maneira simultânea. A mortalidade de larvas observada nos controles foi de baixa intensidade, com um percentual máximo de 7,00% (ver Anexo 9).

Na Tabela 11 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em alguns períodos dos 102 dias de observação (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 5). No Gráfico 7, podemos acompanhar a evolução diária da mortalidade devida à exposição a esta apresentação comercial. Já na Tabela 12, agrupamos



esses dados em diferentes categorias de mortalidade, segundo procedimento analítico padrão referido anteriormente. As categorias de mortalidade arbitrariamente definidas em relação a este experimento em particular foram: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (mortalidade de 95,50 a 86%); mortalidade intermediária (mortalidade de 55,50 a 40,50%); mortalidade baixa (mortalidade de 24,50 a 3,50%).

Tabela 11

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
17	200	0	200	100
18	200	2	198	99
19	200	0	200	100
20	200	9	191	95,5
21	200	30	170	85
23	200	89	111	55,5
24	200	41	159	79,5
26	200	119	81	40,5
30	200	99	101	50,5
31	200	125	75	37,5
33	200	73	127	63,5
36	200	56	144	72
38	200	65	135	67,5
40	200	120	80	40
45	200	102	98	49
48	200	138	62	31
50	200	87	113	56,5
52	200	157	43	21,5
55	200	113	87	43,5
59	200	93	107	53,5
60	200	113	87	43,5
63	200	96	104	52
65	200	64	136	68
68	200	104	96	48
70	200	150	50	25
75	200	177	23	11,5
80	200	145	55	27,5
85	200	189	11	5,5
86	200	195	5	2,5
90	200	171	29	14,5
95	200	170	30	15
100	200	177	23	11,5
102	200	193	7	3,5

Gráfico 7

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em relação ao tempo

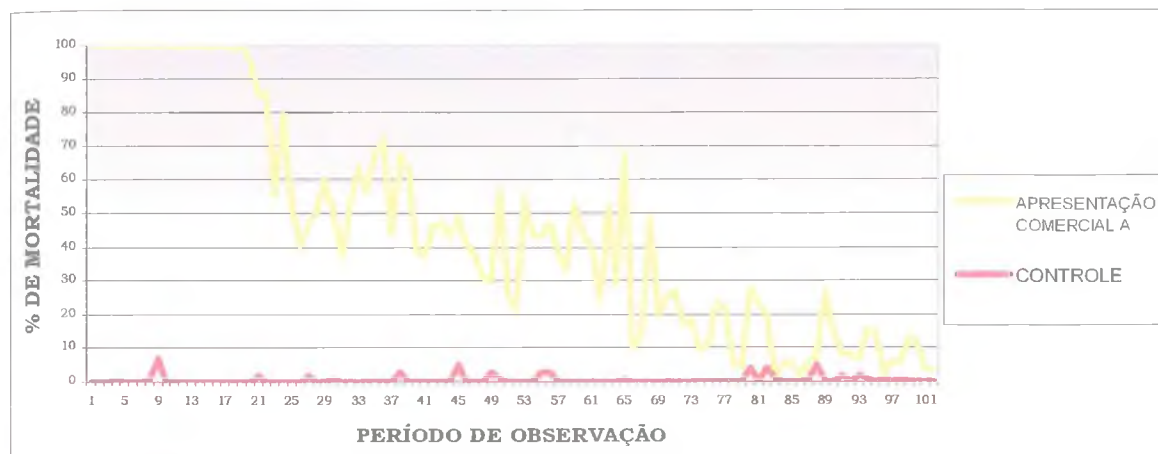


Tabela 12

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial A (Temephos) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	99,94	100,00	1-----19
95,50-----86,00 (alta)	88,83	85,00	20-----22
55,50-----40,50 (intermediária)	47,78	46,00	23-----61
24,50-----3,50 (baixa)	16,36	20,00	62-----102

A apresentação comercial A mostrou percentuais de mortalidade de larvas que variaram de valores entre 100,00 a 2,50%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento.

A mortalidade máxima, com eliminação total de larvas (100,00%), foi observada durante os primeiros 19 dias de observação. Entretanto, por um período muito curto, entre o 20º e 22º dias de teste laboratorial, esta apresentação comercial ainda mostrou valores relativamente elevados, embora com uma tendência à rápida redução na eficácia: com 20 dias de observação, a mortalidade foi de 95,50% e com 22 dias de experimento, o percentual de mortalidade reduziu-se para 86,00% (entre 20 e 22 dias, a mortalidade média era de 88,83%, com mediana de 85,00%). A partir daí, do 23º até 61º dia, houve uma intensa e continuada redução da mortalidade de larvas: ao completar 40 dias de experimento, intervalo de tempo que corresponde a um ciclo de tratamento, a mortalidade de larvas foi de 40% (entre 23 e 40 dias, a mortalidade média era de 55,58% com mediana de 53,00%); aos 61 dias, ou dois meses de observação, a mortalidade estava em 40,50% (entre 23 e 61 dias, a mortalidade média era de 47,78%, com uma mediana de 46,00%). No período final do experimento, entre 62 e 102 dias, este larvicida atingiu valores de mortalidade extremamente reduzidos: aos 90 dias, o efeito residual se encontrava em apenas 14,50% (entre 62 e 90 dias, a mortalidade média era de 19,65%, com mediana de 23,50%); e ao final do

experimento (102 dias), o percentual de mortalidade de larvas foi de 3,50% (entre 91 e 102 dias, a mortalidade média era de 8,41% e mediana de 6,00%).

Os resultados referentes à apresentação comercial B (Temephos) são mostrados a seguir. Na Tabela 13 apresentamos o percentual de mortalidade de larvas em alguns períodos dos 102 dias de observação (ver dados diários no Anexo 6). No Gráfico 8, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Na Tabela 14 apresentamos os mesmos dados agrupados em diferentes categorias de mortalidade. As categorias de mortalidade selecionadas para este larvicida foram: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade muito alta (mortalidade de 99,50 a 98,50%); mortalidade alta (93,00 a 90,00); mortalidade intermediária (mortalidade de 82,00 a 70,00%).

Tabela 13

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
39	200	0	200	100
40	200	1	199	99,5
41	200	2	198	99
42	200	1	199	99,5
43	200	0	200	100
44	200	1	199	99,5
45	200	0	200	100
46	200	3	197	98,5
47	200	0	200	100
48	200	12	188	94
49	200	7	193	96,5
50	200	3	197	98,5
53	200	7	193	96,5
56	200	2	198	99
58	200	14	186	93
60	200	18	182	91
61	200	3	197	98,5
65	200	0	200	100
69	200	6	194	97
70	200	11	189	94,5
72	200	36	164	82
75	200	14	186	93
80	200	24	176	88
83	200	48	152	76
85	200	57	143	71,5
88	200	33	167	83,5
90	200	19	181	90,5
93	200	25	175	87,5
95	200	18	182	91
98	200	43	157	78,5
100	200	83	117	58,5
102	200	60	140	70

Gráfico 8

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos) em relação ao tempo

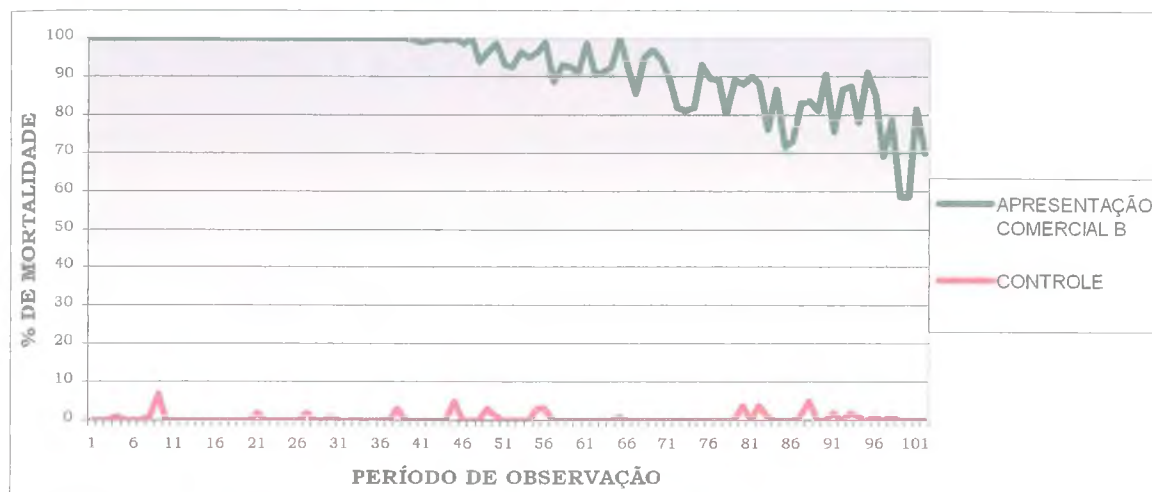


Tabela 14

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial B (Temephos) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00--100,00 (máxima)	100,00	100,00	1-----39
99,50-----98,50 (muito alta)	98,63	100,00	40-----50
93,00-----90,00 (alta)	93,52	98,50	51-----71
82,00-----70,00 (intermediária)	81,16	83,00	72-----102

A observação geral do desempenho desta apresentação comercial na mortalidade de larvas mostra valores que variaram entre 100,00 a 58,50%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento.

Durante os primeiros 39 dias, a mortalidade permaneceu no patamar máximo de 100,00%. A duração desse efeito residual máximo corresponde ao período de um ciclo de tratamento dos depósitos no Programa de Controle em Fortaleza. Na seqüência, entre 40 e 50 dias, esta apresentação comercial mostrou algumas pequenas variações no percentual de mortalidade, mas ainda atingindo patamares muito elevados. Assim, ao completar 50 dias de experimento, a mortalidade permanecia em 98,50% (entre 40 e 50 dias, a mortalidade média era de 98,63%, com mediana de 100,00%). No período seguinte a mortalidade manteve-se em níveis altos, com 90%, aos 71 dias (entre 51 e 71 dias, a mortalidade média era de 93,52%, com mediana de 98,50%). Finalmente, no período entre 72 e 102 dias de experimento, esta apresentação comercial mantinha ainda um bom efeito residual, com um valor de 70,00% aos 102 dias (entre 72 e 102 dias, a mortalidade média era de 81,16%, com mediana de 83,00%).

A terceira apresentação comercial do Temephos estudada foi à apresentação comercial C. Na Tabela 15 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a essa apresentação comercial em alguns períodos dos 102 dias de observação (no Anexo 7 mostramos os dados diários desse experimento). No Gráfico 9, mostramos a evolução diária desse



experimento. Na Tabela 16 agrupamos esses dados em diferentes categorias de mortalidade: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (mortalidade de 95,50 a 92,50%); mortalidade intermediária (mortalidade de 81,50 a 63,50%); mortalidade baixa (mortalidade de 50,50 a 41,50%).

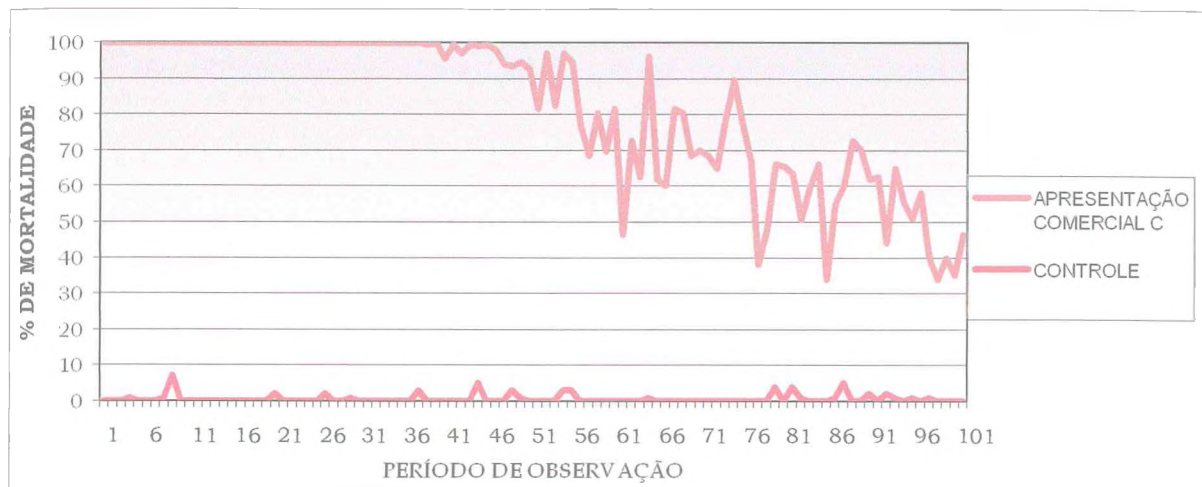
Tabela 15

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial C (Temephos) em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
38	200	0	200	100
39	200	1	199	99,5
40	200	0	200	100
41	200	9	191	95,5
42	200	1	199	99,5
43	200	6	194	97
44	200	1	199	99,5
45	200	2	198	99
46	200	1	199	99,5
47	200	4	196	98
50	200	11	189	94,5
54	200	35	165	82,5
55	200	6	194	97
59	200	39	161	80,5
60	200	61	139	69,5
63	200	55	145	72,5
65	200	8	192	96
68	200	37	163	81,5
70	200	63	137	68,5
74	200	43	157	78,5
75	200	21	179	89,5
76	200	45	155	77,5
80	200	68	132	66
83	200	99	101	50,5
85	200	68	132	66
87	200	90	110	55
90	200	60	140	70
92	200	75	125	62,5
95	200	89	111	55,5
99	200	132	68	34
100	200	120	80	40
102	200	117	83	41,5

**Gráfico 9**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial C (Temephos) em relação ao tempo

**Tabela 16**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial C (Temephos) segundo categorias de mortalidade

<b>Categorias de mortalidade</b> %	<b>Média</b> %	<b>Mediana</b> %	<b>Período de observação</b> (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	99,98	100,00	1-----40
95,50-----92,50 (alta)	96,59	99,50	41-----51
81,50-----63,50 (intermediária)	72,77	60,00	52-----82
50,50-----41,50 (baixa)	52,80	44,00	83-----102

Observamos que a apresentação comercial C promoveu uma mortalidade de larvas que variou de valores entre extremos entre 100,00 a 34,00%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento.

Essa apresentação comercial foi capaz de eliminar completamente todas as larvas expostas (um percentual de mortalidade de 100,00%) durante os primeiros 40 dias do ensaio laboratorial. Esse intervalo de tempo tem uma duração que corresponde, aproximadamente, ao período de um ciclo de tratamento dos depósitos domiciliares no Programa de Controle Vetorial em Fortaleza.

A partir do 41º até o 51º dia, ou seja, até quase dois meses de experimento, ocorreu um leve declínio na eficácia do larvicida e aumentou a variabilidade dos resultados em relação à mortalidade diária de larvas. Entretanto, a mortalidade ainda permaneceu em patamares elevados, chegando-se ao final deste período com um percentual de 92,50% (entre 41 e 51 dias, a mortalidade média era de 96,59%, com mediana de 99,50%). No período subsequente, houve tanto uma intensificação na variabilidade diária, como uma tendência de redução permanente na mortalidade de larvas, até atingir-se um patamar de 63,50% aos 82 dias do experimento (entre 52 e 82 dias, a mortalidade média era de 72,77%, com uma mediana de 60,00%). Finalmente, aos 102 dias, quando o experimento foi interrompido, a mortalidade de larvas reduzira-se para patamares de 41,50% (entre 83 e 102 dias, a mortalidade média era de 52,80% e mediana de 44,00%).

São apresentados a seguir os resultados das duas apresentações comerciais do larvicida biológico Bti, denominados respectivamente D e E.

Na Tabela 17 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em alguns períodos dos 102 dias de observação (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 8). No Gráfico 10, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Já na Tabela 18 agrupamos esses dados em diferentes categorias de mortalidade: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade alta (mortalidade de 99,50 a 96,50%); mortalidade intermediária (mortalidade de 87,00 a 63,00%); mortalidade baixa (mortalidade de 48,50 a 10,50%).

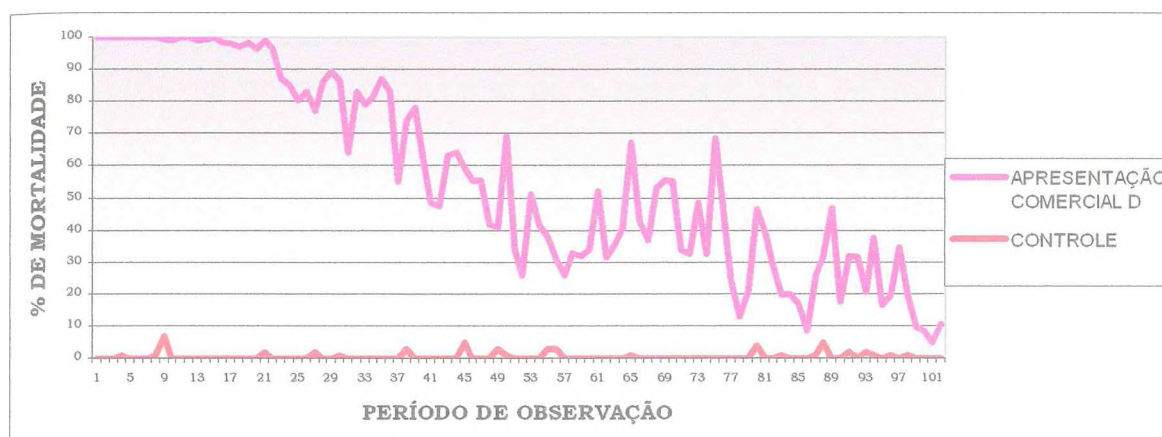
Tabela 17

Distribuição da mortalidade média (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em relação ao tempo de exposição

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
8	200	0	200	100
9	200	1	199	99,5
10	200	2	198	99
12	200	0	200	100
13	200	2	198	99
14	200	1	199	99,5
15	200	0	200	100
16	200	3	197	98,5
20	200	7	193	96,5
21	200	2	198	99
22	200	7	193	96,5
23	200	26	174	87
30	200	27	173	86,5
31	200	72	128	64
36	200	33	167	83,5
40	200	74	126	63
45	200	82	118	59
50	200	62	138	69
55	200	124	76	38
60	200	132	68	34
65	200	66	134	67
70	200	90	110	55
75	200	63	137	68,5
80	200	107	93	46,5
85	200	166	34	17
90	200	165	35	17,5
95	200	167	33	16,5
100	200	183	17	8,5
101	200	190	10	5
102	200	179	21	10,5

**Gráfico 10**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Tabela 18**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*), segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	100,00	100,00	1-----8
99,50-----96,50 (alta)	98,64	98,50	9-----22
87,00-----63,00 (intermediária)	79,02	83,00	23-----40
48,50-----10,50 (baixa)	35,98	32,50	41-----102

Podemos observar que a apresentação comercial D mostrou um desempenho na mortalidade de larvas que variou de valores entre 100,00 a 5,00%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento.

A efetividade máxima, expressa pelo percentual de mortalidade de larvas de 100,00%, foi observada durante os primeiros 8 dias de desenvolvimento do experimento (uma semana). Entretanto, até o 22º dia (três semanas), a mortalidade atingia uma faixa acima de 97,00% (entre 9 e 22 dias, a mortalidade média era de 98,64%, com uma mediana de 98,50%).

Na seqüência, ao completar o tempo equivalente a um ciclo de tratamento dos depósitos em Fortaleza, ou seja, 40 dias, o percentual de mortalidade de larvas foi de 63,00% (entre 23 e 40 dias, a mortalidade média era de 79,02% e mediana de 83,00%).

O último período de observação mostra valores baixos de mortalidade: com 90 dias de experimento, o percentual de mortalidade atingiu apenas 17,50% das larvas e com 102 dias, quando o experimento foi interrompido, a mortalidade de larvas foi de 10,50% (entre 41 e 102 dias, a mortalidade média era de 35,98% e mediana de 32,50%).

Na Tabela 19 mostramos o percentual de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em alguns períodos dos 102 dias de observação (os dados diários desse experimento podem ser vistos no Anexo 9). No Gráfico 11, podemos acompanhar a evolução diária desse experimento. Já na Tabela 20 agrupamos esses dados



em diferentes categorias de mortalidade: mortalidade máxima (mortalidade de 100,00%); mortalidade muito alta (mortalidade de 99,50 a 97,50%); mortalidade alta (mortalidade de 95,00 a 90,50%); mortalidade intermediária (mortalidade de 79,50 a 57,50%); mortalidade baixa (mortalidade de 40,50 a 9,00%).

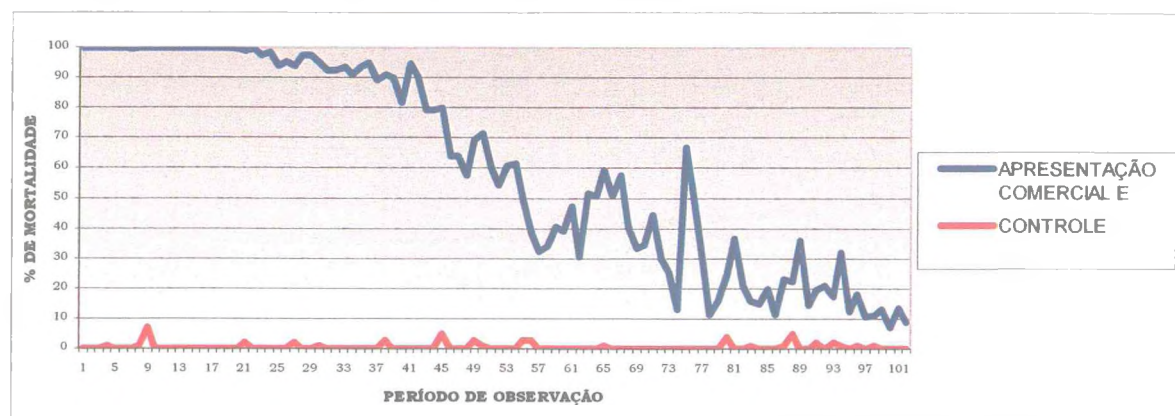
Tabela 19

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*), em relação ao tempo de exposição.

Experimento / Dia	Larvas Expostas	Larvas Vivas	Larvas Mortas	% mortalidade
	Nº	Nº	Nº	
1	200	0	200	100
7	200	1	199	99,5
9	200	0	200	100
19	200	0	200	100
22	200	1	199	99,5
24	200	3	197	98,5
26	200	9	191	95,5
28	200	5	195	97,5
30	200	10	190	95
31	200	15	185	92,5
36	200	10	190	95
38	200	18	182	91
40	200	36	164	82
41	200	11	189	94,5
45	200	40	160	80
48	200	85	115	57,5
50	200	57	143	71,5
55	200	101	99	49,5
60	200	122	78	39
65	200	81	119	59,5
70	200	131	69	34,5
75	200	66	134	67
80	200	151	49	24,5
85	200	160	40	20
90	200	171	29	14,5
95	200	175	25	12,5
100	200	186	14	7
102	200	182	18	9

**Gráfico 11**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*) em relação ao tempo

**Tabela 20**

Distribuição das médias e medianas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* e do tempo de exposição à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*) segundo categorias de mortalidade

Categorias de mortalidade %	Média %	Mediana %	Período de observação (em dias)
100,00-----100,00 (máxima)	99,97	100,00	1-----19
99,50-----97,50 (muito alta)	97,30	94,00	20-----29
95,00-----90,50 (alta)	91,57	95,00	30-----42
79,50-----57,50 (intermediária)	55,40	49,50	43-----67
40,50-----9,00 (baixa)	23,50	20,00	68-----102

A apresentação comercial E mostrou um efeito na mortalidade de larvas que variou de valores entre 100,00 a 7,00%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento.

Durante os primeiros 19 dias, essa apresentação mostrou um percentual de mortalidade de 100,00% (exceto no 7º dia). Entretanto, até 29 dias, observaram-se percentuais de mortalidade extremamente elevados, próximos ao patamar anterior: nessa data (29 dias) a mortalidade foi de 97,50% (entre 20 e 29 dias, a média de mortalidade era de 97,30% e a mediana de 94,00%).

O período seguinte, até 42 dias, caracterizou-se por valores de mortalidade ainda muito elevados, em geral acima de 90%. Assim, com 42 dias, aproximadamente o período de um ciclo de tratamento em Fortaleza, a mortalidade de larvas alcançou um percentual de 90,50% (entre 30 e 42 dias, a mortalidade média era de 91,57%, com mediana de 95,00%).

No intervalo seguinte, que se inicia no 43º dia, já se observa uma queda acentuada no percentual de mortalidade, atingindo 57,50% aos 67 dias de experimento (entre 43 e 67 dias, a mortalidade média era de 55,40% e mediana de 49,50%).

Finalmente, entre 68 e 102 dias, a mortalidade alcançou patamares considerados baixos: ao completar 90 dias de experimento, a mortalidade de larvas foi de apenas 14,50% e com 102 dias, período em que este experimento foi interrompido, o percentual de mortalidade foi de 9,00% (entre 68 e 102 dias, a

mortalidade média era de 23,50% e mediana de 20,00%).

### **AVALIAÇÃO COMPARATIVA DAS CINCO APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS E *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS***

As Tabelas 21 e 22 e o Gráfico 12 mostram, simultaneamente para todas as apresentações comerciais estudadas na Etapa 3 da investigação, a evolução dos percentuais (%) de mortalidade de larvas de acordo com o tempo.

Tabela 21

Distribuição da mortalidade de larvas (%) de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E, em relação ao tempo

Experimento/Dia	% de mortalidade					% de mortal. CONTROLE
	A	B	C	D	E	
1	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
2	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
3	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
4	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	1,00
5	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
6	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
7	100,00	100,00	100,00	100,00	99,50	-
8	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	1,00
9	100,00	100,00	100,00	99,50	100,00	7,00
10	100,00	100,00	100,00	99,00	100,00	-
11	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
12	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
13	100,00	100,00	100,00	99,00	100,00	-
14	100,00	100,00	100,00	99,50	100,00	-
15	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	-
16	100,00	100,00	100,00	98,50	100,00	-
17	100,00	100,00	100,00	98,00	100,00	-
18	99,00	100,00	100,00	97,00	100,00	-
19	100,00	100,00	100,00	98,50	100,00	-
20	95,50	100,00	100,00	96,50	99,50	-
21	85,00	100,00	100,00	99,00	99,00	2,00
22	86,00	100,00	100,00	96,50	99,50	-
23	55,50	100,00	100,00	87,00	97,50	-
24	79,50	100,00	100,00	85,00	98,50	-
25	52,00	100,00	100,00	80,50	94,00	-
26	40,50	100,00	100,00	83,00	95,50	-
27	47,50	100,00	100,00	77,00	94,00	2,00
28	50,00	100,00	100,00	86,00	97,50	-
29	60,00	100,00	100,00	89,50	97,50	-
30	50,50	100,00	100,00	86,50	95,00	1,00
31	37,50	100,00	100,00	64,00	92,50	-
32	53,00	100,00	100,00	83,00	92,50	-
33	63,50	100,00	100,00	79,00	93,50	-
34	56,50	100,00	100,00	81,50	91,00	-
35	67,50	100,00	100,00	87,00	93,50	-

## (Continuação Tabela 21)

Experimento/Dia	% de mortalidade					% de mortal. CONTROLE
	A	B	C	D	E	
36	72,00	100,00	100,00	83,50	95,00	-
37	44,00	100,00	100,00	55,00	89,50	-
38	67,50	100,00	100,00	74,00	91,00	3,00
39	63,50	100,00	99,50	78,00	90,00	-
40	40,00	99,50	100,00	63,00	82,00	-
55	43,50	96,50	97,00	38,00	49,50	3,00
56	47,00	99,00	94,50	31,00	38,50	3,00
57	38,00	88,50	77,00	26,00	32,50	-
58	33,50	93,00	68,50	33,00	34,00	-
59	53,50	92,50	80,50	32,00	40,50	-
60	43,50	91,00	69,50	34,00	39,00	-
61	40,50	98,50	81,50	52,00	47,50	-
62	24,50	90,50	46,50	31,50	30,50	-
63	52,00	91,00	72,50	35,50	51,50	-
64	29,00	92,50	62,50	40,50	51,00	-
65	68,00	100,00	96,00	67,00	59,50	1,00
85	5,50	71,50	66,00	17,00	20,00	-
86	2,50	73,00	34,00	8,50	11,50	-
87	6,00	83,00	55,00	26,00	23,00	1,00
88	7,50	83,50	60,00	32,00	22,50	5,00
89	26,50	81,00	72,50	47,00	36,00	-
90	14,50	90,50	70,00	17,50	14,50	-
91	8,00	75,50	62,00	32,00	19,50	2,00
92	8,00	86,50	62,50	31,50	21,00	-
93	7,00	87,50	44,00	20,50	17,50	2,00
94	15,50	78,00	65,00	37,50	32,00	1,00
95	15,00	91,00	55,50	16,50	12,50	-
96	3,00	85,00	51,00	19,50	18,00	1,00
97	6,00	69,00	58,00	34,50	10,50	-
98	6,00	78,50	40,00	19,50	11,00	1,00
99	13,50	58,50	34,00	9,50	13,00	-
100	11,50	58,50	40,00	8,50	7,00	-
101	4,00	81,50	35,00	5,00	13,50	-
102	3,50	70,00	41,50	10,50	9,00	-

**Tabela 22**

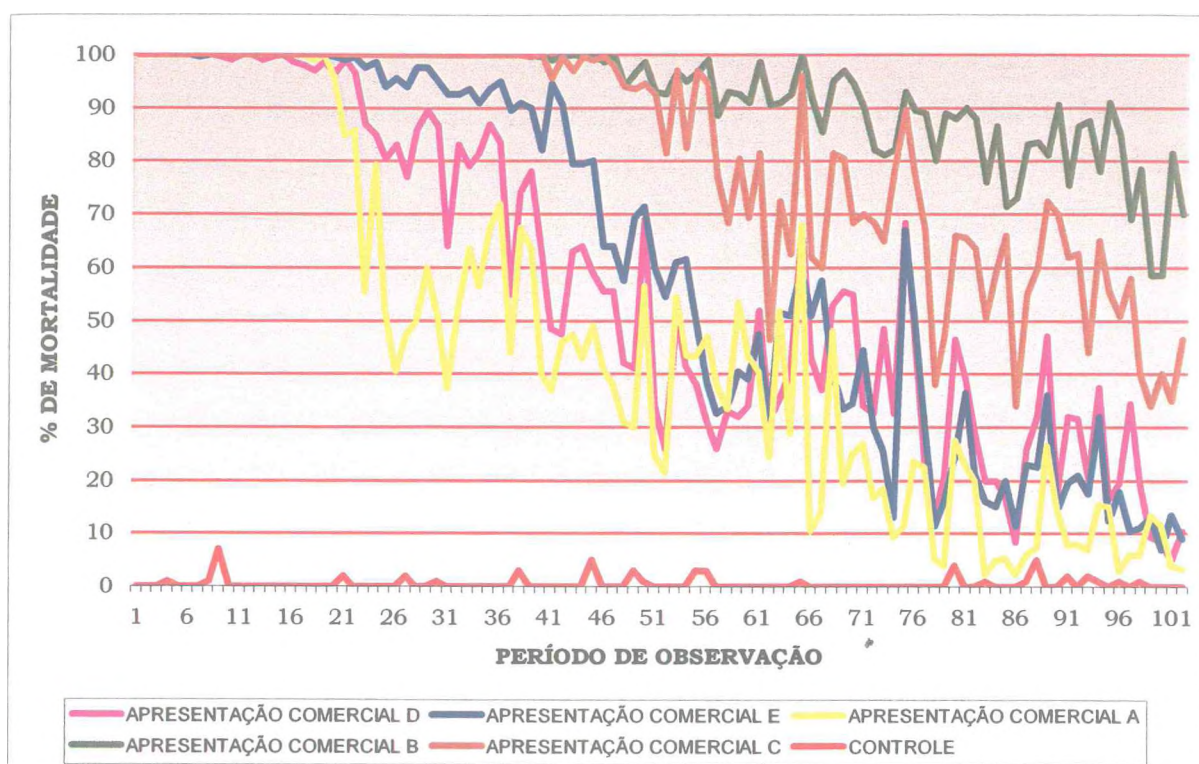
Distribuição da mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E em períodos selecionados de tempo.

LARVICIDAS		DIAS APÓS EXPOSIÇÃO													
		15		30		45		60		75		90		102	
		MORT	%	MORT	%	MORT	%	MORT	%	MORT	%	MORT	%	MORT	%
1	A	200	100,00	101	50,50	98	49,00	87	43,50	23	11,50	29	14,50	7	3,50
2	B	200	100,00	200	100,00	200	100,00	182	91,00	186	93,00	181	90,50	140	70,00
3	C	200	100,00	200	100,00	198	99,00	139	69,50	179	89,50	140	70,00	83	41,50
4	D	200	100,00	173	86,50	118	59,00	68	34,00	137	68,50	35	17,50	21	10,50
5	E	200	100,00	190	95,00	160	80,00	78	39,00	134	67,00	29	14,50	18	9,00



**Gráfico 12**

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D, E, em relação ao tempo



Ao analisarmos comparativamente as cinco apresentações comerciais de larvicidas, podemos observar que a apresentação comercial B mostrou a melhor eficácia em termos de efeito residual, durante todo o período de observação. Este produto eliminou a totalidade das larvas (mortalidade média de 100,00%) durante um período de 39 dias de experimento. Além da longa duração de seu efeito

residual máximo, esta apresentação comercial apresentou patamares de mortalidade média bastante elevada por período mais prolongado do que todas as outras apresentações: por exemplo, com 60 dias (2 meses) e com 90 dias (3 meses) de experimento, eliminava respectivamente 91,00% e 90,50% das larvas. Ao término do estudo, aos 102 dias, período correspondente a quase três ciclos de tratamento, este larvicida promoveu a morte de 70,00% da população de larvas expostas.

A segunda apresentação comercial de melhor desempenho no experimento foi à apresentação comercial C. Podemos observar que a duração máxima de seu efeito residual sobre as larvas de *Aedes aegypti* foi quase equivalente à apresentação anterior, uma vez que, com 40 dias após exposição, eliminou 100,00% das larvas. Entretanto, a partir daí, apresentou uma queda mais rápida do efeito residual do que o produto anteriormente referido. Conservou-se, porém em níveis elevados de mortalidade média por um longo período: aos 2 meses de experimento, a mortalidade média de larvas foi de 69,50% e com 3 meses, esta apresentação comercial eliminou 70,00% das larvas. Ao final do experimento (102 dias), seu efeito residual causou uma mortalidade em torno de 42,00% da população de larvas expostas a esta apresentação comercial.

Na seqüência, em termos de uma escala de melhor desempenho, aparece a apresentação comercial E. Seu efeito residual máximo (mortalidade de larvas em torno de 100,00%) durou 19 dias, correspondente aproximadamente à

metade do tempo dos dois produtos já mencionados. Entretanto, se considerarmos valores de mortalidade acima de 90,00% como de boa eficácia em termos de efeito residual, este produto apresentou bom desempenho até 39 dias de experimento. A partir daí ocorreu uma rápida e intensa perda do efeito residual: quando o experimento completou 60 dias (2 meses), esta apresentação comercial mostrou uma mortalidade média de larvas de 39,00% e com 3 meses de estudo, a mortalidade média era muito baixa, de 14,50%. Ao final do ensaio laboratorial (102 dias), a mortalidade média estava em 9,00%.

Em seguida, em termos de desempenho, vem à apresentação comercial D. Nela, a mortalidade média máxima de larvas (em torno de 100,00%) atingiu 8 dias. Considerando valores acima de 90,00% de mortalidade média como indicador de bom efeito residual, esse período de melhor desempenho chega aos 22 dias, muito inferior aos 3 produtos anteriores. A partir daí apresenta uma queda mais rápida do que todas as outras três apresentações comerciais já discutidas: quando o experimento completou um mês, a mortalidade média de larvas encontrava-se em 86,50%; aos 60 dias (2 meses), reduziu-se para 34,00%; com 3 meses, 17,50%; e aos 102 dias, 10,50%.

Enfim, aparece a apresentação comercial A com o pior desempenho em termos do efeito residual. A mortalidade média máxima de larvas (cerca de 100,00%) foi observada durante 19 dias de experimento (20 dias, se considerarmos valores acima de 95,00%). Neste aspecto, seria semelhante à

apresentação comercial D. Entretanto, na seqüência, apresentou uma perda mais rápida de efeito residual do que todos os outros produtos: ao completar um mês, esta apresentação comercial mostrou uma mortalidade média de 50,50%; com 60 dias (2 meses), 43,50%; já com 90 dias (3 meses), este larvicida apresentou uma mortalidade média de apenas 14,50%. Ao completar 102 dias, causou a morte de menos de 5,00% da população em estudo.

Utilizando agora o risco relativo - conforme já definido, a razão entre a proporção de mortalidade entre as larvas expostas a uma determinada apresentação comercial e a proporção de mortalidade entre as larvas expostas à outra apresentação comercial de pior desempenho - como um indicador mais preciso dessa avaliação comparativa, analisaremos a seguir (Tabelas 23 e 24) as apresentações comerciais que mostraram os melhores desempenhos (respectivamente B, C e E) em relação àquelas consideradas de pior desempenho no experimento (respectivamente, A e D).

Tabela 23

Distribuição do Risco Relativo (RR) das apresentações comerciais B, C, e E em relação à apresentação comercial A segundo alguns períodos selecionados de exposição

LARVICIDAS	RISCO RELATIVO					
	DIAS APÓS EXPOSIÇÃO					
	15	20	30	45	60	90
B	1	1,04	1,98	2,04	2,09	6,24
C	1	1,04	1,98	2,02	1,59	4,82
E	1	1,04	1,88	1,63	0,89	1

Tabela 24

Distribuição do Risco Relativo (RR) das apresentações comerciais B, C e E em relação à apresentação comercial D segundo períodos selecionados de exposição

LARVICIDAS	RISCO RELATIVO					
	DIAS APÓS EXPOSIÇÃO					
	15	20	30	45	60	90
B	1	1,03	1,15	1,69	2,67	5,17
C	1	1,03	1,15	1,67	2,04	4
E	1	1,03	1,09	1,35	1,14	0,82

Podemos observar que durante os primeiros 20 dias de exposição o risco de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* foi praticamente igual para todos as apresentações comerciais dos larvicidas testados (Riscos Relativos aproximadamente =1).

As larvas expostas à apresentação comercial B apresentaram um risco de mortalidade 2 vezes maior do que aquelas expostas à apresentação comercial A, aos 30, 45 e 60 dias de experimento, ou, dito de outra forma, uma mortalidade aproximadamente 100% maior (respectivamente Riscos Relativos =1,98; 2,04 e 2,09); já aos 90 dias, esse risco era 6 vezes maior (uma mortalidade 500% superior).

A apresentação comercial C mostrou um risco de mortalidade 2 vezes maior (100%) do que aquelas expostas à apresentação comercial A aos 30 dias e 45 dias de experimento. Ao completar dois meses (60 dias), este produto apresentou um risco relativo de 1,59 (uma mortalidade 59% maior). Já aos 90 dias (3 meses) o risco de mortalidade em relação à apresentação comercial A aumentou para 4,82 vezes (uma mortalidade 382% maior).

A apresentação comercial E, mostrou em relação à apresentação comercial A, um risco de mortalidade de 1,88, 1,63 respectivamente aos 30 e 45 dias, ou seja, uma mortalidade entre 63 e 88% maior ; com 60 dias e 90, ambos apresentavam baixa eficácia relativa.

Já a apresentação comercial B comparada com a apresentação comercial D mostrou um risco 1,15 maior (uma mortalidade 15% maior) aos 30 dias de experimento; aos 45 dias, 1,69 (69% maior); aos 60 dias, 2,67 maior (uma mortalidade 167% maior); e aos 90 dias, 5,17 vezes maior (mortalidade 417% maior).

A comparação da apresentação comercial C com a apresentação comercial D mostrou que o risco relativo foi de 1,15 (mortalidade 15% maior) aos 30 dias; com 45 dias, 1,67; com 60 dias, o risco de mortalidade foi 2 vezes maior (100%); e com 3 meses de experimento (90 dias), este risco foi 4 vezes maior (300%).

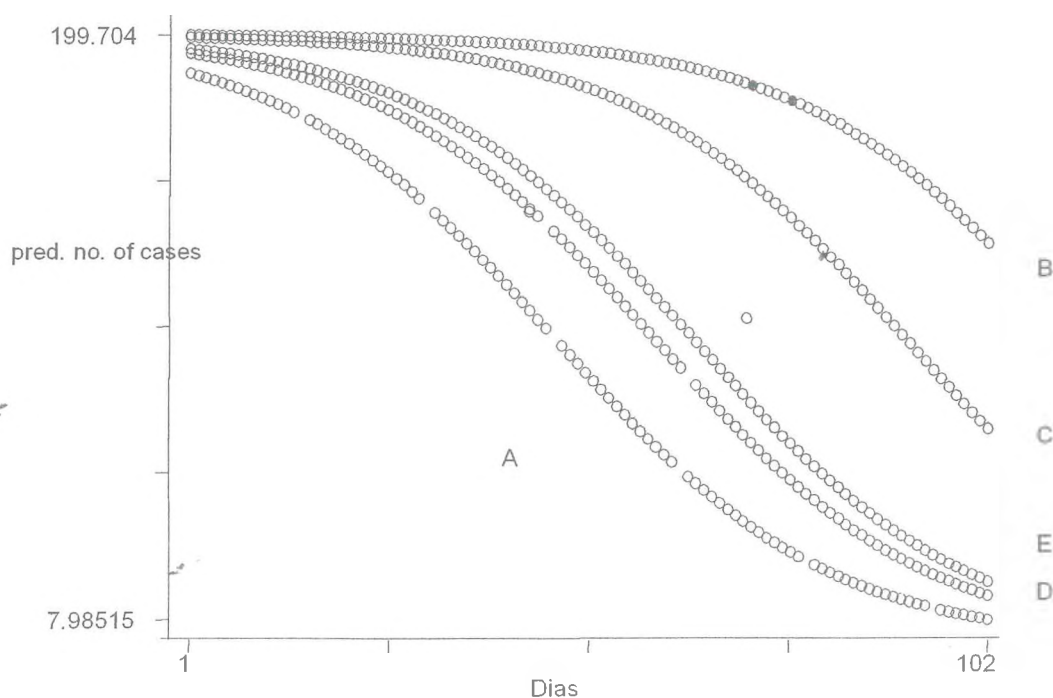
Em relação à apresentação comercial E, comparada com a apresentação comercial D, temos aos 30 dias de teste laboratorial um risco de mortalidade de larvas de 1,09, isto é, um risco 9% maior ; com 45 dias, 1,35, com 2 meses, um risco relativo de 1,14 (uma mortalidade 14% maior) e aos 90 dias (3 meses), ambos os produtos apresentavam baixa eficácia.

Finalmente, mostraremos a seguir, uma síntese do desempenho de todas as apresentações comerciais utilizando as curvas de mortalidade teóricas (Gráficos 13, 14) e as razões de chance, ou odds ratio (Tabelas 25,26), obtidas através de uma análise de regressão logística a partir dos dados de mortalidade de todas as apresentações comerciais nos 102 dias de experimento. As razões de chance foram calculadas para as apresentações que mostraram o melhor

desempenho (B, C e E) em comparação com a de pior desempenho (A e D). Assinalamos que os valores das razões de chances apresentadas não correspondem a estimativas dos respectivos riscos relativos, dado à alta prevalência da variável dependente (mortalidade de larvas) nos diversos grupos de exposição estudados.

### Gráfico 13

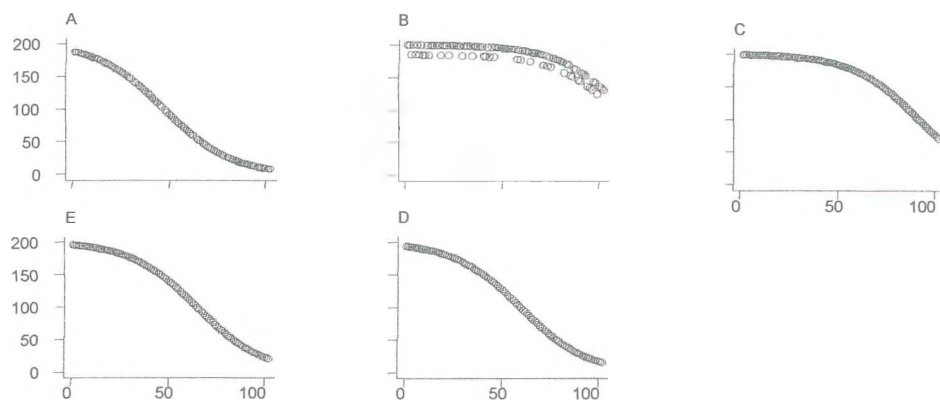
Curvas teóricas de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas às apresentações comerciais A, B, C, D e E durante todo o período de exposição (102 dias)





### Gráfico 14

Curvas teóricas (individualizadas) de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a cada apresentação comercial em relação ao tempo de exposição.



dias

**Tabela 25**

Razões de chance (odds ratio) de mortalidade de larvas das apresentações comerciais de melhor desempenho (B, C e E) em relação à de pior desempenho (A) em 102 dias de exposição

LARVICIDAS	RAZÃO DE CHANCES (ODDS RATIO)	INTERVALO DE CONFIANÇA
B/A	46,37	IC 43,13 – 49,85
C/A	13,09	IC 12,34 – 13,89
E/A	2,74	IC 2,60 – 2,89

**Tabela 26**

Razões de chance (odds ratio) de mortalidade de larvas das apresentações comerciais de melhor desempenho (B, C e E) em relação à de pior desempenho (D) em 102 dias de exposição

LARVICIDAS	RAZÃO DE CHANCES (ODDS RATIO)	INTERVALO DE CONFIANÇA
B/D	22,45	IC 20,94 – 24,06
C/D	6,34	IC 5,99 – 6,70
E/D	1,33	IC 1,26 – 1,39

Vemos que o Larvicida de melhor desempenho (B) apresentou uma odds de mortalidade, respectivamente, 46,37 vezes (IC 43,13 a 49, 85) e 22,45 vezes (IC 20,94 a 24,06) maior que as odds dos larvicidas de pior desempenho (A e D), durante os 102 dias de experimentação. Na seqüência decrescente de eficácia, a apresentação comercial C apresentou uma odds 13,09 (IC 12,34 - 13,89) vezes maior em relação à odds da apresentação comercial A, e 6,34 (IC 5,99 – 6,70) vezes maior em relação àquela da apresentação comercial D. Finalmente, quanto à apresentação comercial E, essa odds foi 2,74 (IC 2,60 - 2,89) e 1,33 (IC 1,26 – 1,39) vezes maior, em comparação com as odds das apresentações comerciais A e D, respectivamente.

Se considerarmos agora, como um exercício comparativo, os períodos de exposição correspondentes a 60 e 90 dias de experimento (numa simulação para ciclos de trabalho de campo de mesma duração), teremos para as apresentações comerciais de melhor desempenho (B, C, E) em relação àquela de pior desempenho em todo o experimento (A) em termos de razão de chances, os resultados que se seguem: com 60 dias de experimento, a apresentação comercial B, apresentou uma odds 81,08 (IC 67,78 - 96,98) vezes maior. Em seguida, a apresentação comercial C, com uma odds 33,28 (IC 29,32 – 37,77) vezes maior. Por fim, a apresentação comercial E, que apresentou uma odds 4,41 (IC 4,08 – 4,76) vezes maior. Aos 90 dias, na seqüência de melhor desempenho, vem à apresentação comercial B, que apresentou uma odds 45,96 (IC 42,26 –

49,99) vezes maior; a apresentação comercial C, com uma odds 13,35 (IC 12,51 – 14,25) vezes maior; e, finalmente, a apresentação comercial E, com uma odds 2,94 (IC 2,78 – 3,11) vezes maior.

## 5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Após ter sido erradicado do território brasileiro na década de 1950, o *Aedes aegypti* foi identificado pela primeira vez na cidade de Fortaleza, capital do estado do Ceará, em 1984. Entretanto, somente em 1986, após a primeira epidemia de dengue no estado, iniciou-se o programa de controle vetorial, utilizando como uma das estratégias de ação, o larvicida químico conhecido como Temephos<sup>109</sup>.

Desde então, apesar do longo período de utilização do mesmo produto químico, e de saber-se da possibilidade de desenvolvimento de resistência a inseticidas nestas condições<sup>48, 110</sup>, este produto continuou sendo usado até recentemente, sem que houvesse uma avaliação de sua eficácia, tanto em relação à presença de resistência propriamente, como no que se refere à duração de seu efeito residual em larvas de *Aedes aegypti*.

O primeiro estudo laboratorial objetivando uma avaliação de eficácia mais sistematizada e controlada do Temephos, em Fortaleza, aconteceu, por uma necessidade operacional eventual, durante o ano de 1999. Nesse período ocorreu, no Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza, a substituição de uma apresentação comercial do Temephos (denominada por nós apresentação comercial A), que vinha sendo utilizada havia algum tempo, por uma outra do mesmo produto, (apresentação comercial B). Na ocasião, houve um questionamento, por parte das equipes que atuavam nas atividades de campo, baseado em uma percepção empírica resultante dessa atividade, de que o efeito residual da apresentação comercial então introduzida (B) seria diferente daquela utilizada anteriormente (A).

A avaliação do efeito residual desta nova apresentação comercial do Temephos (B), em comparação com a apresentação comercial tradicional (A), que constituiu a primeira etapa deste estudo, mostrou que, de fato, havia uma diferença importante no efeito residual de ambos os produtos. Na realidade, ao contrário do que pensava a equipe de campo, foi a apresentação comercial B aquela que apresentou o melhor desempenho, tanto em termos da duração do efeito residual máximo (período com mortalidade de 100,00% das larvas), como também, em relação à persistência<sup>41</sup> do efeito residual, ou seja, quando sua eficácia reduziu-se à metade do efeito máximo (uma mortalidade de 50% ou menos). Entretanto, não encontramos, na literatura, trabalhos que sugerissem diferenças entre as várias apresentações comerciais do Temephos, especialmente as utilizadas pelo programa de controle no Brasil.

Apesar desses achados terem ficado prontamente disponíveis para o corpo técnico responsável pelo programa de controle em Fortaleza, eles tiveram circulação restrita e não desencadearam qualquer mudança de atitude em relação ao uso de larvicidas, ou sobre a necessidade de avaliação comparativa de eficácia, quando da substituição de larvicidas nas atividades de controle vetorial. Isto mostra, na realidade das instituições de saúde pública no Brasil, principalmente por causa da excessiva centralização de decisões no nível central federal, quão dissociadas podem ser as atividades de pesquisa da aplicação de seus resultados, mesmo quando realizadas com objetivos operacionais, e com a participação da própria instituição responsável pelas ações diretas de controle.

Novamente, mais recentemente, no final do ano de 2000, o Programa de Controle do *Aedes aegypti*, em Fortaleza introduziu um novo produto, do grupo dos larvicidas biológicos, denominado *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Este novo larvicida veio em substituição ao Temephos (apresentação comercial A), sob o argumento da gerência nacional do programa de controle, de que alguns trabalhos haviam detectado larvas resistentes a esse produto em populações de *Aedes aegypti*, em várias regiões do Brasil, inclusive em Fortaleza.

Neste aspecto, de fato, Lima et.al <sup>111</sup>., trabalhando com populações de larvas de *Aedes aegypti* oriundas do município de Natal/RN, observaram resistência importante ao Temephos, uma vez que, dos 90% dos ensaios em laboratório, a mortalidade foi de 33,2%. Campos e Andrade <sup>112</sup>, no Estado de São Paulo, em 2001, detectaram resistência potencial à concentração-diagnóstico (CD) do mesmo produto químico. Em estudos realizados em amostras de larvas provenientes de várias cidades do Ceará, inclusive da grande Fortaleza, foi também detectada evidência dessa resistência, como refere o estudo realizado por Oliveira e cols. <sup>49</sup>, em 2001.

Entretanto, apesar destas evidências em favor da necessidade de substituição do Temephos por outro produto de diferente princípio ativo, nenhuma avaliação havia sido realizada, no contexto de Fortaleza, que mostrasse os benefícios do novo produto em relação ao anteriormente utilizado.

Um ensaio laboratorial comparativo entre o Temephos (apresentação comercial A) e o *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentação comercial D), objetivando avaliar a eficácia de ambos, constituiu então a etapa 2 do presente

estudo. A observação dos resultados mostrou que a apresentação comercial A teve um período de mortalidade máxima (100,00% de mortalidade de larvas) um pouco mais prolongado (11 dias) do que a apresentação comercial D (5 dias), embora este último produto apresentasse uma persistência de seu efeito residual por um período de tempo ligeiramente superior (respectivamente, 22 e 25 dias) .

Esses achados são conflitantes com o trabalho de Oliveira et.al <sup>113</sup>., que mostrou o Temephos controlando 100% das larvas por mais de 80 dias, reduzindo sua atividade com 95 dias de leitura (60%), enquanto que o *Bacillus thuringiensis israelensis* controlou 100% das larvas, porém não mostrou qualquer efeito residual. Segundo os autores, o *Bacillus thuringiensis israelensis* teve um bom impacto sobre as larvas, porém não se observou nenhuma persistência do ingrediente ativo. Talvez a diferença encontrada no caso do Temephos seja explicada, em parte, pelo fato de que o experimento referido por aqueles autores tenha sido realizado em recipientes sem renovação permanente de água (ao contrário do nosso), o que provavelmente contribuiu para uma maior eficácia do produto no tempo, no trabalho por aqueles autores.

A observação dos resultados anteriormente discutidos (etapas 1 e 2), chamou a nossa atenção para a presença de diferenças de eficácia entre as diversas apresentações comerciais do Temephos (A e B) utilizados pelo programa de controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza. Efetuamos então (Etapa 3) a comparação entre todas as apresentações comerciais dos larvicidas de uso recente e atual no Programa de Controle desta cidade (apresentações comerciais do Temephos denominadas por nós A, B, C e apresentações comerciais do *Bacillus*



*thuringiensis israelensis* denominadas D e E). Preocupávamo-nos em verificar também, nesta etapa do estudo (Etapa 3), se os resultados obtidos nas Etapas 1 e 2 não poderiam ter sido consequência de algum tipo de artefato, pois aqueles experimentos foram realizados, quase todos, em ocasiões diferentes.

A análise dos resultados obtidos durante esse experimento com as diversas apresentações comerciais do Temephos e do *Bacillus thuringiensis israelensis*, mostrou, de forma consistente, a existência de diferenças importantes no efeito residual das diversas apresentações comerciais dos larvicidas em uso pelo programa de controle, inclusive os pertencentes ao mesmo grupo químico.

Assim, das cinco apresentações comerciais de larvicidas avaliadas, a apresentação comercial B (Temephos) mostrou a melhor eficácia em termos de efeito residual. Este produto eliminou a totalidade das larvas durante um período relativamente longo de tempo (39 dias), correspondente, aproximadamente, a um ciclo de tratamento dos depósitos domiciliares no programa de controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza. Além da duração de seu efeito residual máximo ter sido duradouro, esta apresentação promoveu maior mortalidade de larvas por um período mais prolongado do que todas as outras apresentações estudadas: no período recomendado pelo programa nacional de controle para o desenvolvimento de ciclos de tratamento (60 e 90 dias)<sup>16, 104</sup>, eliminava o maior percentual de larvas (91,00% e 90,50%), relativamente aos outros produtos. Esta apresentação comercial chegou a eliminar, de 1,69 a 6 vezes mais larvas do que as apresentações comerciais A e D (risco relativo, aos 45, 60 e 90 dias de experimento).

A segunda apresentação comercial de melhor desempenho relativo foi a

denominada apresentação C (Temephos). A duração de seu efeito residual máximo (40 dias) mostrou-se equivalente à apresentação comercial B, tornando-o também efetivo em relação a cada ciclo de trabalho no programa de controle em Fortaleza. Entretanto, a partir daí, apresentou um decréscimo mais rápido desse efeito residual do que o outro produto anteriormente citado. Porém, a persistência de mortalidade de larvas conservou-se relativamente elevada (69,50% e 70,00%) em um período equivalente a ciclos de tratamento de dois e três meses de duração respectivamente. O risco relativo de mortalidade de larvas variou de 1,67 a 4 vezes mais, em relação às apresentações comerciais A e D (aos 45, 60 e 90 dias).

Na seqüência, em escala decrescente de desempenho, apareceu a apresentação comercial E (Bti), cuja duração do efeito residual máximo correspondeu à metade (19 dias) dos dois produtos anteriormente referidos (as apresentações comerciais B e C). Da mesma forma, a persistência de seu efeito residual foi muito inferior ao daqueles produtos, tanto para um ciclo de 40 dias (mortalidade = 82,00%), como para ciclos de 60 e 90 dias (mortalidade = 39,00% e 14,50%). Em comparação à apresentação comercial A, o risco relativo de mortalidade de larvas foi 1,63 vezes maior no período equivalente a um ciclo de tratamento em Fortaleza (45 dias). Entretanto, para ciclos de 60 e 90 dias, ambas as apresentações comerciais apresentaram efeitos residuais equivalentes, de baixa intensidade (riscos relativos aproximadamente = 1). Já em relação à apresentação comercial D, o risco relativo de mortalidade de larvas foi, respectivamente, 1,35; 1,14 e 0,89, aos 45, 60 e 90 dias.

Em seguida, na escala de pior desempenho, vêm as apresentações comerciais D (Bti) e A (Temephos). Ambos os produtos mostraram a maior equivalência recíproca de resultados em termos de seus respectivos efeitos residuais. Entretanto, dependendo do critério utilizado, cada produto poderia ser considerado superior ao outro.

A apresentação comercial D (Bti) promoveu uma mortalidade máxima de larvas (100,00%) de mais curta duração (8 dias) entre todos os produtos avaliados. Se considerarmos, entretanto, os valores mais elevados de mortalidade como indicador de bom efeito residual (acima de 90%), esse período de melhor desempenho torna-se mais longo (22 dias). No período correspondente a aproximadamente um ciclo de tratamento (de 40, 60 e 90 dias), seu efeito residual havia se reduzido para valores relativamente baixos (63,00%; 34,00% e 17,50%, respectivamente). Já na apresentação comercial A (Temephos), a mortalidade máxima de larvas foi observada durante 19 dias de experimento. Neste aspecto, seria superior à apresentação comercial D, antes discutida. Entretanto, na seqüência, apresentou uma perda mais rápida de efeito residual do que todos os outros produtos (com 39 dias, ou um ciclo de tratamento, 55,00%; com 60 dias, 43,50% e com 90 dias, apenas 14,50%).

Em síntese, todas as apresentações comerciais avaliadas apresentaram efeito residual em níveis elevados (mortalidade de larvas em torno de 90-100%) até 20 dias de experimento. A partir daí, o Temephos (apresentações B e C) mostrou melhor desempenho por um período muito mais prolongado (mortalidade de 100% e

persistência) do que o Bti (apresentações D e E). Entretanto, a apresentação comercial A do Temephos teve um desempenho muito inferior a todas as outras apresentações comerciais, inclusive àquelas do mesmo princípio ativo (Temephos, apresentações B e C).

Tivemos dificuldade de encontrar dados na literatura que avaliassem o efeito residual comparativo desses larvicidas, principalmente utilizando a metodologia de renovação constante de água nos depósitos. Em geral, os autores têm avaliado o efeito residual em condições de campo, comparando a mortalidade de larvas em ambientes externos e internos, ou em diferentes tipos de depósitos<sup>81, 82, 114</sup>. Como exemplo, citamos os trabalhos de Santos<sup>81</sup> e Silveira e cols.<sup>82</sup> avaliando a eficácia, persistência e efeito residual do *Bacillus thuringiensis israelensis*. Estes estudos mostraram uma mortalidade inicial de 100%, apresentando uma perda de aproximadamente 80% da atividade residual em recipientes expostos ao sol, 5 a 7 dias após o tratamento. Esta mortalidade variou de acordo com o tipo de depósito e exposição à luz solar: de 22 a 29 dias (caixas d'água); 9 a 14 dias (vasos sanitários), 9 a 10 dias (tambores) e até 28 dias em pneus.

Outro aspecto abordado na literatura é a avaliação da susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* a algumas formulações de larvicidas químicos e biológicos<sup>72, 79, 89, 112</sup>, sendo que as pesquisas, de um modo geral, têm feito menção apenas às apresentações comerciais Abate G e Vectobac G. Quanto às apresentações comerciais Larvell G, Larvyn G e Vectobac WDG, não encontramos nenhuma referência sobre o assunto.

Particularmente, os resultados encontrados neste estudo referentes ao Temephos (no nosso caso, a apresentação comercial A) são contraditórios com

aqueles descritos na literatura. Experimentos em laboratório para avaliar o efeito residual do Temephos sobre larvas de *Aedes aegypti*, em diversos tipos de depósitos, constataram 100% de mortalidade até 90 dias em recipientes do tipo baldes plásticos, 80% de mortalidade até 30 dias em recipientes como latas e apenas 35% de mortalidade até 30 dias em recipientes como pneus <sup>115</sup>. Macoris et.al.<sup>116</sup>, em experimento laboratorial, observaram o efeito residual do Temephos em depósitos de 1 litro e em um quintal (peridomicílio). Os autores constataram 100% de mortalidade por até 180 dias no intradomicílio (laboratório) e 120 dias no peridomicílio. Outros autores observaram que o efeito residual do Temephos foi de 100 a 91% até 70 dias após a aplicação do produto<sup>117</sup>. Segundo o seu fabricante o efeito residual é de 03 meses. Ensaio de campo mostraram que o tempo médio de duração máxima (100,00%) do efeito residual do Temephos é de aproximadamente 3 meses (90 dias), em estudo realizado numa área urbana de Bangkok. O efeito residual foi medido através da colocação de larvas de *Aedes aegypti* em depósitos contendo água tratada com este larvicida, geralmente, dos tipos mais prevalentes como potes, tambores de metal e pneus <sup>114</sup>.

No nosso estudo, apenas as denominadas apresentações comerciais B e C do Temephos mostraram uma eficácia comparável a estes dados da literatura, enquanto que a denominada apresentação comercial A do Temephos mostrou um desempenho muito inferior aos demais. Schoof <sup>118</sup> avaliando uma formulação granular de Temephos, nas condições de campo e em depósitos do tipo tambores, encontrou um efeito residual de 90-100% durante cerca de 5 semanas (35 dias). O resultado deste estudo foi o que mais se aproximou de nossos achados sobre o

efeito residual deste larvicida (Temephos, apresentação A), porém ainda com uma persistência maior do que aquela encontrada em nossa investigação.

Em síntese, os resultados de nossa pesquisa mostraram diferenças de grande magnitude no efeito residual, e, por conseqüência, na eficiência (custo-benefício) dos produtos utilizados pelo programa de controle vetorial em Fortaleza, inclusive aqueles de mesmo princípio ativo, como foi o caso do Temephos.

A utilização da metodologia de renovação constante de água foi importante para simular a situação de campo na realidade de Fortaleza, ou outras semelhantes, onde predominam tipos de depósitos (caixas d'água, potes, tinas etc.) submetidos a permanente esvaziamento e reposição de água no uso doméstico.

A consistência dos resultados nos repetidos experimentos por nós desenvolvidos (etapas 1, 2 e 3) em momentos diferentes, e outros posteriormente realizados sem renovação de água <sup>119</sup>, fala contra a existência de artefatos ou variações casuais nos resultados encontrados.

Particularmente, levantamos como possíveis hipóteses explicativas para as diferenças de eficácia entre as diversas apresentações comerciais do Temephos - já que as apresentações comerciais do Bti são de fato produtos diferentes -, a possibilidade de existirem problemas que podem estar relacionados tanto à fase de produção destes larvicidas, como, de forma alternativa, à fase de armazenamento dos produtos pelo programa de controle. Neste aspecto, a princípio, não encontramos explicação para haver problemas seletivos e diferenciais de armazenamento de uma apresentação comercial em relação a outras. Se existirem,

representam, de qualquer forma, um aspecto importante a ser identificado e corrigido, dado os efeitos danosos que provocariam nas atividades de controle vetorial, pela perda de eficácia do produto como consequência de sua má conservação no período anterior à utilização.

Os resultados desta investigação apontam para a necessidade de realização de novos trabalhos que possam avaliar comparativamente as diversas apresentações comerciais do Temephos (e também dos outros produtos utilizados), agora com amostras originadas diretamente do produtor no momento de sua aquisição (portanto, antes do armazenamento pelo programa de controle), de forma a identificar em qual fase do processo (produção ou armazenamento) estaria ocorrendo o problema gerador da diferença de desempenho dos larvicidas.

Além disso, a utilização, nesses novos experimentos, de cepa padrão (Rockfeller) poderá eliminar possíveis interferências de resistência adquirida por cepas originadas no campo (como aquelas por nós utilizadas), dando maior poder de generalidade aos experimentos a serem realizados. Salientamos, entretanto, que este último aspecto não foi determinante nos resultados por nós encontrados, já que se tratava de uma avaliação do desempenho relativo de uma apresentação frente às outras de mesmo princípio ativo e mesma formulação (veículo, concentração, etc.), esperando-se portanto resultados semelhantes no uso do mesmo produto (no caso do Temephos) sob diferentes apresentações comerciais.

Sugerimos que o Ministério da Saúde reavalie o desempenho dos larvicidas do grupo do Temephos mais comumente utilizados no programa de controle do país e realize controle de qualidade periódico em relação ao efeito residual máximo

(período de mortalidade de 100%) e à persistência de todos os larvicidas a serem disponibilizados nas atividades de campo. Da mesma forma, sugerimos que os níveis regional e local do programa de controle, com a colaboração de instituições de pesquisa, realizem avaliações periódicas dos produtos em uso na sua realidade particular, de modo a identificar mudanças nos padrões de eficácia esperados, ou definidos pelo nível nacional do sistema de saúde.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Guia Brasileiro de Vigilância Epidemiológica. 5 ed, 1998.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Informe Epidemiológico do SUS. 1999; 8(4):5-33.
3. Tauil PL. Urbanização e ecologia do dengue. Cadernos de Saúde Pública 2001; 175 (Suplemento):98-102.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Plano diretor de erradicação do *Aedes aegypti* no Brasil: manual de normas técnicas, Brasília,1996.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Departamento de Operações. Coordenação de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores. Manual de Dengue - Vigilância Epidemiológica e Atenção ao Doente. 2a ed.- Brasília, 1996.
6. Pontes RJS, Ruffino-Netto A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. Rev. Saúde Pública 1994; 28(3):218-227.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. Volume I, Brasília, 2002.
8. Cunha RV, Maspero RC, Miagostovich MP, Araújo ESM, Luz DC, Nogueira RMR, Schatzmayr HG. Dengue infection in Paracambi, state of Rio de Janeiro, 1990-1995. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 1997; 30(5): 379-383.

9. Vasconcelos PFC, Lima JWO, Travassos da Rosa PA, Timbó MJ, Travassos da Rosa ES, Lima HR, et. al. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Revista de Saúde Pública* 1998; 32(5):447-454.
10. Donalizio MR. O Dengue no espaço habitado. HUCITEK, 1999, 195p.
11. Campos LAJ, Pontes RJS, Nogueira MB, Oliveira-Lima JW, Lins LDB, Ribeiro JVS. Padrões de incidência do dengue em Fortaleza nos anos de 1986 a 2000. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 2001; 34(Supl.I):57.
12. SESA. Informações em Saúde: Informe Dengue. [saude@saude.ce.gov.br](mailto:saude@saude.ce.gov.br).
13. Timbó MJM, Vilar DCLF, Holanda SGS. Perfil clínico-epidemiológico do dengue hemorrágico no Ceará - Ano:2001. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 2002; 35(Supl.I):103.
14. Figueredo LTM. A febre amarela na região de Ribeirão Preto durante a virada do século XIX: importância científica e repercussões econômicas. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 1996; 29(Supl.I):63-76.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela. Brasília, 1999.
16. Brasil. Ministério da saúde. Fundação Nacional de Saúde. Vigilância Epidemiológica. Dengue-Instruções para Pessoal de Combate ao vetor-Manual de normas Técnicas. Brasília, abril, 2001.
17. Vianna MSR. A Transmissão Urbana da Febre Amarela e Dengue, 2000.
18. Carrera, M. Entomologia para você. EDART, 3ª ed.182p.

19. Nobre A, Antezana D, Tauil PL. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 1994; 27(Supl.III):59-66.
20. Rosen L, Shroyer DA, Tesh RB, Freier JE, Lien JHC. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. Am J Trop. Med. Hyg. 1983; 32(5):1108-1119.
21. Marcondes CB. Entomologia médica e veterinária, Editora Atheneu, 436p, 2001 (Série Otoneurológica).
22. Souza LC, Ribeiro ZM, Moreira WLC, Araújo JMP, Teixeira AR, Braga PH, et. al. Infestação de criadouros naturais por *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) em um cemitério de Fortaleza. Rev. da Soc. Bras. Med. Trop. 31(Supl.I):212,1998.
23. Bezerra, H.S.S. Determinantes da Infestação Domiciliar pelo *Aedes aegypti* na Cidade de Fortaleza [Dissertação]. Fortaleza (CE): Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 1999.
24. Silva, H.H.G. Período de quiescência dos ovos e ciclo de vida do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. [Dissertação]. Goiânia (GO): Universidade de Goiânia;1996.
25. Bond, HA & Fay, RW. Factors influencing *Aedes aegypti* occurrence in containers. Mosquito News 1969; (30): 394-402.
26. Gadelha, DP & Toda, AT. Biologia e comportamento do *Aedes aegypti*. Rev. Brasil. Malariol.D.Trop. 1985; 37: 26-36.

27. Glasser CM, Gomes AC. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. Rev. Saúde Pública 2002; 36(2):166-72.
28. Gomes AC, Marques GRAM, Paula MB, Leite OF, Andrade VR, Souza SSAL, et. Al. Distribuição espacial da atividade de oviposição de *Aedes albopictus* (Skuse) em dois municípios do estado de São Paulo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Livro de Resumos p.63-64.
29. Neves,DP, Alan,LM, Odiar, G, Pedro,ML. Parasitologia Humana. Ed. Atheneu. 10 ed. 428p, 2000.
30. Disponível na Internet via: [http://www.genco.com.br/main\\_saiba2.htm#ciclo](http://www.genco.com.br/main_saiba2.htm#ciclo)
31. Forattini, O.P. Entomologia Médica. Vol.1, Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo, 662 pp.1962.
32. Carrera ,M. Insetos de interesse médico e veterinário. UFPR, 228p, 1991.
33. Barata EAMF, Costa AIP, Neto FC, Glasser CM, Baraça JMS, Natal D. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. Rev. Saúde Pública 2001; 35(3):237-242.
34. Neto FC. Descrição da colonização de *Aedes aegypti* na região de São José do Rio Preto, São Paulo. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 1997; 30(4):279-285.
35. Consoli, R.A.G.B & Oliveira, R.L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. FIOCRUZ, 1 ed. 225p, 1994.
36. Reiter P, Gubler DJ. Surveillance and control of urban dengue vectors. In Dengue and dengue hemorrhagic fever, CAB International, New York, 1997.

37. Brasil. Ministério da saúde. Departamento Nacional de Endemias Rurais. Endemias Rurais. Métodos de trabalho adotados pelo DNERu. Rio de Janeiro. 1968.
38. Pessoa SB. Parasitologia médica. Guanabara Koogan, 8ª ed. 1031p,1972.
39. Larini L. Toxicologia dos inseticidas. SARVIER. 1979,172p.
40. NPPN: Trinta e cinco anos de pioneirismo em ensino e pesquisa em química de produtos naturais. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais. Centro de Ciências da Saúde. UFRJ. Brasil. Livro de resumos, 1998.
41. SUCEN, Segurança em Controle Químico de Vetores, Cap.I - Parte 2. Disponível na Internet via <http://www.sucen.sp.gov.br/docs-tec/seguranca/cap12cla.pdf>, 2001.
42. SUCEN. Manual de Atividades para Controle dos vetores de Dengue e Febre Amarela - Controle Mecânico e Químico. São Paulo. 21p.
43. Lagrotta, M.T.F. Técnicas de Aplicação dos Inseticidas & Equipamentos de Proteção Individual. Apostila. GT PCL-Peste/ECOVE/SEOPE.
44. Laws ER Jr, Sedlak VA, Miles JW, Joseph CR, Lacombe JR, Diaz RA. Field study of the safety of Abate for treating potable water and observations on the effectiveness of a control programme involving both abate and malathion. Bulletin World Health Organization 1968; 38(3):439-45.
45. U.S. Environmental Protection Agency. Pesticides: Reregistration. Temephos RED. Disponível na Internet via: <http://www.epa.gov/red/temephos-red.htm#l>

46. Cilek JE, Knapp FW. Residual activity of three slow release Temephos formulations against *Aedes aegypti* larvae. Journal American Mosquito Control Association 1995; 11(3):358-9.
47. Brasil. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. SUCAM. Combate ao *Aedes aegypti*. Instruções para Guardas, Guardas-Chefes e Inspetores, Brasília, 1986.
48. Rawlins SC, Wan JO. Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. Journal American Mosquito Control Association 1995; 11(1):510-519.
49. Oliveira AMF, Costa EG, Melo MTV, Santos CE, Griffo, HG, Lustosa ELB, et. Al. Resistência a temefós em linhagens de *Aedes aegypti* provenientes do Ceará. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2001; 34(Supl.I):291.
50. Carvalho MS, Caldas ED, Yoshizawa MAC, Degallier N, Oliveira C, Knox MB. Susceptibilidade do *Aedes aegypti* ao inseticida temephos no Distrito Federal, em 2000. Informe Epidemiológico do SUS 2001; 10 (Supl. I):41-43.
51. Bracco JE, Sei IA, Whitaker KJ. Surgimento de mecanismos bioquímicos de resistência a inseticidas em populações paulistas de *Aedes aegypti*. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2000; 33(Supl.I):177.
52. Macoris MLG, Andregretti MTM, Takatu L, Glasser CM, Garbeloto VC, Cirino VCB. Alteração de resposta de susceptibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública 1999; 33(5):521-2.

53. Microbial Pest Control Agent *Bacillus Thuringiensis*. Environmental Health Criteria 217. World Health Organization, Geneva ,1999.
54. Moretti, EP, Microorganismos-tópicos especiais de microbiologia-controle biológico, 2001. Disponível na Internet via [http://members.aol.com/microorganismos/control\\_biológico.htm](http://members.aol.com/microorganismos/control_biológico.htm).
55. Silva SF, Dias JMCS, Monnerat RG. Isolamento, Identificação e Caracterização Entomopatogênica de Bacilos de Diferentes Regiões do Brasil. Comunicado Técnico 70. ISSN 0102-0099. Brasília, DF. Outubro, 2002.
56. Mahmood F. Laboratory bioassay to compare susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus* to *Bacillus thuringiensis var. israelensis* as affected by their feeding rates. Journal of the American Mosquito Control Association 1998; 14 (1): 69-71.
57. Silva SF, Dias JMCS, Monnerat RG. Comparação entre três Métodos de Isolamento de Bacilos Entomopatogênicos. Circular Técnica 14. ISSN 1516-4349. Brasília, DF. Novembro, 2002.
58. Biologia e controle de vetores. Disponível na internet via [http://www.animanews.hpg.ig.com.br/epidemiologia\\_12.htm](http://www.animanews.hpg.ig.com.br/epidemiologia_12.htm).
59. Santana EWP, Ribeiro ZM, Regazzi ACF, Bezerra HSS, Cavalcanti LPG, Oliveira-Lima JW. Biological Control of *Aedes aegypti* Evaluation of the Larvivorous Potential of the Betta splendens in Water Boxes in Fortaleza, Ceará, Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2001; 34 (Supl. I): 480.

60. Rivière F, Kay BH, Klein JM e Séchan Y. *Mesocyclops aspericornis* (Copepoda) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the Biological Control of *Aedes* and *Culex* Vectors (Diptera: Culicidae) Breeding in Crac Holes, Tree Holes, and Artificial Containers. *J. Med. Entomol.* 1987; 24(4): 425-430.
61. Santos LU, Andrade CFS. Survey of cyclops (crustácea, copepoda) in Brazil and preliminary screening of their potential as dengue vector predators. *Rev. Saúde Pública* 1997; 31(3):221-226.
62. Siström WR. *A vida dos micróbios*. LIVRARIA PIONEIRA. 1973, 166p.
63. Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA. EDGARD BLÜCHER LTDA. 1969, 2 ed, 741p.
64. Swadener C. "*Bacillus thuringiensis* (Bt)" *Journal of Pesticide Reform* 1994; Volume 14, Number 3.
65. Tadei WP. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa). *Revista Ciência Hoje*. 19/11/2001.
66. Neto ALR, Oliveira CM. Controle biológico de culicídeos e simúlídeos. *Rev. Brasil. Malariol. D. Trop.* 1985; 37:61-75.
67. Dias JMCS. Produção e utilização de bioinseticidas bacterianos. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 27, S/N:59-76, abr.1992.
68. Jenkins J, *Environmental Toxicology and Chemistry Memo*. Department of Agricultural Chemistry, Oregon State University, 1992.
69. United States Environmental Protection Agency. EPA. For Your Information. *Larvicides for Mosquito Control*, 2000. Disponível na Internet via: <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/larvicides4mosquitos.htm#cycle>



70. Coutinho, HLC, Diversidade Microbiana e Agricultura Sustentável. CNPS/EMBRAPA, 2001.
71. Panbangred W, Pantuwatana S, Bhumiratana A. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* toward *Aedes aegypti* larvae. *Journal Invertebrate Pathology* 1979; 33:340-347.
72. Ignoffo CM, Garcia C, Kroha MJ, Fukuda T. Susceptibility of *Aedes aegypti* to four varieties of *Bacillus thuringiensis*. *Mosquito News* 1980; 40(2):290-291.
73. Pipitgool V, Maleewong W, Daensegaew W, Thaiklar K. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14 against *Aedes aegypti* larvae in the Northeast region of Thailand. *Southeast Asian Journal Trop. Med. Public Health* 1991; 22(3): 426-428.
74. Alves, SB. Controle Microbiano de Insetos. FEALQ/USP. Piracicaba/SP, 2 ed. 1163p,1998.
75. Tsrer LL, Gluzman CP, Margalit J, Barak Z. Larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis israelensis*, serovar H14 in *Aedes aegypti*: histopathological studies. *Journal Invertebrate Pathology* 1983; 41:104-116.
76. Mulla MS. Activity, Field Efficacy, and Use Of *Bacillus thuringiensis israelensis* against Mosquitoes, *Bacterial Control of Mosquitoes and Black Flies: Biochemistry, Genetics, and Applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus*, 1991.
77. Manasherob R, Ben-Dov E, Zaritsky A, Barak Z. Protozoan-enhanced toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* -endotoxin against *Aedes aegypti* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 1994; 63:244-248.

78. Becker N, Zgomba M, Ludwig M, Petric D, Rettich F. Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis israelensis* treatments. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1992; 8(3): 285-289.
79. Luz C, Assis VC, Silva NR, Silva HHG. Efeito de biolarvicidas à base de bactérias sobre *Aedes* spp. Informe Epidemiológico do SUS 2001; 10(Supl.I):47-48.
80. Santos MAVM, Sanches EG, Jesus FJ, Regis L. Evaluation of a new tablet formulation based on *Bacillus thuringiensis* sorovar. *Israelensis* for larvicidal control of *Aedes aegypti*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2001; 96(6):859-860.
81. Santos MAVM. Eficácia e Persistência de Formulações à Base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) contra larvas de *Aedes aegypti* em condições simuladas de Campo. Associação de Pós-Graduandos da UFPE. Disponível na internet via: <http://www.df.ufpe.br/~apq-ufpe/opsresumos.htm>
82. Silveira JR; Morais CP; Santos SO; Silva EA. Avaliação da Susceptibilidade e do Efeito Residual de *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis* (Bti) para o Controle de Larvas de *Aedes aegypti*, em condições de Campo, no Município de Campo Grande. Disponível na Internet via: <http://www.geocities.com/entomologia2000/bti.htm>
83. Sebba GJ, Silva NR, Alves AFT, Silva HHG, Luz C. Efeito residual de larvicidas a base de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sobre larvas de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2001; 34(Supl.I):486-487.

84. Hare SGF, Nasci RS. Effects of sublethal exposure to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on larval development and adult size in *Aedes aegypti*. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1986; 2(3):325-328.
85. Khawaled K, Bem-Dov E, Zaritsky A, Barak Z. The fate of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in *B. thuringiensis* var. *israelensis*-killed pupae of *Aedes aegypti*. Journal of Invertebrate Pathology 1990; 56:312-316.
86. Cilek JE, Webb JD e Knapp FW. Residual concentration and efficacy of three Temephos formulations for control of larval *Aedes aegypti*. Journal of the American Mosquito Control Association 1991; 7(2): 310-312.
87. 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. 1983 May 26;20(3):325-9.
88. Novak JR, Gubler JD, Underwood D. Evaluation of show-release formulations of temephos (ABATE) and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the control of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1985; 1(4):449-453.
89. Andrade CFS, Modolo M. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis israelensis* in integrated control. Rev. Saúde Pública 1991; 25(3):184-187.
90. DRH/SETEC/FUNASA/CE - Anexo Único - Instruções Básicas sobre o Larvicida Biológico BTI - *Bacillus thuringiensis israelensis*, na Eliminação Larvária do Mosquito *Aedes aegypti*, em Prevenção às Doenças de Febre

Amarela e Dengue em Municípios do Estado do Ceará. MS/FUNASA/CORCE - Programa de Controle da Febre Amarela e Dengue - Setor Técnico de Operações.

91. The Pesticide Management Education Program at Cornell University. *Bacillus thuringiensis* (var. *israelensis*) Chemical Profile 4/85, Disponível na Internet via [http:// pmp.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin-bufencarb/bt-israelensis/insect-prof-bt-israel.html](http://pmp.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin-bufencarb/bt-israelensis/insect-prof-bt-israel.html), 2001
92. New York City Department of Health. VECTOBAC (*Bacillus thuringiensis israelensis*). Disponível na Internet via [http:// www.nyc.gov/health](http://www.nyc.gov/health), 2001.
93. Becker N, Ludwig M. Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after 10-year application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1993 Jun; 9(2):221-4.
94. Goldman IF, Arnold J, Carlton BC. Selection for Resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. Journal Invertebrate Pathology 1986; 47:317-324.
95. Francisco, AMM. Insetos e outros invasores de residências. Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz. Vol.6 460p. In: Oliveira, AMF. A Resistência dos Insetos aos Inseticidas e o Controle dos Vetores da Malária. Cap.12.
96. Mulla MS, Frederici BA, Darwazeh HA, Ede L. Field evaluation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against floodwater mosquito. Journal American Mosquito Control Association 1982; 43(6):1288-1293.

97. Lawler SP, Jensen T, Dritz DA, Wichterman G. Field efficacy and nontarget effects of the mosquito larvicides Temephos, Methoprene, and *Bacillus thuringiensis* Var. *israelensis* in Florida mangrove swamps. Journal American Mosquito Control Association 1999; 15(4):446-452.
98. Beehler, JW, Mulla, MS. Effect of the insect growth regulator methoprene on the ovipositional behavior of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Journal American Mosquito Control Association 1993; 9(1):13-6.
99. Zahiri N, Rau M. Oviposition attraction and repellency of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to waters from conspecific larvae subjected to crowding, confinement, starvation, or infection. Journal Medical Entomology 1998; 35(5):782-787.
100. Vilarinhos, PTR. Avaliação de formulações de *Bacillus thuringiensis israelensis* no controle larvário do *Aedes aegypti* em Condições de Campo, Relatório 4º Ciclo, SUCEN, 2000.
101. Carneiro EWB, Lima JWO, Pontes RJS. Prevalência da Infestação de Diferentes Tipos de Depósitos Pelo *Aedes aegypti* na Cidade de Fortaleza. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2000; 33 (Supl.I): 407.
102. Pereira, M.G. Epidemiologia Teoria e Prática. Guanabara Koogan, 4 ed. 596p, 2000.
103. Cavalcanti LPG, Regazzi ACF, Santana EWP, Ribeiro ZM, Bezerra HSS, Oliveira-Lima JW. Evaluation of the efficacy of four different types of food

ration for larvae of *Aedes aegypti* reared in laboratory colonies. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2001; 34 (Supl.I): 491.

104. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. SUCAM. Combate aos vetores da febre amarela e do dengue *Aedes aegypti/Aedes albopictus*. Instruções para guardas, guardas-chefes e inspetores. Brasília, 1990.

105. Franklin Vargas V, Judith Roldán R, Gina Zavaleta E, Miriam Gil F, Cynthia Ampuero R, Ana Burga, et. al. Producción de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis* Utilizando Espárrago (*Asparagus officinallis*) Y Su Uso Potencial Para El Control De La Malaria En La Libertad – Perú. Rev. Med. Exp. 2001; 18 (3-4).

106. NDSU Extensión Service. Mosquito Management (continued) North Dakota University, 2000. Disponible na Internet via: <http://www.ext.nodak.edu/extpubs/plantsci/pests/e472-2.htm>

107. WHO. World Health Organization Vector Resistance\* to Pesticides, Geneva, 1992.

108. Stata Reference Manual. Release 6. Vol.1 A-G. Texas: Stata Press. p.537, 1999.

109. Nogueira, M. B. Infestação pelo *Aedes aegypti* em Fortaleza no período de 1986 a 1988: Estratificação Geográfica de Risco [Dissertação]. Fortaleza (CE): Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 1999.

110. Rodriguez MM; Bisset JA; Milá LH; Calvo E; Diaz C; Soca LA. Niveles de Resistência a Inseticidas y sus Mecanismos em uma Cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. Rev. Cubana Med. Trop. 1999; 51(2): 83-88.
111. Lima ID, Medeiros AS, Rocha MG. Resistência do *Aedes aegypti* ao temephós usado para controle do dengue no município de Natal/RN. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2001; 34(Supl.I):291-292.
112. Campos J, Andrade CFS. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. Rev. Saúde Pública 2001; 35(3):232-6.
113. Oliveira AMF, Costa EG, Melo MTV, Santos CE. Activity and persistence of *Bacillus thuringiensis israelensis*, Pyriproxifen and Temephos against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 1996; 29(Supl.I):62.
114. Bang YH, Pant CP. A field trial of Abate larvicide for the control of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. Bulletin World Health Organization 1972; 46:416-425.
115. Pinheiro VCS; Tadei WP. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. Cad. Saúde Pública 2002; 18(6): 1529-1536.
116. Macoris MLG, Andrighetti MTM, Takaku L. Efeito residual de temephós em larvas de *Aedes aegypti*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 1995 out-dez ; 28 (4): 375-377.
117. Silans LNMP, Santos NA, Araújo VS, Almeida LA, Flor JL. Monitoração da efetividade de temephós (Abate), usado na dose de 1ppm, sobre a mortalidade

de larvas de *Aedes aegypti*. II. Ensaio de laboratório. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 1999; 32 (Supl. I): 115-116.

118. Schoof HF. Inseticides for Use against *Aedes aegypti*. Bull Org. mond. Santé. Bull Wdl Hlth Org 1967; 36: 618-622.

119. Dantas, FFFh, Pontes RJS, Lima JWO, Regazzi ACF. Avaliação Comparativa do Efeito Residual do Temephos e de *Bacillus thuringiensis israelensis* em Depósitos sem Renovação de Água. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2003; 36 (Supl. I): 252.



# ANEXOS

## ANEXO 1

### ETAPA 1

#### AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS : A e B EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	29/03/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	30/03/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	31/03/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	01/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	02/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	03/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
7	04/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
8	05/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	06/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
10	07/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
11	08/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	09/04/01	0	1	1	0	0	0	0	0	98,75
13	10/04/01	0	0	0	0	0	0	0	1	99,38
14	11/04/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
15	12/04/01	1	1	0	0	0	0	1	0	98,13
16	13/04/01	10	14	2	0	4	0	12	2	72,5
17	14/04/01	11	17	2	5	0	0	6	5	71,25
18	15/04/01	14	20	3	2	11	4	7	7	57,5
19	16/04/01	6	20	1	4	12	3	6	3	65,63
20	17/04/01	12	14	2	5	7	1	4	6	68,13
21	18/04/01	19	19	5	5	20	3	14	16	36,88
22	19/04/01	20	19	10	15	15	3	11	17	31,25
23	20/04/01	18	19	9	18	19	10	17	18	20
24	21/04/01	15	20	8	19	18	7	8	17	30
25	22/04/01	20	17	1	17	16	2	7	17	39,38
26	23/04/01	17	19	11	15	19	13	17	14	21,88
27	24/04/01	20	20	13	20	17	19	13	20	11,25
28	25/04/01	20	18	18	19	19	19	18	20	5,63
29	26/04/01	18	20	18	15	20	20	19	17	8,13

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

Esvaz.	Data da leitura	Controle1	Controle2	Controle3	Controle4	% de mortal.
1	29/03/01	20	20	20	20	0
2	30/03/01	20	20	20	20	0
3	31/03/01	20	20	20	20	0
4	01/04/01	20	20	20	20	0
5	02/04/01	20	20	20	20	0
6	03/04/01	20	20	20	20	0
7	04/04/01	20	20	20	20	0
8	05/04/01	20	20	20	20	0
9	06/04/01	20	20	20	20	0
10	07/04/01	20	20	20	20	0
11	08/04/01	20	20	20	18	2,5
12	09/04/01	20	20	20	20	0
13	10/04/01	20	20	20	20	0
14	11/04/01	20	20	20	20	0
15	12/04/01	20	20	20	20	0
16	13/04/01	20	20	20	20	0
17	14/04/01	20	20	20	20	0
18	15/04/01	20	20	20	20	0
19	16/04/01	20	20	20	20	0
20	17/04/01	20	20	20	20	0
21	18/04/01	20	20	20	20	0
22	19/04/01	20	20	20	20	0
23	20/04/01	20	20	20	20	0
24	21/04/01	20	20	20	20	0
25	22/04/01	20	20	20	20	0
26	23/04/01	20	20	20	20	0
27	24/04/01	20	18	20	20	2,5
28	25/04/01	20	20	20	20	0
29	26/04/01	20	20	20	20	0

## ANEXO2

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial B (Temephos).

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	26/12/99	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	28/12/99	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	29/12/99	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	30/12/99	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	31/12/99	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	02/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
7	03/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
8	04/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	05/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
10	06/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
11	07/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	08/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
13	09/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
14	10/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
15	11/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
16	12/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
17	13/01/00	0	0	0	0	0	0	0	0	100
18	14/01/00	0	0	2	0	0	0	0	0	98,75
19	15/01/00	0	0	5	0	0	0	0	0	96,87
20	16/01/00	0	5	1	0	0	0	0	0	96,25
21	17/01/00	0	0	3	0	0	0	0	0	98,12
22	18/01/00	0	0	3	0	0	0	0	0	98,12
23	19/01/00	0	0	2	0	0	0	0	0	98,75
24	20/01/00	0	0	3	0	0	0	0	0	98,12
25	21/01/00	1	2	4	0	0	0	0	0	95,62
26	22/01/00	1	0	2	0	1	0	0	0	97,5
27	23/01/00	4	2	10	1	6	0	0	0	85,62
28	24/01/00	5	1	3	0	0	0	0	0	94,37

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker							% de mortal.	
		1	2	3	4	5	6	7		8
29	25/01/00	4	0	8	0	0	0	0	0	92,5
30	26/01/00	4	1	6	0	0	0	0	0	93,12
31	27/01/00	10	2	8	0	2	0	1	0	85,62
32	28/01/00	12	8	6	0	3	1	1	2	79,37
33	29/01/00	12	3	10	1	5	0	2	0	79,37
34	30/01/00	15	1	13	1	6	0	3	0	75,62
35	31/01/00	15	1	6	0	7	0	1	0	81,25
36	01/02/00	15	1	4	0	7	0	4	1	80
37	02/02/00	15	5	5	2	11	0	0	0	76,25
38	03/02/00	13	5	2	0	7	0	0	0	83,12
39	04/02/00	15	7	6	1	9	0	1	1	75
40	05/02/00	13	5	2	0	8	0	0	0	82,5
41	06/02/00	11	2	5	1	10	0	0	0	81,87
42	07/02/00	11	0	5	1	10	0	0	0	83,12
43	08/02/00	17	10	4	1	15	0	0	0	70,62
44	09/02/00	17	8	8	2	17	0	1	0	66,87
45	10/02/00	15	10	4	1	12	0	0	0	73,75
46	11/02/00	10	2	7	0	11	0	0	0	81,25
47	12/02/00	17	11	17	4	19	1	0	1	56,25
48	13/02/00	20	11	17	11	18	0	4	1	48,75
49	14/02/00	19	8	15	12	14	0	0	0	57,5
50	15/02/00	16	11	12	8	17	0	1	1	58,75
51	16/02/00	15	12	14	14	20	0	6	3	47,5
52	17/02/00	14	11	11	5	20	0	2	3	58,75
53	18/02/00	14	12	12	6	20	0	2	1	58,12
54	19/02/00	16	13	12	9	20	3	6	3	48,75
55	22/02/00	0	13	11	0	0	1	1	0	83,75
56	25/02/00	14	17	16	0	3	13	3	7	54,37

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* nos controles.

Esvaz.	Data da leitura	Controle1	Controle2	Controle3	Controle4	% de mortal.
1	26/12/99	20	20	20	20	0
2	28/12/99	20	20	20	20	0
3	29/12/99	20	20	20	20	0
4	30/12/99	20	20	20	20	0
5	31/12/99	20	20	20	20	0
6	02/01/00	20	20	20	20	0
7	03/01/00	20	20	20	20	0
8	04/01/00	20	20	20	20	0
9	05/01/00	20	20	20	20	0
10	06/01/00	20	20	20	20	0
11	07/01/00	20	19	20	20	1,25
12	08/01/00	20	20	19	20	1,25
13	09/01/00	20	20	20	20	0
14	10/01/00	20	20	20	20	0
15	11/01/00	20	20	20	20	0
16	12/01/00	20	20	20	20	0
17	13/01/00	20	20	20	20	0
18	14/01/00	20	20	20	20	0
19	15/01/00	20	20	20	20	0
20	16/01/00	20	20	20	20	0
21	17/01/00	20	20	20	20	0
22	18/01/00	20	20	20	20	0
23	19/01/00	20	20	20	20	0
24	20/01/00	20	20	20	20	0
25	21/01/00	20	19	20	19	2,5
26	22/01/00	20	20	20	20	0
27	23/01/00	20	20	20	20	0
28	24/01/00	20	20	20	20	0

Esvaz.	Data da leitura	Controle1	Controle2	Controle3	Controle4	% de mortal.
29	25/01/00	20	20	20	20	0
30	26/01/00	20	20	20	20	0
31	27/01/00	20	20	20	20	0
32	28/01/00	20	20	20	20	0
33	29/01/00	20	20	20	20	0
34	30/01/00	20	20	20	20	0
35	31/01/00	20	20	20	20	0
36	01/02/00	20	20	20	20	0
37	02/02/00	20	20	20	20	0
38	03/02/00	20	20	20	20	0
39	04/02/00	20	20	20	20	0
40	05/02/00	20	20	20	20	0
41	06/02/00	20	20	20	20	0
42	07/02/00	20	20	20	20	0
43	08/02/00	20	20	20	20	0
44	09/02/00	20	20	20	20	0
45	10/02/00	20	20	20	20	0
46	11/02/00	20	20	20	20	0
47	12/02/00	20	20	20	20	0
48	13/02/00	20	20	20	20	0
49	14/02/00	20	20	20	20	0
50	15/02/00	20	20	20	20	0
51	16/02/00	20	20	20	20	0
52	17/02/00	20	20	20	20	0
53	18/02/00	20	20	20	20	0
54	19/02/00	20	20	20	20	0
55	22/02/00	20	19	20	20	1,25
56	25/02/00	20	20	20	20	0

## ANEXO 3

### ETAPA 2

#### AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO TEMEPHOS (A) COM UMA APRESENTAÇÃO COMERCIAL DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* ( D) EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

Esvaz.	Data da Leitura	Nº de larvas vivas no Becker Tratado						% de 6 mortal.	Controles		% de 2 mortal.
		1	2	3	4	5	1		2		
1	14/09/00	0	0	0	1	0	1	99,67	100	99	0,5
2	15/09/00	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0
3	16/09/00	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0
5	19/09/00	0	0	0	0	0	0	100	100	100	0
6	20/09/00	0	1	0	0	0	1	99,67	98	100	1
7	21/09/00	0	0	0	0	1	0	99,83	100	100	0
9	22/09/00	0	6	5	9	2	2	96	100	100	0
9	23/09/00	0	0	3	0	3	0	99	100	100	0
11	26/09/00	0	0	1	6	2	4	97,83	100	100	0
12	27/09/00	1	0	9	13	5	18	92,33	100	100	0
13	28/09/00	4	13	20	19	2	17	87,5	100	100	0
14	29/09/00	6	12	18	24	9	9	87	100	100	0
15	30/09/00	8	6	33	11	15	18	84,83	100	100	0
17	03/10/00	0	1	0	8	6	3	97	100	100	0
18	04/10/00	8	4	6	7	11	11	92,17	100	100	0
19	05/10/00	4	2	5	13	8	4	94	98	100	1
20	06/10/00	1	6	7	7	10	13	92,67	100	100	0
21	07/10/00	7	14	12	20	7	11	88,17	100	100	0
23	10/10/00	13	1	1	11	29	8	89,5	97	100	1,5
24	11/10/00	4	3	6	23	38	11	85,83	100	100	0
25	12/10/00	4	1	4	7	32	15	89,5	98	100	1
26	13/10/00	8	1	5	17	27	29	85,5	100	100	0
27	14/10/00	4	3	7	14	39	27	84,33	99	100	0,5



Esvaz.	Data da Leitura	Nº de larvas vivas no Becker Tratado						% de		Controles		% de
		1	2	3	4	5	6 mortal.	1	2 mortal.			
29	17/10/00	4	11	17	14	60	32	77	100	100	0	
30	18/10/00	5	5	11	23	48	27	80,17	100	100	0	
31	19/10/00	14	15	34	40	71	16	68,33	100	100	0	
32	20/10/00	13	11	7	28	58	16	77,83	100	100	0	
33	21/10/00	8	14	13	8	55	7	82,5	99	100	0,5	
35	24/10/00	19	13	37	14	44	18	75,83	100	100	0	
36	25/10/00	32	16	25	7	62	31	71,17	100	100	0	
37	26/10/00	8	14	26	18	78	34	70,33	100	100	0	
38	27/10/00	32	7	4	6	9	6	89,33	96	98	3	
39	28/10/00	46	23	30	11	56	10	70,67	99	100	0,5	
41	31/10/00	84	69	55	29	95	42	37,67	100	100	0	
42	01/11/00	71	90	80	52	51	72	30,67	100	100	0	
43	02/11/00	79	79	87	19	21	53	43,67	100	100	0	
44	03/11/00	98	73	91	42	28	68	33,33	100	100	0	
45	04/11/00	73	49	89	40	6	57	47,67	100	99	0,5	
47	07/11/00	59	21	73	23	20	21	63,83	100	100	0	
48	08/11/00	81	61	70	54	55	70	34,83	100	100	0	
53	14/11/00	40	9	2	40	3	21	80,83	100	100	0	
54	15/11/00	64	29	6	30	23	67	63,5	99	100	0,5	
55	16/11/00	58	7	2	45	45	83	60	100	100	0	
56	17/11/00	33	57	2	58	61	85	50,67	100	100	0	
57	18/11/00	32	56	57	79	73	100	33,83	100	99	0,5	

#### ANEXO 4

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	11/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	12/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	13/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	14/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	15/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	16/09/01	1	0	0	0	0	0	0	0	99,5
7	17/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
8	18/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	19/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
10	20/09/01	0	0	1	2	0	0	0	0	98,5
11	21/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	22/09/01	0	0	1	3	2	1	1	0	96
13	23/09/01	2	2	5	4	2	5	3	1	88
14	24/09/01	1	5	6	5	2	1	2	5	86,5
15	25/09/01	1	6	1	8	6	4	5	2	83,5
16	26/09/01	1	6	5	5	10	6	8	10	74,5
17	27/09/01	3	9	9	13	18	9	6	21	56
18	28/09/01	17	8	3	5	15	8	12	16	58
19	29/09/01	12	14	9	10	20	9	10	18	49
20	30/09/01	2	6	8	15	5	8	16	7	66,5
21	01/10/01	16	12	3	8	10	16*	13	12	55
22	02/10/01	16	17	9	14	16	11	4	11	51
23	03/10/01	18	21	16	24	24	19	23	25	15
24	04/10/01	15	19	15	17	15	19	24	25	25,5
25	05/10/01	23	15	7	15	17	18	24	21	30
26	06/10/01	15	15	10	13	12	17	21	22	37,5
27	07/10/01	23	22	16	20	14	20	24	23	19
28	08/10/01	5	10	5	12	10	10	10	18	60
29	09/10/01	20	22	18	18	21	16	16	21	24
30	10/10/01	22	21	23	18	20	22	22	20	16
31	11/10/01	20	25	23	23	25	11	25	20	14
32	12/10/01	23	25	18	23	22	25	23	24	8,5
33	13/10/01	23	25	23	24	25	23	23	23	5,5
34	14/10/01	23	24	24	25	23	24	24	25	4
35	15/10/01	24	22	25	23	25	23	23	24	5,5
36	16/10/01	25	25	25	25	25	24	24	25	1
37	17/10/01	24	24	25	25	25	25	25	25	1
38	18/10/01	24	24	25	25	23	25	25	25	2
39	19/10/01	24	24	25	25	25	25	25	25	1

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	11/09/01	0	1	0	0	1	0	0	0	99
2	12/09/01	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	13/09/01	0	0	3	0	0	0	1	1	97,5
4	14/09/01	0	1	1	2	0	1	1	0	97
5	15/09/01	0	0	1	0	0	0	0	1	99
6	16/09/01	1	0	2	0	0	0	0	0	98,5
7	17/09/01	3	3	2	4	1	0	0	1	93
8	18/09/01	0	0	1	0	2	2	2	0	96,5
9	19/09/01	0	1	2	1	3	8	0	2	91,5
10	20/09/01	3	1	2	0	2	2	3	1	93
11	21/09/01	1	3	3	6	0	5	3	2	88,5
12	22/09/01	2	2	6	1	2	1	6	1	89,5
13	23/09/01	2	2	4	2	2	1	4	3	90
14	24/09/01	5	5	6	2	3	2	9	1	83,5
15	25/09/01	0	0	2	0	1	1	3	0	96,5
16	26/09/01	11	4	9	3	2	8	7	4	76
17	27/09/01	1	3	7	6	0	8	18	1	78
18	28/09/01	2	1	6	1	2	5	12	0	85,5
19	29/09/01	11	15	4	12	9	5	19	1	62
20	30/09/01	0	0	0	1	1	2	15	8	86,5
21	01/10/01	0	0	1	6	6	3	14	0	85
22	02/10/01	1	1	0	5	3	0	24	1	82,5
23	03/10/01	6	3	3	7	8	0	24	2	73,5
24	04/10/01	17	3	14	1	3	18	25	0	59,5
25	05/10/01	16	3	15	6	0	19	25	0	58
26	06/10/01	16	3	16	7	11	25*	25	5	46
27	07/10/01	18	9	24	8	14	25	16	8	39
28	08/10/01	17	10	17	6	11	16	23	3	48,5
29	09/10/01	7	8	9	5	9	18	20	0	62
30	10/10/01	21	19	23	12	22	21	18	12	26
31	11/10/01	23	22	23	18	22	25	25	1	20,5
32	12/10/01	24	25	25	17	23	20	22	1	21,5
33	13/10/01	24	22	23	24	25	24	22	3	16,5
34	14/10/01	24	24	25	25	25	25	25	11	8
35	15/10/01	24	25	25	25	23	23	25	6	12
36	16/10/01	25	25	24	25	25	25	25	18	4
37	17/10/01	24	26	25	25	25	25	25	18	3,5
38	18/10/01	25	25	25	25	25	25	24	22	2
39	19/10/01	25	24	25	24	25	25	24	23	2,5



## ANEXO 5

### ETAPA 3

#### AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO EFEITO RESIDUAL DE TRÊS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO TEMEPHOS (A, B, C) E DE DUAS APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DO *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* (D e E)

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos).

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	02/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	03/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	04/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	05/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	06/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	07/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
7	08/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
8	09/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	10/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
10	11/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
11	12/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	13/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
13	14/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
14	15/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
15	16/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
16	17/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
17	18/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
18	19/03/02	1	0	0	0	0	1	0	0	99
19	20/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
20	21/03/02	3	1	0	1	2	0	2	0	95,5
21	22/03/02	5	2	4	5	2	3	6	3	85
22	23/03/02	5	3	2	3	2	6	5	2	86
23	24/03/02	10	6	8	11	12	17	10	15	55,5
24	25/03/02	7	4	4	4	6	5	5	6	79,5
25	26/03/02	7	15	14	8	16	11	12	13	52
26	27/03/02	17	22	12	17	17	7	13	14	40,5
27	28/03/02	15	16	12	14	7	15	12	14	47,5
28	29/03/02	10	10	18	14	15	11	9	13	50
29	30/03/02	9	10	11	10	7	16	7	10	60
30	31/03/02	7	9	17	17	8	19	8	14	50,5
31	01/04/02	15	9	15	16	21	19	20	10	37,5
32	02/04/02	9	10	11	10	15	10	15	14	53
33	03/04/02	3	14	5	9	9	16	5	12	63,5
34	04/04/02	8	12	1	10	15	15	8	18	56,5
35	05/04/02	1	12	6	1	11	10	8	16	67,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
36	06/04/02	3	6	5	6	5	6	5	20	72
37	07/04/02	17	16	11	13	18	14	9	14	44
38	08/04/02	11	2	3	6	7	16	6	14	67,5
39	09/04/02	8	10	4	9	16	12	6	8	63,5
40	10/04/02	13	21	7	16	18	15	16	14	40
41	11/04/02	18	16	14	15	22	11	14	16	37
42	12/04/02	17	19	10	13	21	20	5	3	46
43	13/04/02	11	19	11	16	19	12	4	13	47,5
44	14/04/02	14	18	12	22	10	16	10	12	43
45	15/04/02	11	15	15	11	14	15	7	14	49
46	16/04/02	10	23	4	23	20	25	4	9	41
47	17/04/02	20	20	10	12	15	24	6	17	38
48	18/04/02	15	20	13	20	20	24	9	17	31
49	19/04/02	18	14	19	23	16	25	9	16	30
50	20/04/02	16	12	8	16	13	11	3	8	56,5
51	21/04/02	23	22	17	25	20	19	6	18	25
52	22/04/02	13	24	16	21	23	25	15	20	21,5
53	23/04/02	3	17	1	20	20	21	2	7	54,5
54	24/04/02	7	24	0	18	22	25	3	14	43,5
55	25/04/02	4	20	8	17	18	25	5	16	43,5
56	26/04/02	14	21	3	16	17	24	0	11	47
57	27/04/02	8	17	16	22	25	10	10	16	38
58	28/04/02	13	20	19	18	22	12	12	17	33,5
59	29/04/02	4	18	3	25	21	2	2	18	53,5
60	30/04/02	9	19	11	25	22	4	4	19	43,5
61	01/05/02	10	13	5	25	23	17	17	9	40,5
62	02/05/02	19	20	12	25	25	14	14	22	24,5
63	03/05/02	6	20	2	25	14	5	5	19	52
64	04/05/02	4	20	5	25	25	20	20	23	29
65	06/05/02	4	12	7	14	11	0	8	8	68
66	07/05/02	20	25	20	23	24	19	24	24	10,5
67	08/05/02	9	17	25	25	29	17	25	25	14
68	09/05/02	8	13	7	19	21	10	13	13	48
69	10/05/02	20	16	15	25	23	12	25	25	19,5
70	11/05/02	12	20	14	25	25	12	21	21	25
71	12/05/02	22	23	19	19	16	21	13	13	27
72	13/05/02	18	21	21	25	25	6	25	25	17
73	14/05/02	9	23	21	25	24	11	25	25	18,5
74	15/05/02	22	23	25	24	24	23	15	25	9,5
75	16/05/02	20	25	25	24	25	18	15	25	11,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
76	17/05/02	16	24	23	10	24	19	12	25	23,5
77	18/05/02	17	22	20	9	24	16	22	25	22,5
78	19/05/02	22	25	25	22	25	25	23	22	5,5
79	20/05/02	24	25	25	22	24	25	24	23	4
80	21/05/02	16	17	20	19	23	14	19	17	27,5
81	22/05/02	25	23	21	11	19	14	23	18	23
82	23/05/02	22	17	25	17	24	19	13	23	20
83	24/05/02	25	25	25	21	25	25	24	25	2,5
84	25/05/02	25	24	25	21	25	25	20	25	5
85	26/05/02	23	25	25	23	22	25	21	25	5,5
86	27/05/02	25	25	25	23	25	25	22	25	2,5
87	28/05/02	25	23	25	18	25	25	22	25	6
88	29/05/02	25	23	19	25	25	23	20	25	7,5
89	30/05/02	25	21	19	13	24	23	9	13	26,5
90	31/05/02	25	21	24	15	23	20	22	21	14,5
91	01/06/02	25	24	23	20	24	22	21	25	8
92	02/06/02	25	24	22	21	23	25	20	24	8
93	03/06/02	25	25	25	24	25	25	20	17	7
94	04/06/02	24	21	24	24	22	23	15	16	15,5
95	05/06/02	25	25	23	17	25	22	14	19	15
96	06/06/02	24	25	25	21	24	25	25	25	3
97	07/06/02	25	24	25	24	23	24	21	22	6
98	08/06/02	24	24	25	23	25	20	22	25	6
99	09/06/02	22	25	21	20	24	21	18	22	13,5
100	10/06/02	25	22	21	20	24	22	22	21	11,5
101	11/06/02	25	24	25	19	25	25	25	24	4
102	12/06/02	25	24	25	22	23	25	24	25	3,5





Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
40	10/04/02	0	0	0	0	0	0	1	0	99,5
41	11/04/02	0	0	0	0	1	0	0	8	99
42	12/04/02	0	0	0	0	0	0	0	1	99,5
43	13/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
44	14/04/02	1	0	0	0	0	0	0	0	99,5
45	15/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
46	16/04/02	0	0	1	0	1	0	1	0	98,5
47	17/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
48	18/04/02	2	0	0	4	4	0	2	0	94
49	19/04/02	1	0	1	0	1	3	0	1	96,5
50	20/04/02	1	0	0	0	0	0	2	0	98,5
51	21/04/02	2	0	3	0	1	2	4	2	93
52	22/04/02	2	0	2	0	2	1	7	1	92,5
53	23/04/02	0	1	2	0	1	0	3	0	96,5
54	24/04/02	0	0	4	0	0	0	1	5	95
55	25/04/02	3	0	0	0	1	2	1	0	96,5
56	26/04/02	0	0	1	0	0	0	0	1	99
57	27/04/02	4	0	2	0	4	2	5	6	88,5
58	28/04/02	4	0	1	1	0	4	2	2	93
59	29/04/02	2	1	1	0	2	4	4	1	92,5
60	30/04/02	4	1	2	0	1	3	4	3	91
61	01/05/02	0	0	1	0	2	0	0	0	98,5
62	02/05/02	4	0	2	0	5	1	4	3	90,5
63	03/05/02	3	0	1	1	3	3	4	3	91
64	04/05/02	3	0	2	1	4	2	2	1	92,5
65	06/05/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
66	07/05/02	2	0	2	0	1	4	3	4	92
67	08/05/02	3	1	6	1	1	7	10	0	85,5
68	09/05/02	0	5	0	0	2	2	1	0	95
69	10/05/02	1	2	1	0	0	1	1	0	97
70	11/05/02	1	0	2	3	0	3	2	0	94,5
71	12/05/02	2	1	5	3	3	1	2	3	90
72	13/05/02	3	3	11	0	2	10	3	4	82
73	14/05/02	3	6	7	2	8	9	3	0	81
74	15/05/02	2	1	5	6	6	10	3	3	82
75	16/05/02	2	0	1	1	2	7	0	1	93

76	17/05/02	5	4	5	3	3	1	0	0	89,5
77	18/05/02	0	0	4	6	2	5	2	3	89
78	19/05/02	5	5	10	6	7	3	4	0	80
79	20/05/02	1	3	6	2	8	1	1	0	89
80	21/05/02	2	8	4	5	1	4	0	0	88
81	22/05/02	2	3	7	3	4	1	0	0	90
82	23/05/02	0	4	4	6	3	5	1	1	88
83	24/05/02	0	9	9	9	7	7	4	3	76
84	25/05/02	1	2	5	5	3	7	1	3	86,5
85	26/05/02	2	13	16	5	8	9	2	2	71,5
86	27/05/02	5	8	13	8	5	7	3	5	73
87	28/05/02	2	5	7	8	4	4	2	2	83
88	29/05/02	0	5	4	10	6	7	0	1	83,5
89	30/05/02	0	8	6	12	2	6	2	2	81
90	31/05/02	2	2	3	5	1	4	1	1	90,5
91	01/06/02	4	12	5	11	6	1	1	9	75,5
92	02/06/02	1	9	1	10	2	3	0	1	86,5
93	03/06/02	1	6	1	8	2	5	2	0	87,5
94	04/06/02	3	9	1	16	4	8	2	1	78
95	05/06/02	0	7	1	5	2	2	1	0	91
96	06/06/02	2	8	1	8	4	5	1	1	85
97	07/06/02	1	17	7	15	7	7	4	4	69
98	08/06/02	1	20	0	12	0	6	4	0	78,5
99	09/06/02	3	23	4	21	12	12	4	4	58,5
100	10/06/02	2	16	7	25	5	6	7	15	58,5
101	11/06/02	1	10	2	7	2	9	4	2	81,5
102	12/06/02	1	14	2	19	6	7	5	6	70

---



Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
36	06/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
37	07/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
38	08/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
39	09/04/02	0	0	0	0	0	0	1	0	99,5
40	10/04/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
41	11/04/02	1	0	3	0	0	2	1	2	95,5
42	12/04/02	0	0	0	0	0	0	1	0	99,5
43	13/04/02	0	0	4	0	2	0	0	0	97
44	14/04/02	0	0	1	0	0	0	0	0	99,5
45	15/04/02	0	0	0	0	1	0	1	0	99
46	16/04/02	0	0	0	1	0	0	0	0	99,5
47	17/04/02	0	0	1	0	0	0	3	0	98
48	18/04/02	2	0	0	4	4	0	2	0	94
49	19/04/02	3	1	2	0	2	2	1	2	93,5
50	20/04/02	3	2	3	2	1	0	0	0	94,5
51	21/04/02	5	1	1	1	0	2	4	1	92,5
52	22/04/02	4	3	6	3	10	0	5	6	81,5
53	23/04/02	1	0	2	0	2	1	0	0	97
54	24/04/02	5	5	2	3	3	5	8	4	82,5
55	25/04/02	1	1	2	0	0	1	0	1	97
56	26/04/02	2	3	0	1	0	1	4	0	94,5
57	27/04/02	3	5	7	6	4	10	6	5	77
58	28/04/02	7	4	14	8	6	12	8	4	68,5
59	29/04/02	5	1	6	10	5	6	4	2	80,5
60	30/04/02	1	10	15	8	11	6	8	2	69,5
61	01/05/02	3	1	2	9	5	9	6	2	81,5
62	02/05/02	19	6	15	18	7	20	16	6	46,5
63	03/05/02	7	11	8	12	2	7	8	0	72,5
64	04/05/02	13	10	13	6	4	10	15	4	62,5
65	06/05/02	3	0	0	2	0	2	1	0	96
66	07/05/02	14	12	13	9	5	10	9	4	62
67	08/05/02	12	11	15	6	16	6	14	0	60
68	09/05/02	5	9	5	2	1	3	5	7	81,5
69	10/05/02	5	2	3	3	8	9	6	3	80,5
70	11/05/02	11	13	15	4	4	2	13	1	68,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
71	12/05/02	7	6	13	6	2	5	17	4	70
72	13/05/02	8	4	9	15	2	11	14	0	68,5
73	14/05/02	7	13	17	7	4	13	9	0	65
74	15/05/02	6	12	9	3	2	4	7	0	78,5
75	16/05/02	1	3	2	5	0	5	0	5	89,5
76	17/05/02	6	9	5	3	3	6	11	2	77,5
77	18/05/02	14	7	18	4	0	13	10	0	67
78	19/05/02	12	16	25	13	11	22	23	2	38
79	20/05/02	17	11	20	11	7	19	17	3	47,5
80	21/05/02	11	10	16	8	0	7	16	0	66
81	22/05/02	14	12	13	12	2	5	10	1	65,5
82	23/05/02	11	10	21	2	1	12	15	1	63,5
83	24/05/02	18	15	20	7	1	18	20	0	50,5
84	25/05/02	20	10	17	7	4	11	12	0	59,5
85	26/05/02	18	4	18	8	3	13	2	2	66
86	27/05/02	22	19	25	19	1	20	25	1	34
87	28/05/02	19	3	20	5	3	13	25	2	55
88	29/05/02	22	10	13	2	1	8	24	0	60
89	30/05/02	19	2	16	4	1	0	10	3	72,5
90	31/05/02	16	4	14	1	0	2	22	1	70
91	01/06/02	18	8	15	4	2	6	21	2	62
92	02/06/02	17	16	22	0	0	6	13	1	62,5
93	03/06/02	23	11	25	11	4	12	25	1	44
94	04/06/02	18	4	20	3	3	3	18	1	65
95	05/06/02	25	17	21	4	0	8	14	0	55,5
96	06/06/02	25	18	23	4	0	4	23	1	51
97	07/06/02	24	10	15	1	3	14	16	1	58
98	08/06/02	24	23	22	2	3	18	25	3	40
99	09/06/02	24	23	25	18	0	16	24	2	34
100	10/06/02	24	22	23	2	2	25	0	22	40
101	11/06/02	24	23	24	11	1	20	25	2	35
102	12/06/02	23	20	19	2	2	18	22	11	46,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker							% mortal.	
		1	2	3	4	5	6	7		8
71	12/05/02	7	6	13	6	2	5	17	4	70
72	13/05/02	8	4	9	15	2	11	14	0	68,5
73	14/05/02	7	13	17	7	4	13	9	0	65
74	15/05/02	6	12	9	3	2	4	7	0	78,5
75	16/05/02	1	3	2	5	0	5	0	5	89,5
76	17/05/02	6	9	5	3	3	6	11	2	77,5
77	18/05/02	14	7	18	4	0	13	10	0	67
78	19/05/02	12	16	25	13	11	22	23	2	38
79	20/05/02	17	11	20	11	7	19	17	3	47,5
80	21/05/02	11	10	16	8	0	7	16	0	66
81	22/05/02	14	12	13	12	2	5	10	1	65,5
82	23/05/02	11	10	21	2	1	12	15	1	63,5
83	24/05/02	18	15	20	7	1	18	20	0	50,5
84	25/05/02	20	10	17	7	4	11	12	0	59,5
85	26/05/02	18	4	18	8	3	13	2	2	66
86	27/05/02	22	19	25	19	1	20	25	1	34
87	28/05/02	19	3	20	5	3	13	25	2	55
88	29/05/02	22	10	13	2	1	8	24	0	60
89	30/05/02	19	2	16	4	1	0	10	3	72,5
90	31/05/02	16	4	14	1	0	2	22	1	70
91	01/06/02	18	8	15	4	2	6	21	2	62
92	02/06/02	17	16	22	0	0	6	13	1	62,5
93	03/06/02	23	11	25	11	4	12	25	1	44
94	04/06/02	18	4	20	3	3	3	18	1	65
95	05/06/02	25	17	21	4	0	8	14	0	55,5
96	06/06/02	25	18	23	4	0	4	23	1	51
97	07/06/02	24	10	15	1	3	14	16	1	58
98	08/06/02	24	23	22	2	3	18	25	3	40
99	09/06/02	24	23	25	18	0	16	24	2	34
100	10/06/02	24	22	23	2	2	25	0	22	40
101	11/06/02	24	23	24	11	1	20	25	2	35
102	12/06/02	23	20	19	2	2	18	22	11	46,5

## ANEXO 8

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial D (*Bacillus thuringiensis israelensis*).

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.	
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1	02/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	03/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	04/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	05/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	06/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	07/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
7	08/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
8	09/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	10/03/02	0	0	0	0	1	0	0	0	0	99,5
10	11/03/02	0	1	1	0	0	0	0	0	0	99
11	12/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	13/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
13	14/03/02	0	0	0	0	0	1	1	0	0	99
14	15/03/02	0	0	0	1	0	0	0	0	0	99,5
15	16/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
16	17/03/02	0	0	0	0	0	0	3	0	0	98,5
17	18/03/02	0	0	0	0	0	0	4	0	0	98
18	19/03/02	0	1	0	4	0	0	0	1	0	97
19	20/03/02	0	0	1	0	0	1	0	1	0	98,5
20	21/03/02	2	1	1	0	0	0	3	0	0	96,5
21	22/03/02	0	0	0	0	0	0	2	0	0	99
22	23/03/02	0	0	0	0	0	0	7	0	0	96,5
23	24/03/02	1	0	1	3	0	0	20	1	0	87
24	25/03/02	1	2	0	1	1	0	25	0	0	85
25	26/03/02	3	5	0	2	1	1	24	3	0	80,5
26	27/03/02	4	3	1	2	0	0	23	1	0	83
27	28/03/02	6	1	1	11	1	1	22	3	0	77
28	29/03/02	2	2	1	2	6	6	8	1	0	86
29	30/03/02	1	1	0	3	2	0	12	2	0	89,5
30	31/03/02	2	0	1	0	2	0	19	3	0	86,5
31	01/04/02	25	0	0	12	9	0	25	1	0	64
32	02/04/02	16	0	0	3	1	2	10	2	0	83
33	03/04/02	14	0	0	2	2	8	8	8	0	79
34	04/04/02	5	0	3	8	3	3	10	5	0	81,5
35	05/04/02	7	0	3	6	1	0	6	3	0	87
36	06/04/02	13	0	1	2	0	0	12	5	0	83,5
37	07/04/02	25	0	10	19	7	2	24	3	0	55



Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
38	08/04/02	22	0	1	7	3	0	15	4	74
39	09/04/02	7	0	3	10	11	2	9	2	78
40	10/04/02	7	0	12	13	4	5	13	20	63
41	11/04/02	10	2	17	11	18	7	22	16	48,5
42	12/04/02	7	2	24	14	12	8	18	20	47,5
43	13/04/02	9	1	22	6	6	10	13	7	63
44	14/04/02	4	3	20	9	12	7	9	8	64
45	15/04/02	13	7	23	4	11	12	8	4	59
46	16/04/02	11	0	25	7	16	6	16	8	55,5
47	17/04/02	6	5	25	6	11	14	16	6	55,5
48	18/04/02	11	9	17	10	13	9	22	25	42
49	19/04/02	16	7	25	5	14	10	20	21	41
50	20/04/02	7	7	14	4	6	1	11	12	69
51	21/04/02	17	15	25	12	11	6	21	25	34
52	22/04/02	14	23	25	13	13	12	23	25	26
53	23/04/02	8	23	24	1	9	2	13	18	51
54	24/04/02	13	24	17	1	13	4	21	24	41,5
55	25/04/02	12	25	24	0	16	13	18	16	38
56	26/04/02	9	25	25	1	16	19	20	23	31
57	27/04/02	24	22	22	8	14	10	25	23	26
58	28/04/02	18	23	25	5	10	10	18	25	33
59	29/04/02	12	25	25	7	12	17	22	16	32
60	30/04/02	22	24	25	1	7	12	22	19	34
61	01/05/02	15	22	15	2	6	5	10	21	52
62	02/05/02	19	23	25	7	6	12	25	20	31,5
63	03/05/02	20	25	25	3	4	2	25	25	35,5
64	04/05/02	17	22	25	0	6	2	24	23	40,5
65	06/05/02	12	21	22	1	1	0	8	1	67
66	07/05/02	6	25	25	4	6	5	18	25	43
67	08/05/02	11	25	25	5	3	12	20	25	37
68	09/05/02	8	23	12	6	1	7	15	22	53
69	10/05/02	7	25	11	3	0	2	16	25	55,5
70	11/05/02	6	20	8	5	2	8	17	24	55
71	12/05/02	18	22	19	9	7	21	17	19	34
72	13/05/02	20	25	14	6	8	12	25	25	32,5
73	14/05/02	14	25	5	5	5	8	22	19	48,5
74	15/05/02	22	23	9	16	10	18	20	17	32,5
75	16/05/02	19	22	5	3	0	5	6	3	68,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
76	17/05/02	22	24	17	3	2	19	13	4	48
77	18/05/02	25	25	25	16	4	24	22	11	24
78	19/05/02	25	25	22	20	13	25	23	21	13
79	20/05/02	25	25	25	13	11	23	21	15	21
80	21/05/02	24	24	11	11	3	9	16	9	46,5
81	22/05/02	25	24	15	6	4	25	14	9	39
82	23/05/02	25	25	24	12	4	22	15	15	29
83	24/05/02	23	25	23	5	15	25	22	22	20
84	25/05/02	23	25	21	14	10	25	22	20	20
85	26/05/02	22	25	22	18	17	25	20	17	17
86	27/05/02	25	25	25	23	13	25	25	22	8,5
87	28/05/02	21	25	18	20	7	20	19	18	26
88	29/05/02	24	23	21	18	6	15	14	15	32
89	30/05/02	25	22	17	11	3	23	2	3	47
90	31/05/02	25	25	21	17	15	25	22	15	17,5
91	01/06/02	25	25	16	12	12	25	15	6	32
92	02/06/02	25	24	19	13	4	25	17	10	31,5
93	03/06/02	24	24	18	16	16	20	22	19	20,5
94	04/06/02	25	24	17	8	3	25	17	6	37,5
95	05/06/02	23	25	25	12	9	25	25	23	16,5
96	06/06/02	16	25	24	13	10	25	23	25	19,5
97	07/06/02	21	15	25	5	13	21	12	19	34,5
98	08/06/02	25	24	25	11	9	22	23	22	19,5
99	09/06/02	23	25	25	17	19	24	23	25	9,5
100	10/06/02	25	25	22	18	19	25	25	24	8,5
101	11/06/02	25	25	25	16	24	25	25	25	5
102	12/06/02	22	25	23	17	21	24	22	25	10,5

## ANEXO 9

Distribuição da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial E (*Bacillus thuringiensis israelensis*)

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1	02/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
2	03/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
3	04/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
4	05/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
5	06/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
6	07/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
7	08/03/02	0	0	0	0	0	1	0	0	99,5
8	09/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
9	10/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
10	11/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
11	12/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
12	13/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
13	14/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
14	15/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
15	16/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
16	17/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
17	18/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
18	19/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
19	20/03/02	0	0	0	0	0	0	0	0	100
20	21/03/02	0	0	0	0	1	0	0	0	99,5
21	22/03/02	0	0	0	1	0	0	0	0	99,5
22	23/03/02	0	0	0	1	0	0	0	0	99,5
23	24/03/02	0	0	0	5	0	0	0	0	97,5
24	25/03/02	0	0	2	1	0	0	0	0	98,5
25	26/03/02	0	2	5	1	1	2	0	1	94
26	27/03/02	1	2	4	0	0	0	1	1	95,5
27	28/03/02	0	2	6	1	1	1	0	1	94
28	29/03/02	0	0	0	3	0	1	0	1	97,5
29	30/03/02	2	0	0	0	3	0	0	0	97,5
30	31/03/02	3	0	0	0	0	4	3	0	95
31	01/04/02	2	1	3	2	1	2	1	3	92,5
32	02/04/02	2	1	1	2	1	4	2	2	92,5
33	03/04/02	1	1	4	2	3	1	0	1	93,5
34	04/04/02	4	2	4	5	2	0	0	1	91
35	05/04/02	3	3	0	1	2	1	1	2	93,5
36	06/04/02	1	0	3	4	1	0	1	0	95
37	07/04/02	4	1	7	6	2	0	1	0	89,5

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
38	08/04/02	3	1	3	3	3	2	1	2	91
39	09/04/02	2	2	3	0	2	5	6	0	90
40	10/04/02	8	2	11	3	1	6	2	3	82
41	11/04/02	0	0	1	0	1	5	4	0	94,5
42	12/04/02	0	0	0	0	3	9	2	5	90,5
43	13/04/02	7	3	16	7	0	6	0	2	79,5
44	14/04/02	6	3	14	5	3	4	3	3	79,5
45	15/04/02	4	3	16	8	1	5	2	1	80
46	16/04/02	9	7	22	19	1	4	4	6	64
47	17/04/02	9	6	24	13	6	3	5	3	64
48	18/04/02	16	7	25	16	5	6	2	8	57,5
49	19/04/02	6	4	25	10	4	6	5	1	69,5
50	20/04/02	5	3	23	11	2	1	6	6	71,5
51	21/04/02	8	6	25	16	9	3	6	7	60
52	22/04/02	14	5	25	25	7	3	3	9	54,5
53	23/04/02	17	1	23	25	5	2	4	1	61
54	24/04/02	17	2	25	22	3	4	3	1	61,5
55	25/04/02	22	2	25	22	9	7	8	6	49,5
56	26/04/02	22	5	24	25	20	5	17	5	38,5
57	27/04/02	18	7	25	23	18	7	9	18	32,5
58	28/04/02	25	6	25	24	23	13	8	8	34
59	29/04/02	17	7	25	25	25	4	4	12	40,5
60	30/04/02	25	6	25	18	25	8	6	9	39
61	01/05/02	18	5	24	13	23	13	1	8	47,5
62	02/05/02	25	13	25	25	25	16	7	3	30,5
63	03/05/02	25	3	22	0	21	11	6	9	51,5
64	04/05/02	21	4	11	23	24	6	5	4	51
65	06/05/02	17	0	9	21	25	6	2	1	59,5
66	07/05/02	25	13	0	11	22	8	19	0	51
67	08/05/02	14	2	1	19	18	15	8	8	57,5
68	09/05/02	18	7	10	25	25	16	3	15	40,5
69	10/05/02	22	6	13	22	25	23	7	15	33,5
70	11/05/02	20	5	19	25	21	18	4	19	34,5
71	12/05/02	18	7	18	21	25	14	5	3	44,5
72	13/05/02	21	10	22	23	21	25	3	15	30
73	14/05/02	22	15	24	25	25	14	1	23	25,5
74	15/05/02	25	21	25	17	24	25	13	24	13
75	16/05/02	7	5	14	18	14	7	1	0	67

Esvaz.	Data da leitura	Número de larvas vivas no becker								% mortal.
		1	2	3	4	5	6	7	8	
76	17/05/02	1	12	7	4	25	23	1	25	51
77	18/05/02	6	13	24	17	25	23	6	25	30,5
78	19/05/02	25	21	21	22	25	25	16	22	11,5
79	20/05/02	25	25	21	19	25	22	6	25	16
80	21/05/02	25	19	19	14	25	24	0	25	24,5
81	22/05/02	25	19	10	12	25	20	0	16	36,5
82	23/05/02	25	25	19	16	24	24	0	25	21
83	24/05/02	22	25	23	18	24	25	6	25	16
84	25/05/02	24	25	25	21	25	25	0	25	15
85	26/05/02	23	20	25	19	23	24	1	25	20
86	27/05/02	25	25	24	23	25	25	5	25	11,5
87	28/05/02	24	19	19	20	23	24	0	25	23
88	29/05/02	24	21	18	17	25	25	0	25	22,5
89	30/05/02	22	15	10	16	21	19	0	25	36
90	31/05/02	25	25	24	19	23	25	5	25	14,5
91	01/06/02	25	25	24	18	20	21	3	25	19,5
92	02/06/02	25	23	22	19	17	23	5	24	21
93	03/06/02	25	22	19	23	21	25	5	25	17,5
94	04/06/02	18	21	15	17	20	22	0	23	32
95	05/06/02	24	25	20	23	24	25	9	25	12,5
96	06/06/02	25	25	23	13	25	25	5	23	18
97	07/06/02	25	25	24	24	25	25	6	25	10,5
98	08/06/02	25	25	23	25	22	25	8	25	11
99	09/06/02	21	25	15	25	24	25	16	23	13
100	10/06/02	25	25	25	25	25	20	16	25	7
101	11/06/02	25	22	25	21	25	23	10	22	13,5
102	12/06/02	25	25	25	25	25	25	7	25	9

# ARTIGO I

MONITORAMENTO DO EFEITO RESIDUAL DE APRESENTAÇÕES  
COMERCIAIS DE LARVICIDAS NO PROGRAMA DE CONTROLE DO *Aedes*  
*Aegypti*: RELATO DE EXPERIÊNCIA INSTITUCIONAL E AVALIAÇÃO  
COMPARATIVA DE EFICÁCIA

MONITORING RESIDUAL EFFECT OF COMMERCIAL APPLICATIONS OF  
LARVICIDES UNDER THE *Aedes Aegypti* CONTROL PROGRAM: REPORT  
ON INSTITUTIONAL EXPERIENCE AND COMPARATIVE EVALUATION OF  
EFFECTIVENESS

Regazzi ACF<sup>1</sup>;  
Pontes RJS<sup>2</sup>;  
Lima JWO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fundação Nacional de Saúde/Coordenação Regional do Ceará.

<sup>2</sup> Departamento de Saúde Comunitária/Universidade Federal do Ceará

Apoio: CNPq (processo 521162/98-0) e FUNCAP (processo 164/01).

Pesquisa realizada no Departamento de Saúde Comunitária/Faculdade de  
Medicina/Universidade Federal do Ceará.

Extraído da Dissertação de Mestrado intitulada “Avaliação do Efeito Residual e da  
Mortalidade de Larvas de *Aedes aegypti* Expostas ao *Bacillus thuringiensis israelensis*  
e ao temephos [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza (CE): Mestrado em Saúde Pública,  
Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade  
Federal do Ceará; 2003.”

Endereço para correspondência:

Ana Cláudia Ferreira Regazzi

Rua Professor Costa Mendes 1608, 5º andar/Rodolfo Teófilo

Fortaleza-Ceará, Brasil. CEP: 60431-970

Fone: (085) 2888044 Fax (085) 2888050

claudiaregazzi@globo.com

MONITORAMENTO DO EFEITO RESIDUAL DE LARVICIDAS

## Resumo

O controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza utilizou o larvicida temephos, sem avaliação de efetividade, entre 1986-1999. Objetivou-se monitorar o efeito residual de apresentações comerciais de larvicidas através de ensaios laboratoriais. No primeiro, uma apresentação do temephos (100% de mortalidade de larvas por 30 dias/acima de 70% por 50 dias) foi superior àquela tradicional (100%-15 dias/acima de 70%-18 dias). Outro ensaio mostrou uma apresentação do temephos (99,8%-11 dias/acima de 70%-15 dias) inferior a uma apresentação do larvicida biológico Bti (99%-5 dias/acima de 70%-22 dias). Novo ensaio mostrou duas apresentações do temephos com melhor efeito residual (respectivamente 100%-39 dias/acima de 70%-102 dias e 100%-40 dias/acima de 70%-82 dias), seguido por uma apresentação do Bti (97,5%-29 dias/acima de 70%-45 dias). A mesma apresentação do temephos, de largo uso, mostrou pior efeito residual em todos os experimentos. Sugere-se que o Ministério da Saúde promova avaliações periódicas dos larvicidas em uso no país.



## Abstract

For control of *Aedes aegypti* in Fortaleza, the larvicide temephos was used, with no assessment of effectiveness, between 1986 and 1999. The aim of this study was to monitor residual effect of commercial applications of larvicides through laboratory tests. In the first, one application of temephos (100% larvae mortality at 30 days/ over 70% at 50 days) was superior to the traditional application (100% at 15 days/ over 70% at 18 days). Another test showed an application of temephos (99.8% at 11 days/ over 70% at 15 days) lower than application of the biological larvicide Bti (99% at 5 days/ over 70% at 22 days). A new test showed two applications of temephos to have a better residual effect (respectively, 100% at 39 days/ over 70% at 102 days and 100% at 40 days/ over 70% at 82 days), followed by an application of Bti (97.5% at 29 days/ over 70% at 45 days). The same application of temephos, widely used, showed a worse residual effect in all experiments. It is suggested that the Ministry of Health promote periodic assessments of larvicides used in the country.

Palavras Chave: larvicida; controle vetorial; efeito residual; avaliação; *Aedes aegypti*; controle químico; controle biológico; eficácia

Key words: larvicide; vector control; residual effect; evaluation; *Aedes aegypti*; chemical control; biological control; effectiveness; dengue; control of dengue.

## INTRODUÇÃO

O combate ao *Aedes aegypti* tradicionalmente foi realizado por meio de medidas que reduziam a oferta de criadouros no ambiente domiciliar e através do controle químico das formas imaturas (larvas) ou das formas adultas do vetor, utilizando largamente pessoal técnico vinculado a programas verticais nacionais <sup>1,2</sup>. As estratégias centradas na participação da população, visando a redução do número de criadouros, foram cada vez mais valorizadas pelas ações de controle a partir dos anos 1990 <sup>3</sup>. Paralelamente, outras estratégias alternativas ganharam destaque, como foram a adoção de medidas de manejo ambiental e o controle biológico do vetor <sup>4</sup>. O controle químico, entretanto, continuou sendo uma estratégia que ocupou lugar de destaque nas ações antivetoriais, no contexto de expansão do dengue nas Américas em geral, e no Brasil, em particular <sup>5</sup>.

O Programa de Controle do *Aedes aegypti* no estado do Ceará, iniciado em 1986, utilizou regularmente o controle químico como uma de suas estratégias principais, e, particularmente, centrou-se no uso do larvicida químico temephos nas ações desenvolvidas pelas equipes de campo <sup>6</sup>. Só mais recentemente, outras estratégias, particularmente de controle biológico utilizando peixes larvófagos em larga escala, foram introduzidas nas ações antivetoriais <sup>7,8</sup>.

Entretanto, apesar do uso sistemático como estratégia central desde 1986, nenhuma avaliação de efetividade de larvicidas foi realizada no programa de controle estadual, e particularmente na cidade de Fortaleza, visando orientar as ações antivetoriais, durante um longo período de tempo. A primeira avaliação do efeito residual de larvicidas em Fortaleza aconteceu somente em 1999, quando se comparou uma apresentação comercial do temephos recentemente introduzida, com uma outra, de

uso tradicional <sup>9</sup>. No final do ano de 2000, introduziu-se nesse município o larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), em substituição ao temephos. Um ensaio laboratorial, em 2001, comparou o efeito residual da apresentação comercial do temephos em uso com a apresentação do *Bacillus thuringiensis israelensis* recém introduzida <sup>10</sup>. A observação de resultados contraditórios nesses ensaios levou a novo estudo, realizado em 2002, para avaliar simultaneamente o efeito residual de três apresentações comerciais do temephos e duas do Bti, utilizados no Programa de Controle do *Aedes aegypti* no Ceará <sup>11</sup>.

Os objetivos do presente trabalho foram: a) relatar a experiência institucional de monitoramento do efeito residual de larvicidas realizado nesses três ensaios laboratoriais pela equipe de pesquisadores da Coordenação Regional da Fundação Nacional de Saúde do Ceará e da Universidade Federal do Ceará; b) descrever o contexto e as repercussões dessa série de ensaios laboratoriais em relação às ações de controle vetorial; c) e avaliar comparativamente o efeito residual de diversas apresentações comerciais de larvicidas químicos e biológicos utilizados pelo programa de controle do *Aedes aegypti*.

✦

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma série sucessiva de três ensaios laboratoriais (aqui denominadas Experimentos 1, 2 e 3) com o propósito de avaliar comparativamente o efeito residual de larvicidas usados no Programa de Controle do *Aedes aegypti*. A investigação foi desenvolvida, em suas diversas etapas, no Laboratório de Entomologia da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) e da Célula de Controle de Endemias Transmissíveis por Vetores da Secretaria de Saúde do Estado CETRAV/SESA

(Experimentos 1 e 2); e no Laboratório de *Aedes aegypti* da Universidade Federal do Ceará (U.F.C) – Departamento de Saúde Comunitária (Experimentos 3).

Utilizou-se para a produção de larvas uma colônia de *Aedes aegypti* originada de ovos coletados em campo, na grande Fortaleza. Os ovos foram submetidos a desenvolvimento em laboratório, produzindo diversas gerações de larvas utilizadas nos testes laboratoriais. Optou-se por utilizar o método de renovação de água <sup>12</sup> nos recipientes usados nos experimentos, conforme será descrito a seguir, para simular os tipos de depósitos mais prevalentes na infestação pelo mosquito *Aedes aegypti* no município de Fortaleza (caixas d'água, tambores, potes e cisternas) <sup>13</sup>.

As apresentações comerciais avaliadas foram: Larvell (temephos – 1%); Larvyn (temephos – 1%); Abate (temephos – 1%); Vectobac – WDG (*Bacillus thuringiensis subsp.israelensis*, sorotipo H14 – em pó); Vectobac G (*Bacillus thuringiensis subsp.israelensis*, sorotipo H14 – em grânulos de sabugo de milho). As amostras de larvicidas foram obtidas junto à gerência regional e nacional do programa de controle do *Aedes aegypti*, sendo aquelas que estavam em uso no trabalho de campo. Na descrição dos experimentos utilizou-se códigos em substituição aos nomes comerciais dos larvicidas conforme se segue: apresentação comercial A: Abate; apresentação comercial B: Larvell; apresentação comercial C: Larvyn; apresentação comercial D: Vectobac G; e apresentação comercial E: Vectobac WDG.

O indicador utilizado para aferir o efeito residual dos larvicidas foi o percentual de mortalidade diária de larvas expostas ao respectivo produto (calculado através da soma das mortalidades em cada um dos recipientes contendo um determinado larvicida, dividido pelo total de larvas expostas, em todos os recipientes, ao mesmo larvicida). Utilizou-se como critério para definição de boa eficácia dos larvicidas

estudados o período de efeito residual máximo alcançado (o período com 100% de mortalidade de larvas) e o período correspondente a uma mortalidade de larvas superior a 70%, estabelecendo-se este limite inferior de acordo com o proposto por Chadee, em estudo utilizando metodologia semelhante <sup>12</sup>.

#### PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS:

##### a) EXPERIMENTO 1 : comparação de duas apresentações comerciais do temephos

No experimento 1, inicialmente foi avaliado o efeito residual da apresentação comercial B (no período de 26/12/1999 a 25/02/2000) e, na seqüência, da apresentação comercial A (no período de 29/03/2001 a 26/04/2001), ambas as apresentações comerciais do Temephos obtidas de amostra em uso rotineiro pelo programa de controle vetorial no estado do Ceará.

Foram utilizados béqueres de 400ml com água de torneira para a apresentação comercial B e béqueres de 1000 ml para a apresentação comercial A. Para cada apresentação comercial testada usou-se 8 béqueres, onde foram adicionadas no primeiro dia de cada experimento uma dosagem do larvicida de acordo com o indicado pelo programa de controle, empregando-se para aferição balança analítica de precisão: apresentação comercial B - 0,04g e apresentação comercial A - 0,1g. Em outros 4 béqueres não foram adicionados larvicidas (controles). A cada dia, os béqueres eram esvaziados com o auxílio de mangueiras plásticas, permanecendo um volume residual de 100ml na apresentação comercial B e de 200 ml na apresentação comercial A. Em seguida era adicionada nova água (sem reposição dos larvicidas) até completar o volume máximo dos respectivos béqueres. Diariamente, em cada béquer, foram introduzidas 20 larvas de *Aedes aegypti* totalizando 160 larvas. Estas larvas

permaneceram nos béqueres por 24 horas, quando foi feita a leitura do número de indivíduos mortos. O tempo de observação do experimento com a apresentação comercial B foi de 56 dias e com a apresentação comercial A foi de 29 dias.

b) EXPERIMENTO 2: comparação de uma apresentação comercial do temephos com uma apresentação comercial do Bti

No Experimento 2 foram comparados simultaneamente o larvicida biológico D (*Bacillus thuringiensis israelensis*) com o larvicida químico A (temephos), no período de 11/09/2001 a 19/10/2001, obtidos de amostra em uso no programa de controle vetorial do estado do Ceará.

Foram utilizados 08 béqueres de 1.000ml com água de torneira para cada larvicida, totalizando 16 béqueres e dosagem de acordo com o indicado pelo programa de controle, aferida através de balança eletrônica de precisão: apresentação comercial D - 0,02g; e apresentação comercial A - 0,1g. Em cada béquer foram introduzidas diariamente 25 larvas de terceiro estágio, totalizando 400 larvas. Em outros 08 béqueres de 1.000 ml que serviram de controle, foram introduzidas também 25 larvas, totalizando 200 larvas. Os controles foram os mesmos para os dois larvicidas, já que o experimento foi realizado simultaneamente para ambas as apresentações comerciais. Todos os dias os depósitos eram esvaziados com auxílio de mangueiras plásticas permanecendo um volume residual de água de 200ml. Após os esvaziamentos era acrescida nova água até atingir o volume de 1.000 ml. As leituras também foram diárias, através da contagem do número de larvas mortas. O tempo de observação deste experimento foi de 39 dias.

c) EXPERIMENTO 3: comparação de três apresentações comerciais do temephos com duas apresentações comerciais do Bti.

No experimento 3 foram avaliados simultaneamente os larvicidas temephos (apresentações comerciais A, B e C) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentações comerciais D e E), no período de 02/03/2002 a 12/06/2002, utilizando amostras originadas do programa de controle vetorial no estado do Ceará, com exceção da apresentação comercial A, obtida junto à gerência nacional do programa, em Brasília (por não estar disponível no estado naquele momento).

Foram utilizados 08 béqueres de 1.000ml com água de torneira para cada larvicida e 8 béqueres como controle, sem larvicida. As dosagens dos larvicidas, de acordo com o indicado pelo programa de controle, foram: temephos, apresentações comerciais A, B e C: 0,1g; B.t.i, apresentação comercial D: 0,02g; e apresentação comercial E: 0,002g. Os demais procedimentos metodológicos foram os mesmos descritos no experimento anterior. O período de observação deste experimento foi de 102 dias.

## ▪ RESULTADOS

O experimento 1 comparou o efeito residual de duas apresentações comerciais do larvicida químico temephos, aqui denominadas A e B, sobre larvas de *Aedes aegypti*. No Gráfico 1, pode-se acompanhar a evolução diária da mortalidade de larvas em todo o período dos dois ensaios realizados.

Observou-se que a apresentação comercial A obteve um efeito residual que variou de valores entre 100% a 5,63% de mortalidade de larvas, nos 29 dias de desenvolvimento desse experimento. Durante os primeiros 11 dias, a mortalidade de



larvas atingiu o patamar máximo de 100,00%, com pequeno decréscimo até os 15 dias, para valores em torno de 98-99,00% (entre 12 e 15 dias, a mortalidade média foi de 99,07%, com mediana de 100,00%); em seguida, observou-se um declínio abrupto para níveis em torno de 72% (dias 16 e 17), sendo que, a partir de 18 dias de experimento, o percentual de mortalidade de larvas reduziu-se para valores inferiores a 70%, tomado como limite inferior de eficácia no presente estudo.

A apresentação comercial B mostrou um efeito residual entre 100% e 47,50%, nos 56 dias de experimento. Durante os primeiros 17 dias do ensaio, verificou-se o efeito residual máximo, com uma mortalidade de 100,00%; em torno de 30 dias, esta apresentação comercial ainda promovia uma mortalidade em patamares muito elevados, cerca de 93,12% (entre 18 e 30 dias, a mortalidade média foi de 95,67%, com mediana de 98,12%); aos 46 dias do estudo, atingiu 81,25% de mortalidade (de 31 a 46 dias de observação, a mortalidade média atingiu um percentual de 78,47% de larvas, com uma mediana de 75,00%), tendendo a partir de então (47 dias) para valores abaixo de 70% de mortalidade.

O experimento 2 compreendeu a comparação de uma apresentação comercial do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentação comercial D), com uma apresentação comercial do larvicida químico temephos (apresentação comercial A), avaliados simultaneamente em um mesmo experimento, com duração de 39 dias. No Gráfico 2, pode-se acompanhar a evolução diária desse experimento.

A apresentação comercial A mostrou um efeito residual com valores entre 100,00 a 1,00% de mortalidade de larvas, em 39 dias de observação. O percentual máximo de mortalidade ocorreu durante os primeiros 11 dias do experimento, em geral em torno de 100% (entre 1 e 11 dias, a mortalidade média foi de 99,82%, com mediana

de 99,50%); com 16 dias, a mortalidade de larvas reduziu-se para 74,50% (entre 12 e 16 dias, a mortalidade média era de 85,70%, com mediana de 86,50%), ultrapassando o limiar inferior de 70% a partir de 17 dias.

A apresentação comercial D mostrou um efeito residual entre 100,00 a 2,00% de mortalidade de larvas, nos 39 dias de experimentação. Durante os primeiros 5 dias verificou-se um percentual de mortalidade máxima de larvas em torno de 99,00% (entre 1 e 5 dias, a mortalidade média foi de 98,50%, com mediana de 97,50%) e até 10 dias, a mortalidade permaneceu ainda em patamares elevados, com 93,00% (entre 6 e 10 dias, a mortalidade média foi de 94,50% e mediana de 96,50%); aos 23 dias de observação, esta apresentação comercial mostrou um percentual de mortalidade de 73,50% (entre 11 e 23 dias, a mortalidade média foi de 82,85%, com mediana de 78,00%), permanecendo a partir daí (24 dias) em níveis de mortalidade abaixo de 70%.

O experimento 3 comparou simultaneamente, no mesmo procedimento experimental, três apresentações comerciais do larvicida químico temephos (apresentações A, B e C) e duas apresentações comerciais do larvicida biológico *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentações D e E).

➤ No Gráfico 3, pode-se acompanhar a evolução diária da mortalidade devida à exposição às três apresentações comerciais do temephos (A, B e C).

A apresentação comercial A (temephos) mostrou percentuais de mortalidade de larvas que variaram de valores entre 100,00 a 2,50%, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento. A mortalidade máxima, com eliminação total de larvas (100,00%), foi observada durante os primeiros 19 dias; reduzindo-se para 86,00% aos 22 dias (entre 20 e 22 dias, a mortalidade média foi de 88,83%, com mediana de

85,00%); a partir de 23 dias, a mortalidade de larvas permaneceu no patamar inferior a 70%.

A apresentação comercial B (temephos) mostrou valores de efeito residual que variaram entre 100% a 58,50% de mortalidade de larvas, nos 102 dias de desenvolvimento do experimento. Durante os primeiros 39 dias, a mortalidade ficou no patamar máximo de 100,00%; ao completar 50 dias, a mortalidade permaneceu muito elevada, com 98,50% (entre 40 e 50 dias, a mortalidade média foi de 98,64%, com mediana de 100,00%), e aos 71 dias, com 90% (entre 51 e 71 dias, a mortalidade média foi de 93,52%, com mediana de 98,50%); no período entre 72 e 102 dias de experimento, esta apresentação comercial manteve níveis relativamente elevados de efeito residual, com um valor de 70,00% aos 102 dias (entre 72 e 102 dias, a mortalidade média foi de 81,16%, com mediana de 83,00%).

A apresentação comercial C mostrou um efeito residual que variou de valores extremos entre 100,00 a 34,00% de mortalidade de larvas, em 102 dias. Essa apresentação foi capaz de eliminar completamente todas as larvas expostas (um percentual de mortalidade de 100,00%) durante os primeiros 40 dias do ensaio laboratorial; aos 51 dias estava com um percentual ainda muito elevado, de 92,50% (entre 41 e 51 dias, a mortalidade média foi de 96,59%, com mediana de 99,50%); no período subsequente, houve uma tendência de redução permanente, com grandes oscilações na mortalidade de larvas (média de 76,34% e mediana de 62,50% no período de 52 a 76 dias), até atingir-se um patamar inferior a 70%, aos 77 dias do experimento.

No Gráfico 4, apresenta-se a evolução diária do experimento com as duas apresentações comerciais do Bti (D e E).

A apresentação comercial D mostrou um efeito residual entre 100,00 a 5,00% de mortalidade de larvas, nos 102 dias do experimento. A eficácia máxima, expressa pelo percentual de mortalidade de larvas de 100,00%, foi observada durante os primeiros 8 dias do experimento; entretanto, até 22 dias, a mortalidade atingiu uma faixa acima de 97,00% (entre 9 e 22 dias, a mortalidade média foi de 98,64%, com uma mediana de 98,50%); na seqüência, ao completar 39 dias, o percentual de mortalidade de larvas foi de 78,00% (entre 23 e 39 dias, a mortalidade média foi de 79,97% e mediana de 64,00%), caindo para valores abaixo de 70% a partir desse período (40 dias).

A apresentação comercial E mostrou um efeito residual que variou de 100,00 a 7,00% de mortalidade de larvas, nos 102 dias do ensaio laboratorial. Durante os primeiros 19 dias, essa apresentação mostrou um percentual de mortalidade de 100,00%; até 29 dias, observaram-se percentuais de mortalidade extremamente elevados, de 97,50% (entre 20 e 29 dias, a média de mortalidade era de 97,30% e a mediana de 94,00%); com 42 dias, a mortalidade de larvas alcançou um percentual de 90,50% (entre 30 e 42 dias, a mortalidade média era de 91,58%, com mediana de 95,00%); entretanto, a partir de 46 dias a mortalidade de larvas permaneceu em níveis abaixo de 70%.

Observou-se no experimento 3, em síntese, que as apresentações B e C do temephos mostraram melhor desempenho por um período muito mais prolongado do que o Bti (apresentações D e E). Entretanto, a apresentação comercial A do temephos teve um desempenho inferior a todas as outras apresentações comerciais, inclusive aquelas do mesmo princípio ativo (temephos, apresentações B e C). O Gráfico 5 sintetiza a evolução diária de mortalidade de larvas expostas às apresentações

comerciais de larvicidas com os melhores desempenhos em cada categoria (o temephos – apresentação comercial B e o *Bacillus thuringiensis israelensis* – apresentação comercial E) e aquela de pior desempenho relativo (apresentação comercial A do temephos).

A comparação entre os diversos experimentos mostrou (Gráfico 6) que a apresentação comercial A do temephos apresentou consistentemente o pior desempenho relativo em termos de efeito residual, atingindo valores inferiores a 70% de mortalidade no máximo até 23 dias de observação, em todos os ensaios realizados.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O programa de controle do *Aedes aegypti* utilizou de forma sistemática inseticidas químicos do grupo dos organofosforados (temephos, malathion e fenithion) nas atividades antivetoriais de controle focal, perifocal e aspersão ambiental a ultrabaixo volume-UBV desde sua instituição em 1986, ano da primeira epidemia de dengue na cidade de Fortaleza e no Estado do Ceará<sup>14</sup>.

As atividades de controle focal de larvas foram desenvolvidas seguindo o modelo operacional tradicionalmente utilizado no país desde o período correspondente à campanha de erradicação do *Aedes aegypti* visando combater a febre amarela, dando grande ênfase ao uso do larvicida químico temephos no tratamento de depósitos domiciliares, geralmente em ciclos periódicos em torno de 90 dias e a partir de 2001, estes ciclos reduziram-se para 60 dias<sup>14</sup>.

Nos anos entre 1986 a 1997, os índices de infestação predial em Fortaleza foram mantidos em níveis geralmente baixos por longos intervalos, correspondendo a períodos de sustentada ação antivetorial. Entretanto, em certos intervalos, a interrupção

epidemias de dengue. A partir de 1997, houve uma tendência gradativa de ascensão dos índices de infestação e de manutenção de crescente incidência de dengue, a cada ano<sup>15</sup>.

A despeito do quadro epidemiológico de crescente infestação e da possibilidade de desenvolvimento de resistência a inseticidas na condição de exposição duradoura e continuada a um mesmo produto, por quase uma década e meia de uso, nenhuma avaliação de efetividade de larvicidas foi realizada na realidade de Fortaleza<sup>14</sup>.

O primeiro estudo laboratorial objetivando avaliar a eficácia do temephos aconteceu por uma necessidade operacional do serviço responsável pelo controle de vetores, durante o ano de 1999. Nesse período ocorreu, no Programa de Controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza, a substituição de uma apresentação comercial do temephos (apresentação comercial A) que vinha sendo utilizada tradicionalmente, por uma outra apresentação do mesmo produto (apresentação comercial B), recentemente introduzida nas atividades de campo. Na ocasião, as equipes que atuavam nas atividades de controle focal do *Aedes aegypti* referiram, baseadas em uma percepção empírica do trabalho de campo, que o efeito residual da apresentação comercial então introduzida (B) parecia inferior àquela utilizada anteriormente (A). Este fato levou o nível estadual da instituição responsável pelas ações de controle a realizar um ensaio comparativo do efeito residual entre ambos os produtos<sup>9</sup>.

A avaliação do efeito residual desta nova apresentação comercial do temephos (B), em comparação com a apresentação comercial tradicional (A), mostrou que, de fato, havia uma diferença importante na eficácia de ambos os produtos (experimento 1). Na realidade, ao contrário do que observara empiricamente a equipe de campo, foi a apresentação comercial B (com cerca de 100% de mortalidade de larvas até 30 dias e mortalidade efetiva, em torno de 70%, por quase 50 dias) aquela que mostrou melhor

mortalidade efetiva, em torno de 70%, por quase 50 dias) aquela que mostrou melhor desempenho, em termos da duração do efeito residual, comparada com a apresentação comercial A do temephos (com cerca de 100% de mortalidade apenas até 15 dias e perda de efetividade, ou seja, menos de 70% de mortalidade, aos 18 dias).

Apesar dos resultados desse estudo terem ficado prontamente disponíveis para o corpo técnico responsável pelo programa de controle em Fortaleza, eles não desencadearam mudanças práticas relevantes em relação ao uso de larvicidas nas atividades de controle vetorial<sup>9,14</sup>. Isso mostra, na realidade das instituições de saúde pública no Brasil, principalmente por causa da excessiva centralização de decisões no nível central federal que ainda persiste em algumas áreas do Sistema Único de Saúde, quão dissociadas podem ser as atividades de pesquisa da aplicação de seus resultados, mesmo quando realizadas com objetivos operacionais, e com a participação da própria instituição responsável pelas ações diretas de controle.

No final do ano de 2000, o Programa de Controle do *Aedes aegypti*, em Fortaleza introduziu um novo produto do grupo dos larvicidas biológicos, denominado *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti - apresentação comercial D). Este novo larvicida veio em substituição ao temephos (apresentação comercial A), sob a justificativa técnica da gerência nacional do programa de controle de que alguns trabalhos haviam detectado larvas resistentes a esse produto em populações de *Aedes aegypti*, em várias regiões do Brasil, inclusive em Fortaleza<sup>16</sup>.

Entretanto, apesar destas evidências da literatura sugerindo a necessidade de substituição do temephos por outro produto de diferente princípio ativo como o Bti, nenhuma avaliação havia sido realizada pelo nível central nacional do órgão responsável pelo controle, no contexto de Fortaleza, que mostrasse os benefícios do

novo larvicida em relação ao anteriormente utilizado. Ensaio laboratorial comparativo entre o temephos (apresentação comercial A) e o *Bacillus thuringiensis israelensis* (apresentação comercial D) foi então realizado, por iniciativa das equipes técnicas locais da FUNASA<sup>10</sup>.

A comparação dos resultados (experimento 2) mostrou que a apresentação comercial A do temephos teve um período de mortalidade máxima (99,81% de mortalidade média de larvas por 11 dias) mais prolongado do que a apresentação comercial D do Bti (mortalidade máxima média de 99% por apenas 5 dias). Este último produto apresentou, entretanto, efeito residual com mortalidade de larvas mais elevada (acima de 70%) por um período de tempo superior ao outro larvicida testado (respectivamente 22 e 15 dias). Concluiu-se que as duas apresentações comerciais dos larvicidas mostraram efeito residual muito baixo precocemente, não sendo eficazes para o controle de larvas do *Aedes aegypti*, em ciclos de trabalho focal variando em torno de 90, 60 a 40 dias de periodicidade, conforme recomendado pelo programa de controle e executado nas atividades de campo em Fortaleza<sup>14</sup>.

Novamente nenhuma mudança nas atividades de campo foi desencadeada como consequência direta do estudo realizado, não havendo recomendações ou providências por parte das instituições responsáveis pelo programa de controle para que os ciclos de tratamento focal fossem reduzidos para períodos mais curtos, compatíveis com a duração do efeito residual observada para o larvicida em uso na cidade (no caso, a apresentação comercial D do Bti).

Por outro lado, a maior duração do efeito residual do Bti verificada nesse experimento, sugerindo uma ligeira superioridade desse produto nas condições ecológicas de Fortaleza, se comparado ao temephos (a apresentação comercial A),



apresentou-se relativamente controversa. Isso porque, a apresentação comercial do temephos que se mostrou inferior ao Bti nesse experimento (Experimento 2), teve desempenho inferior também a uma outra apresentação comercial do mesmo larvicida químico (a apresentação comercial B do temephos), conforme mostrado no ensaio laboratorial anteriormente discutido (Experimento 1).

Os resultados dessas primeiras avaliações de efetividade de larvicidas, contraditórios no efeito residual comparativo entre produtos de mesmo princípio ativo (ou seja, entre as duas apresentações comerciais do temephos), dificultou, por conseqüência, comparações conclusivas entre larvicidas de princípios ativos diferentes (ou seja, entre o Bti e temephos). Levou portanto à necessidade de novas avaliações entre todos os produtos em uso no programa de controle do *Aedes aegypti* em Fortaleza<sup>11</sup>.

A análise comparativa desses produtos foi realizada, em 2002, simultaneamente entre cinco apresentações comerciais de larvicidas (experimento 3). Mostrou-se que a apresentação comercial B do temephos obteve o melhor efeito residual entre todos os produtos avaliados (100% de mortalidade por 39 dias e mortalidade acima de 70% até 102 dias), seguido pela apresentação comercial C do mesmo larvicida (100% de mortalidade por 40 dias e acima de 70% até 82 dias). As duas apresentações comerciais do Bti, respectivamente E (97,50% de mortalidade até 29 dias e acima de 90% até 42 dias) e D (98,64% de mortalidade até 22 dias e acima de 70% por cerca de 40 dias), aparecem em seguida, nesta ordem, mostrando resultados inferiores àquelas duas apresentações do temephos. A apresentação comercial A do temephos mostrou baixa eficácia, inferior a todos os produtos testados, com efeito residual efetivo (entre 70 a 100% de mortalidade) em torno de apenas 22 dias. Outro

trabalho <sup>17</sup> apresentou os resultados encontrados nesse experimento com maior detalhes analíticos.

Conclui-se que apenas a apresentação comercial B do temephos, e em menor escala, a apresentação comercial C do mesmo produto, tiveram efeito residual compatível com ciclos de tratamento focal em torno de 60 dias de periodicidade, conforme preconizado pelo programa de controle, mesmo tratando-se de um experimento com renovação de água e numa situação epidemiológica de longa exposição ao produto.

Por outro lado, o fraco desempenho da apresentação comercial A do temephos, de largo uso no programa de controle, foi consistente em todas as etapas do presente estudo (Experimentos 1, 2 e 3), mesmo tratando-se de experimentos realizados em períodos de tempo muito diferentes e utilizando-se amostras do larvicida proveniente de distintas origens. Recomenda-se a realização de outros estudos para verificar as razões dessa apresentação comercial ter mostrado consistentemente eficácia tão diferente de seus produtos similares, que seriam teoricamente equivalentes.

Sugere-se que o Ministério da Saúde avalie as apresentações comerciais dos larvicidas utilizados no programa de controle do país e, particularmente nos estados, com a colaboração de instituições de pesquisa, promova avaliações periódicas dos produtos em uso nas diversas realidades particulares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soper LF. The elimination of urban yellow fever in the Américas through the eradication of *Aedes aegypti*. A.J.P.H. 1963; 53(1):7-16.
2. Gratz NG, Jany WC. What Role for insecticides in vector control programs? Am. J. trop. Med. Hyg . 1994; 50(6) Suppl:11-20.
3. Gubler DJ. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease control in the 1990s: top down or botton up. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1989; 40(6): 571-578.
4. Lacey LA, Orr BK. The role of biological control of mosquitoes in integrated vector control. Am J. Trop. Med. Hyg. 1994; 50(6) Suppl.:97-115.
5. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. SUCAM. Combate aos vetores da febre amarela e do dengue *Aedes aegypti*/*Aedes albopictus*. Instruções para guardas, guardas-chefes e inspetores. Brasília : Ministério da Saúde; 1990.
6. Nogueira MB. Infestação pelo *Aedes aegypti* em Fortaleza no período de 1986 a 1988: Estratificação Geográfica de Risco [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza (CE): Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 1999.
7. Santana EWP, Ribeiro ZM, Regazzi ACF, Bezerra HSS, Cavalcanti LPG and Oliveira-Lima JW. Biological control of *Aedes aegypti* evaluation of the larvivorouş potential of the *Betta splendens* in water boxes in Fortaleza, Ceará, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001; 34(Supl.I): 480.
8. Santana EWP, Regazzi ACF, Bezerra HSS, Cavalcanti LPG and Oliveira Lima JW. Biological control of *Aedes aegypti* in evaluation of the resistance of the *Betta splendens* to the conditions of water boxes in Fortaleza, Ceará, Brasil. Rev. Soc. Bras. de Med. Trop. 2001; 34 (Supl.I): 480-481.

9. Lima JWO, Regazzi ACF, Pontes RJS. Avaliação do efeito residual de 2 apresentações comerciais do Temephos. Rev. Soc. Bras. de Med. Trop. 2003; 36 Suppl.1:243.
10. Regazzi ACF, Lima JWO, Pontes RJS. Avaliação comparativa do efeito residual de uma apresentação comercial do Temephos com uma apresentação comercial do *Bacillus thuringiensis israelensis*. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2003; 36 Suppl.1:253.
11. Pontes RJS, Regazzi ACF, Lima JWO. Avaliação comparativa do efeito residual de 3 apresentações comerciais do temephos e de 2 apresentações comerciais do *Bacillus thuringiensis israelensis* em depósitos com renovação de água. Rev. Soc. Bras. de Med. Trop. 2003; 34 Suppl.1:23-24.
12. Chadee DD. An evaluation of Temephos in water drums in Trinidad. Mosq. News 1984; 44(1):51-53.
13. Carneiro EWB, Lima JWO, Pontes RJS. Prevalência da infestação de diferentes tipos de depósitos pelo *Aedes aegypti* na cidade de Fortaleza. Rev. Soc. Bras. de Med. Trop. 2000; 33 (Supl.I): 407.
14. Regazzi ACF. Avaliação do efeito residual e da mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas ao *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e ao Temephos [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza (CE): Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2003.
15. Pontes RJS, Freeman J, Lima JWO, Hodgson JC, Spielman A. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. Am. J. Trop. Med. Hyg 62(3):378-383, 2000.

16. Oliveira AMF, Costa EG, Melo MTV, Santos CE, Griffo, HG, Lustosa ELB, et al. Resistência a temefós em linhagens de *Aedes aegypti* provenientes do Ceará. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. 2001; 34 Suppl.1:291.
17. Pontes RJS, Regazzi ACF, Lima JWO, Kerr-Pontes LRS. Efeito residual de apresentações comerciais dos larvicidas Temephos e *Bacillus thuringiensis israelensis* sobre larvas de *Aedes aegypti* em recipientes com renovação de água. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. No prelo, 2004.

Gráfico 1: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a duas apresentações comerciais do larvicida químico Temephos (A e B), segundo o período de exposição, Fortaleza-Ceará, 1999.

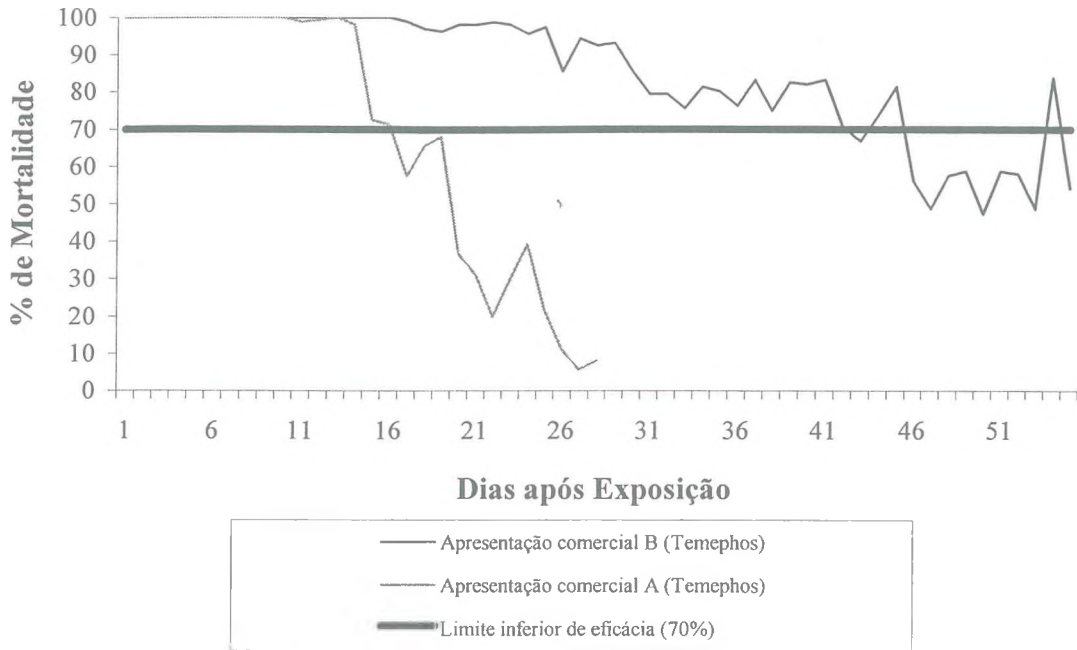


Gráfico 2: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a uma apresentação comercial do larvicida químico Temephos (A) e a uma apresentação comercial do *Bacillus thuringiensis israelensis* (D) segundo o período de exposição, Fortaleza-Ceará, 2001.

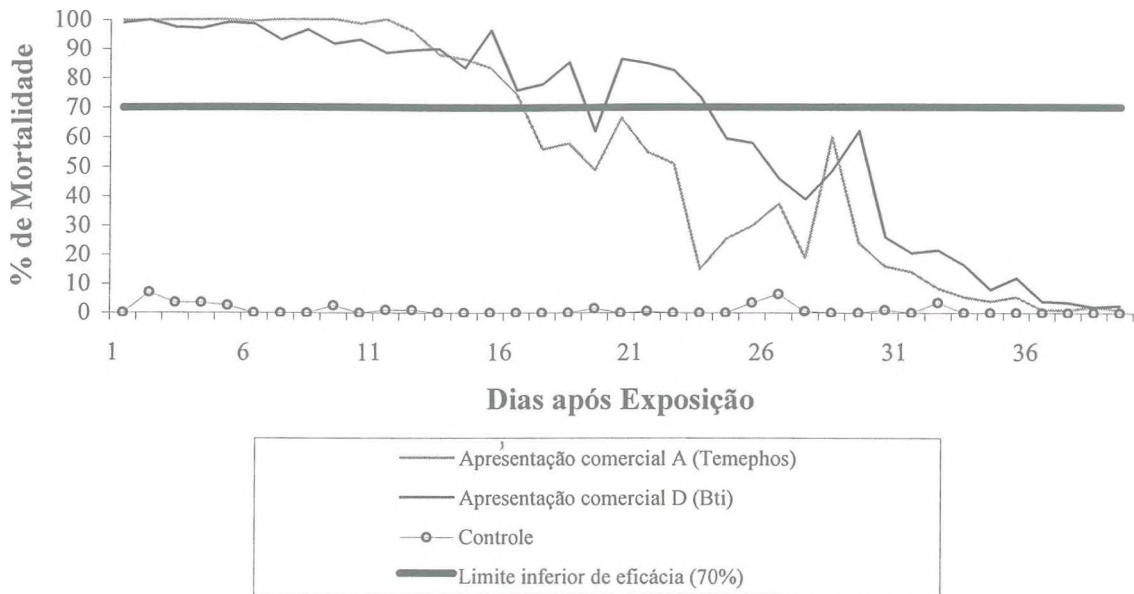


Gráfico 3: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a três apresentações comerciais do larvicida químico Temephos (A, B, C) segundo o período de exposição, Fortaleza-Ceará, 2002.

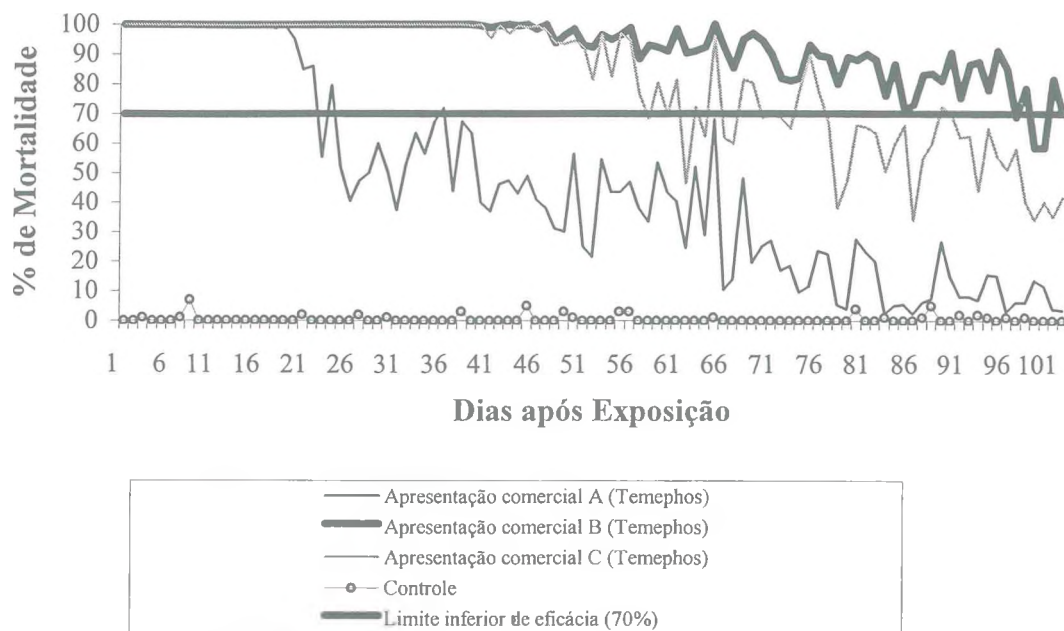




Gráfico 4: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a duas apresentações comerciais do larvicida *Bacillus thuringiensis israelensis* (D, E) segundo o período de exposição, Fortaleza-Ceará, 2002.

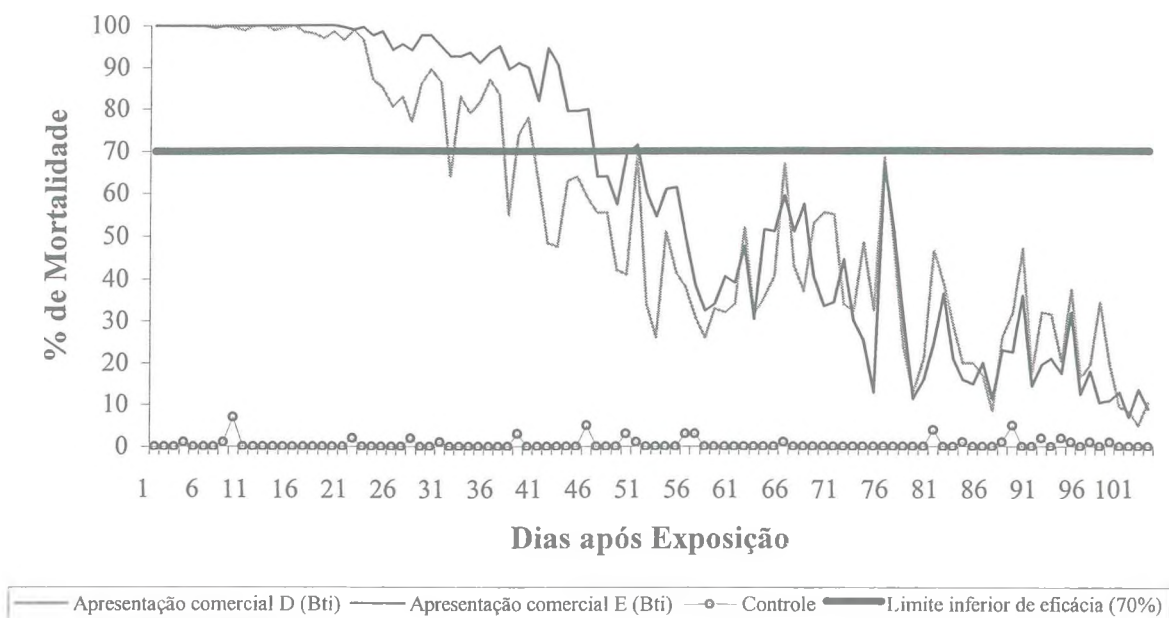


Gráfico 5: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a apresentações comerciais de larvicidas que mostraram melhor desempenho em todo o experimento (Temephos (B) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (E)) e aquela de pior desempenho relativo (apresentação comercial A do Temephos) sobre larvas de acordo com o período de exposição

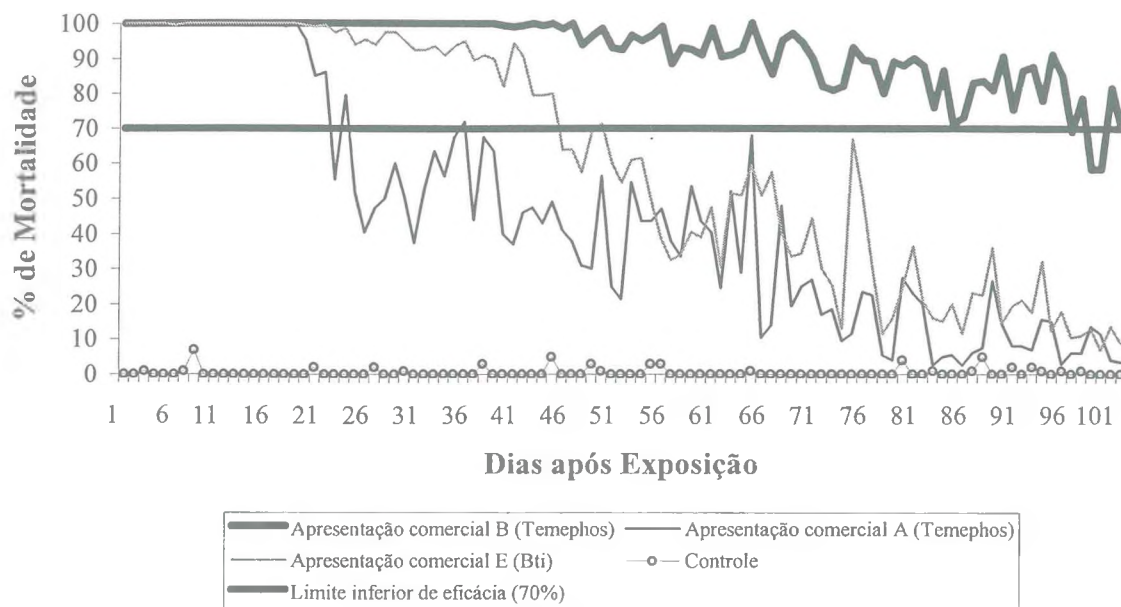
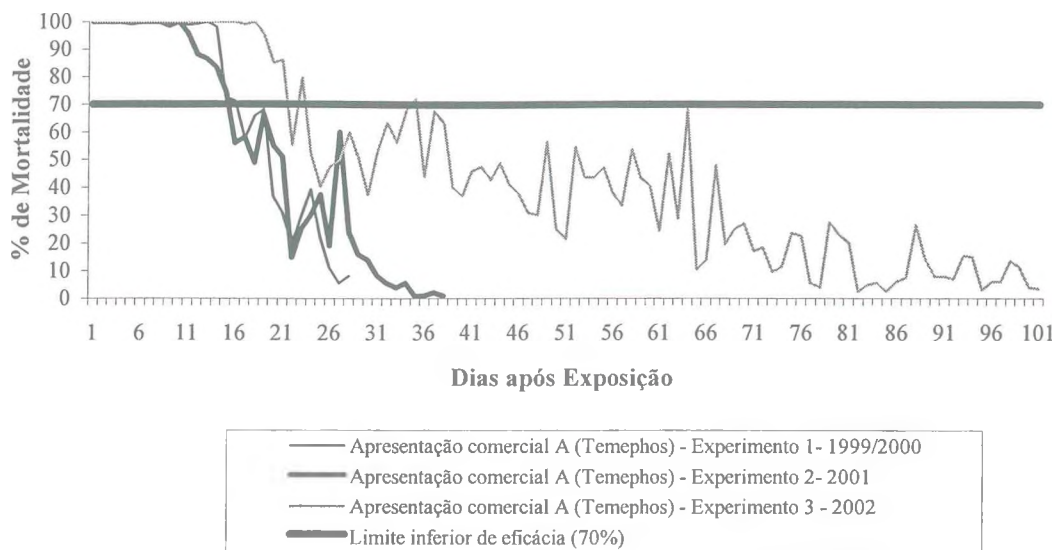


Gráfico 6: Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas à apresentação comercial A (Temephos) em três experimentos realizados (experimento 1, 2 e 3) segundo o tempo de exposição, Fortaleza-Ceará, 1999-2002.



# ARTIGO II

EFEITO RESIDUAL DE APRESENTAÇÕES COMERCIAIS DOS LARVICIDAS TEMEPHOS E BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS SOBRE LARVAS DE *Aedes Aegypti* EM RECIPIENTES COM RENOVAÇÃO DE ÁGUA

RESIDUAL EFFECT OF COMMERCIAL APPLICATIONS OF LARVICIDES TEMEPHOS AND *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS* ON *Aedes Aegypti* LARVAE IN RECIPIENTS WITH WATER RENEWAL

Pontes RJS<sup>1</sup>  
Regazzi ACF<sup>2</sup>  
Lima JWO<sup>2</sup>  
Kerr-Pontes LRS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Saúde Comunitária/Faculdade de Medicina/Universidade Federal do Ceará. Rua Prof. Costa Mendes 1608, 5º andar, Rodolfo Teófilo, Fortaleza-Ceará. CEP: 60431-970

<sup>2</sup> Fundação Nacional de Saúde/Coordenação Regional do Ceará. Av. Santos Dumont 1890, Aldeota, Fortaleza-Ceará. CEP: 60150-160

Apoio: CNPq (processo 521162/98-0) e FUNCAP (processo 164/01).  
Apresentado no XXXIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Belém-PA, 2003.

Pesquisa realizada no Departamento de Saúde Comunitária/Faculdade de Medicina/Universidade Federal do Ceará.

Extraído da Dissertação de Mestrado intitulada “Avaliação do Efeito Residual e da Mortalidade de Larvas de *Aedes aegypti* Expostas ao *Bacillus thuringiensis israelensis* e ao Temephos [Dissertação de Mestrado]. Fortaleza (CE): Mestrado em Saúde Pública, Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2003.”

Endereço para correspondência:

Ricardo José Soares Pontes  
Rua Professor Costa Mendes 1608, 5º andar/Rodolfo Teófilo  
Fortaleza-Ceará, Brasil. CEP: 60431-970  
Fone: (085) 2888044 Fax (085) 2888050  
[ripontes@fortalnet.com.br](mailto:ripontes@fortalnet.com.br)

EFEITO RESIDUAL DE APRESENTAÇÕES DE LARVICIDAS

## RESUMO

Avaliou-se o efeito residual do Temephos (apresentações comerciais A, B, C) e *Bacillus thuringiensis israelensis* (D e E) sobre larvas de *Aedes aegypti*, em recipientes com renovação de água. Utilizaram-se 44 béqueres de 1.000ml (8 para cada apresentação e 4 controles). Em cada béquer introduziram-se diariamente 25 larvas. Após 24 horas, contavam-se as larvas mortas, esvaziavam-se os béqueres até 200ml, repunha-se o volume original e acrescentavam-se novas larvas. A duração do efeito residual máximo (100% de mortalidade) foi: A-19; B-39; C-40; D-8; E-19 dias. A razão de mortalidade (RM) permaneceu equivalente entre todos os larvicidas durante 25 dias; B e C mostraram RM 2,40 vezes maior do que E entre 46-95 dias; B, comparado com A, mostrou RM 1,90-7,51 vezes maior entre 26-95 dias. Conclui-se pela maior eficácia de duas apresentações do temephos, mesmo em uma situação epidemiológica de longa exposição ao produto e com renovação de água dos recipientes.

## ABSTRACT

The residual effect of Temephos (commercial applications A, B e C) and *Bacillus thuringiensis israelensis* (D and E) on *Aedes aegypti* larvae was evaluated, in recipients with water renewal. 44 beakers of 1,000ml each (8 for each application and 4 controls) were used. In each beaker, 25 larvae were introduced daily. After 24 hours, the dead larvae were counted, the beakers emptied to 200ml and refilled to original volume, with addition of new larvae. The duration of the maximum residual effect (100% of mortality) was: A-19; B-39; C-40; D-8; E-19 days. The mortality ratio (MR) of all applications remained equivalent for 25 days; B, C and E maintained MR equivalent up to 45 days; B and C showed MR 2.40 times greater than E, between 46-95 days; B, compared with A, showed MR 1,90-7,51 times greater between 26-95 days. The conclusion was greater effectiveness of two presentations of Temephos, even in an epidemiological situation with long exposure to the product and renewal of water in recipients.

Descritores: controle vetorial; larvicidas; *Aedes aegypti*; dengue; controle de qualidade

Key words: vectorial control; larvicides; *Aedes aegypti* ; dengue fever; quality control



## INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti*, erradicado do território brasileiro na década de 1950, foi identificado na cidade de Fortaleza, capital do estado do Ceará, no ano de 1984. Em 1986, depois da primeira epidemia de dengue no estado, foi iniciado o programa de controle vetorial pelo Ministério da Saúde. O programa de controle do *Aedes aegypti* preconizado pela Organização Pan-Americana de Saúde(OPAS) incluía várias ações que tinham como objetivo a redução da disponibilidade de potenciais criadouros e o controle químico das formas imaturas e adultas do vetor. Utilizou-se em Fortaleza, como uma das principais estratégias de ação, o controle químico do vetor, através dos inseticidas organofosforados (o Temephos para o controle de larvas; o Malathion para o controle perifocal das formas adultas; e o Malathion ou Fenithion, na forma de aerosol ultrabaixo volume, também para o controle das formas adultas) <sup>9,12</sup>.

Nos anos seguintes, entre 1986 a 2000, mesmo com a ocorrência de várias epidemias de dengue, conseguiu-se manter a infestação vetorial em níveis muito baixos por longos períodos de tempo, sob intensa pressão de controle, utilizando continuamente essa classe de inseticidas <sup>14</sup>. Em geral, no município de Fortaleza, foram feitas entre 3 ou 4 aplicações anuais de Temephos, correspondendo a ciclos de tratamento focal de 4 ou 3 meses, respectivamente <sup>9,14</sup>.

A prolongada utilização do mesmo produto químico nas ações antivetoriais e a decorrente possibilidade de desenvolvimento de resistência, nestas condições, não induziram a realização periódica de avaliação de eficácia por parte do programa de controle, tanto em relação à presença de resistência propriamente, como no que se refere à duração do efeito residual do Temephos sobre larvas de *Aedes aegypti*. Entretanto, a duração do efeito residual é metodologia de fácil aplicação na avaliação da eficácia de

larvicidas e constitui-se um importante indicador para a determinação do intervalo de tempo entre os ciclos de tratamento dos depósitos no controle do *Aedes aegypti* <sup>16, 20, 21</sup>

Somente em 2000, 16 anos após o uso continuado de uma única classe de inseticidas contra as diversas formas evolutivas do *Aedes aegypti*, foram identificadas as primeiras amostras de larvas resistentes ao Temephos, na grande Fortaleza <sup>11</sup>. No mesmo ano, este larvicida foi substituído, nas ações antivetoriais da cidade, pelo *Bacillus thuringiensis israelensis* <sup>16</sup>.

A substituição do Temephos pelo Bti não foi antecedida, na realidade epidemiológica-ecológica de Fortaleza, por nenhuma avaliação comparativa de eficácia entre esses dois larvicidas, e, particularmente, entre as diversas apresentações comerciais desses produtos, disponibilizadas para o programa de controle vetorial. O objetivo deste trabalho foi, então, avaliar simultaneamente, em laboratório, o efeito residual de diversas apresentações comerciais dos larvicidas Temephos e *Bacillus thuringiensis israelensis*, usadas no Programa de Controle do *Aedes aegypti*, utilizando-se sistemas dinâmicos com renovação de água, para simular as condições mais freqüentemente encontradas na situação de campo de muitas cidades brasileiras.

## METODOLOGIA

Foi realizada uma investigação experimental, em laboratório, entre março e junho de 2002, avaliando comparativamente o efeito residual de três apresentações comerciais do Temephos e de duas apresentações comerciais do *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), utilizando recipientes submetidos à periódica renovação de água <sup>16</sup>. A metodologia de renovação de água foi empregada anteriormente na avaliação do efeito residual do Themephos, por Chadee <sup>3</sup>, em 1984, em experimentos tanto de campo, como laboratoriais. Decidiu-se introduzir o método de renovação de água nos recipientes

usados nos testes laboratoriais para simular uma situação semelhante àquela a que estão submetidos os depósitos mais importantes na infestação pelo *Aedes aegypti* no município de Fortaleza, como por exemplo, caixas d'água, tambores, potes e cisternas e outros reservatórios domésticos<sup>2</sup>.

O experimento foi desenvolvido no laboratório de *Aedes aegypti* do Departamento de Saúde Comunitária da Universidade Federal do Ceará. Utilizou-se, para a produção de larvas, uma colônia de *Aedes aegypti* originada de ovos coletados no campo através de ovitrampas, na grande Fortaleza (municípios de Fortaleza e Caucaia). Esses ovos foram submetidos a desenvolvimento no laboratório, produzindo diversas gerações de larvas utilizadas nos testes laboratoriais. As apresentações comerciais avaliadas foram àquelas usadas no programa de controle vetorial em Fortaleza, obtidas junto à gerência regional e nacional do programa, a partir dos lotes disponibilizados para o trabalho de campo: Larvell<sup>®</sup> (Temephos – 1%); Larvyn<sup>®</sup> (Temephos – 1%); Abate<sup>®</sup> (Temephos – 1%); Vectobac – WDG<sup>®</sup> (*Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*, sorotipo H14 – em pó); Vectobac - G<sup>®</sup> (*Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*, sorotipo H14 – em grânulos de sabugo de milho). Para efeito de descrição dos experimentos no texto do presente trabalho, optou-se por utilizar códigos, em substituição ao nome comercial dos larvicidas usados nos testes laboratoriais: Temephos - códigos A (Abate<sup>®</sup>), B (Larvell<sup>®</sup>) e C (Larvyn<sup>®</sup>); e *Bacillus thuringiensis israelensis* - códigos D (Vectobac - G<sup>®</sup>) e E (Vectobac – WDG<sup>®</sup>).

Nos ensaios foram utilizados, para cada apresentação comercial dos larvicidas, 08 béqueres de 1.000ml (um total de 40 béqueres) com água de torneira e dosagem dos larvicidas de acordo com o indicado pelo programa de controle. As dosagens utilizadas foram: Temephos, apresentações comerciais A, B e C - 0,1g; B.t.i, apresentação

comercial D - 0,02g; e B.t.i., apresentação comercial E - 0,002g. Em cada béquer, foram introduzidas diariamente 25 larvas de terceiro estágio, um total de 200 larvas para cada apresentação comercial. Em cada um dos outros 04 béqueres sem larvicidas (controles) foram introduzidas 25 larvas, totalizando 100 larvas. Todos os dias os béqueres eram esvaziados através de mangueiras plásticas, deixando um volume residual de 200 ml. Após o esvaziamento, era acrescida nova água até atingir o volume de 1.000 ml. Diariamente era contado o número de larvas mortas, indicador do efeito residual dos larvicidas. A cada leitura eram trocadas as larvas dos béqueres tratados e dos controles. As larvas eram retiradas com auxílio de pipetas plásticas. O período de observação deste experimento foi de 102 dias.

Definiu-se efeito residual como a capacidade de um larvicida de manter dosagens letais para um organismo alvo por um determinado período de tempo, neste caso, aferido através das incidências de mortalidade diárias de larvas<sup>16</sup>. A incidência de mortalidade diária de larvas expostas a cada uma das apresentações comerciais dos larvicidas foi obtida através do quociente entre o total de larvas mortas em todos os béqueres contendo a mesma apresentação comercial e o total de larvas expostas a essa mesma apresentação do larvicida. Essas incidências de mortalidade diárias foram usadas para a construção das curvas de mortalidade correspondentes a cada larvicida e para o cálculo da razão de mortalidade (RM) de larvas entre as apresentações comerciais. Definiu-se razão de mortalidade (RM) como a razão entre a proporção de mortalidade entre as larvas expostas a uma determinada apresentação comercial e a proporção de mortalidade entre as larvas expostas à outra apresentação comercial de pior desempenho, em intervalos de tempo selecionados. Utilizou-se o programa Epi-Info versão 6.0 (Epi-Info Calculator Program) para o cálculo das razões de mortalidade de

larvas (equivalentes aos riscos relativos no programa utilizado) e respectivos intervalos de confiança (IC 95%). Os intervalos de tempo seleccionados como referência, nessa comparação, foram aqueles em que os larvicidas apresentavam seu efeito residual máximo (100% de mortalidade) e aqueles equivalentes a períodos em torno de 40 dias (entre 36-45 dias), 60 dias (entre 56-65 dias) e 90 dias (entre 86-95 dias) de experimento. Tomou-se como referência esses períodos em torno de 40, 60 e 90 dias, ao invés da mortalidade pontual naquele dia específico, devido à variabilidade da mortalidade diária observada no estudo.

As curvas teóricas de probabilidade de mortalidade de cada larvicida foram obtidas através de um modelo de regressão logística, utilizando o programa Stata<sup>®</sup> versão 6.0<sup>18</sup>. A variável dependente foi a proporção de larvas mortas e as variáveis independentes foram o tipo de larvicida, o tempo de observação e o termo de interação entre tempo e tipo de larvicida, uma vez que o efeito residual dos larvicidas depende do tempo.

## RESULTADOS

O Gráfico 1 e a Tabela 1 mostram a evolução no tempo da mortalidade (%) de larvas observada durante os 102 dias de desenvolvimento do experimento. O Gráfico 2 apresenta as correspondentes curvas teóricas de probabilidade de mortalidade.

Observou-se que a apresentação comercial B (Temephos) mostrou a melhor eficácia, em termos de efeito residual, eliminando a totalidade das larvas (100% de mortalidade) durante 39 dias de experimento e apresentando patamares de mortalidade média elevados por período mais prolongado do que todas as demais apresentações: por exemplo, entre 56-65 dias e 86-95 dias, eliminava respectivamente, em média, 94% e

83% das larvas expostas (incidência pontual de mortalidade de 91% aos 60 dias e de 91% aos 90 dias).

A apresentação comercial C (Temephos) obteve o segundo melhor desempenho, com 100% de mortalidade até 40 dias após exposição, mas com queda mais rápida do efeito residual do que a apresentação anterior: com 56-65 dias de experimento a mortalidade média foi 75 % (70% aos 60 dias) e com 86-95 dias eliminou em média 58% das larvas (70% aos 90 dias).

Na seqüência aparece a apresentação comercial E (Bti), com mortalidade em torno de 100% até 19 dias e acima de 90% até cerca de 40 dias; quando o experimento completou 56-65 dias, mostrou uma mortalidade média de 43% (39% aos 60 dias) e com 86-95 dias de estudo, essa mortalidade média era muito baixa, de 21 % (15% aos 90 dias).

Em seguida, vem a apresentação comercial D (Bti), com mortalidade de 100% por 8 dias e acima de 90% até 22 dias; no período de 36-45 dias, a mortalidade média era de 64% (83% aos 40 dias); aos 56-65 dias, reduziu-se para 38% (34% aos 60 dias); e com 86-95 dias, 27% (18% aos 90 dias).

A apresentação comercial A (Temephos) mostrou uma mortalidade em torno de 100% durante 20 dias; entretanto, posteriormente, apresentou perda mais rápida de efeito residual do que todos os outros produtos estudados: ao completar 36-45 dias, tinha uma mortalidade média de 51% (40% aos 40 dias); com 56-65 dias, 43% (44% aos 60 dias); e entre 86-95 dias, a mortalidade média era apenas 11% (15% aos 90 dias).

A mortalidade dos controles, no experimento, foi sempre inferior a 10%.

Utilizando a razão de mortalidade de larvas (RM) como um indicador quantitativo dessa avaliação comparativa, analisou-se (Tabela 2) as apresentações

comerciais que mostraram melhor desempenho em relação às consideradas de pior desempenho relativo no experimento realizado.

Verificou-se que, durante os primeiros 15 dias de exposição (ou até 25 dias, numa aproximação menos exigente), a razão de mortalidade foi praticamente igual para todas as apresentações comerciais dos larvicidas testados (RM aproximadamente =1).

As duas melhores apresentações comerciais do Temephos (B e C) mostraram entre si razões de mortalidade equivalentes (RM aproximadamente =1) até cerca de 55 dias; entretanto, a apresentação B apresentou razão de mortalidade 1,33 maior do que C, entre 56-95 dias de experimento (uma mortalidade 33% maior).

Comparados ambos (B e C) com a melhor apresentação comercial do Bti (E), mantiveram estes patamares de razão de mortalidade equivalentes (RM aproximadamente =1) até 45 dias de experimento. Entretanto, entre 46-95 dias de exposição, essas duas apresentações comerciais do Temephos determinaram uma razão de mortalidade em média 2,40 vezes maior do que a apresentação E do Bti, ou seja, promoveram uma mortalidade 140% superior no período considerado.

A apresentação comercial E (Bti) apresentou razão de mortalidade, em média, 1,25 vezes maior do que a outra apresentação do mesmo larvicida (D) entre 26-65 dias de experimento (mortalidade 25% superior), tendendo ambas, entre 66-95 dias, para patamares de mortalidade aproximados, sendo que D superou E nesse período final.

A apresentação comercial B do Temephos (a de melhor desempenho), em comparação com a apresentação comercial A do mesmo Temephos (a de pior desempenho), apresentou uma razão de mortalidade em média 2,14 vezes maior entre os 26-65 dias de experimento (variação de 1,90 a 2,50), ou, dito de outra forma, promoveu

uma mortalidade 114% maior; entre 66-95 dias, essa razão foi em média 6,02 vezes maior (variação de 4,45 a 7,51), uma mortalidade aproximadamente 500% superior.

As apresentações comerciais E e D do Bti mostraram, em relação à apresentação comercial A do Temephos (a pior no experimento), uma razão de mortalidade em média cerca de 1,66 vezes maior entre os 26-95 dias, ou seja, uma mortalidade 66% maior.

Em síntese, constatou-se a existência de diferenças importantes no efeito residual das diversas apresentações comerciais dos larvicidas em uso pelo programa de controle do *Aedes aegypti*, inclusive os pertencentes ao mesmo grupo químico do Temephos. Todas as apresentações comerciais avaliadas apresentaram efeito residual equivalente por um período relativamente curto, cerca de 25 dias. As apresentações comerciais do Temephos B e C tiveram efeito residual equivalente à apresentação comercial E do Bti por aproximadamente 45 dias. O Temephos (apresentações B e C) mostrou melhor desempenho por um período muito mais prolongado do que o Bti (apresentações D e E), entre 45 e 95 dias. A apresentação B do Temephos mostrou o efeito residual mais prolongado, com elevados percentuais de mortalidade até os 95 dias. A apresentação comercial A do Temephos teve um desempenho inferior a todas as outras apresentações comerciais, inclusive aquelas do mesmo princípio ativo.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Não se encontrou na literatura trabalhos que avaliem o efeito residual comparativo entre as diversas apresentações comerciais do Temephos ou do Bti entre si, particularmente na realidade dos programas de controle desenvolvidos no Brasil, especialmente utilizando a metodologia de renovação de água. As pesquisas sobre efeito



residual têm feito menção ao uso do Temephos, referindo-se ao produto Abate, em geral utilizando sistemas estáticos, sem renovação de água.

Assim, experimento em laboratório desenvolvido em Manaus, avaliou o efeito residual do Temephos sobre larvas de *Aedes aegypti*, mostrando 100% de mortalidade por 90 dias <sup>13</sup>. Outro trabalho em laboratório, na Paraíba, mostrou um efeito residual desse larvicida um pouco mais curto, com 100% a 91% de mortalidade, até 70 dias após a aplicação do produto <sup>17</sup>. Experimento realizado em São Paulo observou que o Temephos apresentava efeito residual de 90 dias no peridomicílio e de 180-240 dias, no intradomicílio <sup>7</sup>. Em um estudo de campo numa área urbana de Bangkok, a duração do efeito residual do Temephos foi de aproximadamente 90 dias <sup>1</sup>. Em experimento com renovação de água, uma avaliação do Temephos, em Trinidad, verificou um efeito residual de 5 dias em laboratório e de 6 semanas em condições de campo <sup>3</sup>. Os órgãos encarregados pelo controle vetorial no Brasil, tradicionalmente, consideram que o efeito residual do Temephos seria em torno de 90 dias <sup>8</sup>.

Em relação a uma formulação de Bti, num sistema sem renovação de água, o efeito residual encontrado foi de 35 dias na sombra e 8 dias quando exposto à luz solar <sup>19</sup>. Avaliação comparativa entre o efeito residual do Temephos e do *Bacillus thuringiensis israelensis* observou 100% de mortalidade das larvas expostas ao Temephos por mais de 80 dias, enquanto que no *Bacillus thuringiensis israelensis* a mortalidade inicial também foi 100%, porém não mostrou efeito residual <sup>10</sup>.

No presente estudo, a apresentação comercial B do Temephos, aquela de melhor desempenho relativo, mesmo na presença de renovação de água manteve efeito residual elevado (acima de 70%)<sup>3</sup> por cerca de 90 dias, compatível com os achados da literatura referidos nos experimentos em sistemas estáticos, sem renovação de água.

Em menor escala, a apresentação C, do mesmo Temephos, mostrou efeito residual inferior ao produto anterior e ao desempenho esperado pelo programa de controle (alta eficácia aos 90 dias), embora tenha promovido mortalidade elevada por cerca de 45-65 dias. Essa redução do efeito residual abaixo do esperado poderia ser explicada, em parte, pela constante renovação de água no experimento e pela presença de larvas do *Aedes aegypti* resistentes ao Temephos, em Fortaleza <sup>5</sup>. Entretanto, não se encontrou explicação para que o mesmo fenômeno de redução do efeito residual não tenha ocorrido também com a apresentação B do Temephos, exceto tratando-se dos aspectos de controle de qualidade a serem discutidas mais adiante.

Mesmo assim, essas duas apresentações comerciais do Temephos mostraram melhor desempenho que todas as apresentações do Bti avaliadas. Conclui-se que a simples rotatividade de larvicidas, visando o manejo da resistência <sup>20, 21</sup> decorrente da exposição continuada a um determinado produto, poderá tornar-se ineficaz, se não for seguida por uma redução nos intervalos de tempo dos ciclos do trabalho focal para um período compatível com efeito residual do larvicida em uso. A substituição do Temephos pelo Bti, em Fortaleza, não se acompanhou de nenhuma alteração da duração dos ciclos de tratamento focal, como seria de se esperar, uma vez que as duas classes de larvicidas apresentaram ações residuais diferentes.

A utilização, no experimento, da metodologia de renovação de água foi importante para simular a situação de campo de realidades onde predominam depósitos submetidos à permanente esvaziamento e reposição de água no uso doméstico, o que provavelmente contribuiu para a redução na duração do efeito residual para todos os produtos testados. Em outro trabalho realizado sem renovação de água nos recipientes, verificou-se resultados semelhantes na posição relativa dos diversos larvicidas, embora

com duração do efeito residual mais prolongado no experimento com sistema estático <sup>4</sup>, confirmando o impacto da renovação de água na redução do efeito residual.

Chamou a atenção, como um achado inusitado, a diferença de desempenho das várias apresentações comerciais do Temephos entre si, e, especialmente, a baixa eficácia da apresentação comercial A desse larvicida, no experimento realizado. Outros experimentos semelhantes, desenvolvidos neste projeto de pesquisa <sup>4, 6, 15</sup>, mostraram resultados idênticos na posição relativa das diversas apresentações de larvicidas. A consistência observada, em repetidos experimentos realizados em períodos de tempo muito diferentes entre si, é suficiente para por em dúvida a ocorrência de artefatos, variações casuais ou problemas específicos de determinados lotes, como únicas explicações alternativas ao resultado encontrado. Particularmente, levantou-se como possíveis hipóteses explicativas para a baixa eficácia da apresentação comercial A do Temephos, a possibilidade de existirem fatores que podem estar relacionados tanto à fase de produção desse larvicida, como, de forma alternativa, à fase de armazenamento dos produtos pelo programa de controle.

Neste aspecto, a princípio, não se encontrou explicação para haver problemas seletivos e sistemáticos de armazenamento de uma apresentação comercial em relação a outras. Se existirem, representam, de qualquer forma, um aspecto importante a ser identificado e corrigido, dado os efeitos danosos que provocariam nas atividades de controle vetorial, pela perda de eficácia do produto, como consequência de conservação inadequada, no período anterior à utilização.

Um outro aspecto a ser considerado se refere, para novos experimentos desse tipo, à possibilidade do emprego de cepa padrão (Rockfeller) visando eliminar possíveis interferências de resistência adquirida por cepas originadas no campo, como aquelas

aqui utilizadas, dando maior poder de generalidade aos experimentos a serem realizados. Saliente-se, entretanto, que este aspecto não foi determinante nos resultados encontrados, uma vez que se tratava de avaliação do desempenho relativo de uma apresentação comercial frente às outras. Esperava-se, portanto, resultados aproximados no uso do mesmo produto (no caso do Temephos) sob diferentes apresentações comerciais, ainda que em experimentos realizados com cepas eventualmente portadoras de algum grau de resistência adquirida pela longa exposição no campo.

Os resultados desta investigação mostram a maior eficácia de duas apresentações comerciais do Temephos em uma situação epidemiológica de longa exposição ao produto e com renovação de água dos recipientes. Apontam também para a necessidade de realização de novos trabalhos que possam avaliar as diversas apresentações comerciais dos produtos utilizados no controle do *Aedes aegypti*, em amostras originadas do produtor, portanto antes do armazenamento.

As diferenças encontradas entre as apresentações comerciais de larvicidas interferem na eficiência (custo-benefício) do programa de controle e podem ter implicações sérias no combate ao *Aedes aegypti*, ou na ocorrência de epidemias de dengue. Sugere-se que o Ministério da Saúde avalie o desempenho dos larvicidas do grupo do Temephos mais comumente utilizados no programa de controle do país e realize controle de qualidade periódico em relação ao efeito residual de todos os larvicidas a serem disponibilizados nas atividades de campo. Da mesma forma, propõe-se que os níveis regional e local do programa de controle, com a colaboração de instituições de pesquisa, promovam avaliações periódicas dos produtos em uso na sua realidade particular, de modo a identificar mudanças nos padrões de eficácia esperados pelo nível nacional do sistema de vigilância e controle vetorial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bang YH, Pant CP. A field trial of Abate larvicide for the control of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *Bulletin World Health Organization* 46:416-425, 1972.
2. Carneiro EWB, Lima JWO, Pontes RJS. Prevalência da Infestação de Diferentes Tipos de Depósitos Pelo *Aedes aegypti* na Cidade de Fortaleza. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 33 Suppl.1: 407, 2000.
3. Chadee DD. An Evaluation of Temephos in Water Drums in Trinidad. *Mosq. News* 44(1):51-53, 1984.
4. Dantas FFFh, Pontes RJS, Lima JWO, Regazzi ACF, Lima EP. Avaliação Comparativa do Efeito Residual do Temephos e de *Bacillus thuringiensis israelensis* em Depósitos sem Renovação de Água. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 36 Suppl. 1: 252, 2003.
5. Lima EP. Avaliação da suscetibilidade do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do Estado do Ceará em 2003. Dissertação de Mestrado, Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2003.
6. Lima JWO, Regazzi ACF, Pontes RJS. Avaliação do Efeito Residual de 2 Apresentações Comerciais do Temephos. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 36 Suppl.1:243, 2003.
7. Macoris MLG, Andrighetti MTM, Takaku L. Efeito residual de temephós em larvas de *Aedes aegypti*. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 28(4): 375-377, 1995.
8. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. SUCAM. Combate aos vetores da febre amarela e do dengue *Aedes aegypti/Aedes albopictus*. Instruções para guardas, guardas-chefes e inspetores. Brasília, 1990.

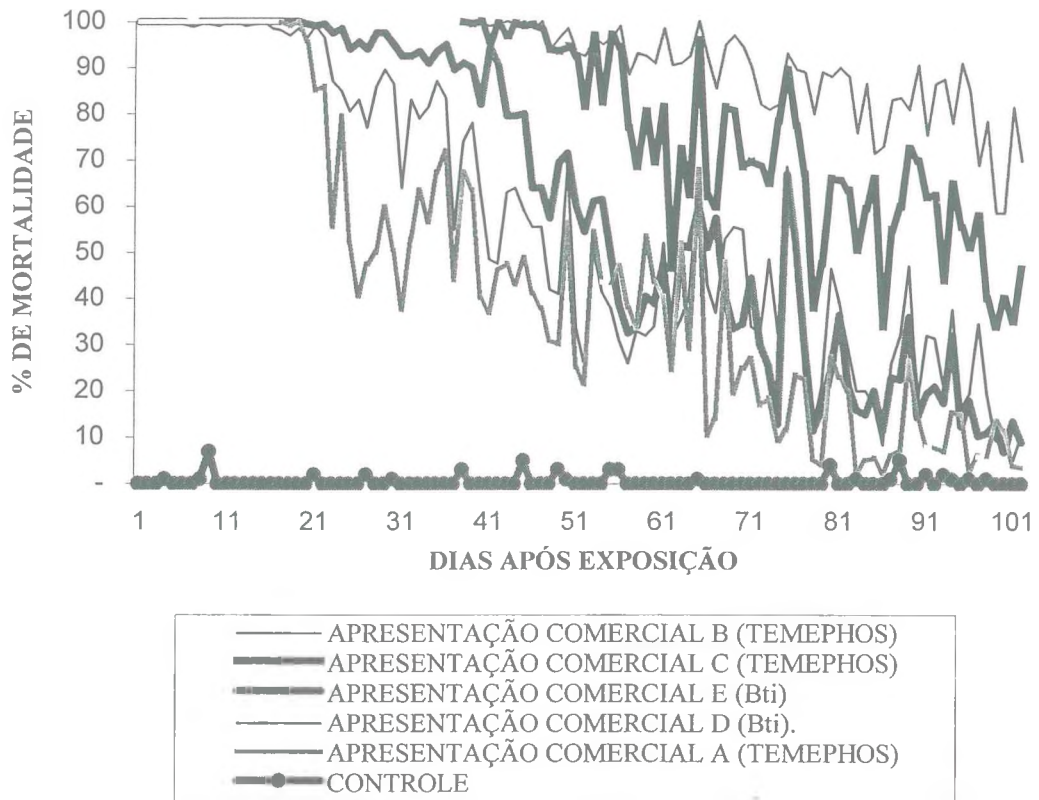
9. Nogueira MB. Infestação pelo *Aedes aegypti* em Fortaleza no período de 1986 a 1988: Estratificação Geográfica de Risco. Dissertação de Mestrado, Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 1999.
10. Oliveira AMF, Costa EG, Melo MTV, Santos CE. Activity and persistence of *Bacillus thuringiensis israelensis*, Pyriproxifen and Temephos against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* larvae. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 29 Suppl.1:62, 1996.
11. Oliveira AMF, Costa EG, Melo MTV, Santos CE, Griffó. HG, Lustosa ELB, et al. Resistência a temefós em linhagens de *Aedes aegypti* provenientes do Ceará. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 34 Suppl.1:291, 2001.
12. Pan American Health Organization(PAHO). Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in the Americas: Guidelines for Prevention and Control. Scientific Publication N° 548, 1994, Washington DC.
13. Pinheiro VCS; Tadei WP. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. *Cad. Saúde Pública* 18(6): 1529-1536, 2002.
14. Pontes RJS, Freeman J, Lima JWO, Hodgson JC, Spielman A. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. *Am. J. Trop. Med. Hyg* 62(3):378-383, 2000.
15. Regazzi ÁCF, Lima JWO, Pontes RJS. Avaliação comparativa do efeito residual de uma apresentação comercial do temephos com uma apresentação comercial do *Bacillus thuringiensis israelensis*. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 36 Suppl.1:253, 2003.

16. Regazzi ACF. Avaliação do Efeito Residual e da Mortalidade de Larvas de *Aedes aegypti* Expostas ao *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e ao Temephos. Dissertação de Mestrado, Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2003.
17. Silans LNMP, Santos NA, Araújo VS, Almeida LA, Flor JL. Monitoração da eficácia de temephos (Abate), usado na dose de 1ppm, sobre a mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*. II. Ensaio de laboratório. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop.* 32 Suppl. 1: 115-116, 1999.
18. Stata Reference Manual. Release 6. Vol.1 A-G. Stata Press, Texas, 1999.
19. Thierry I, Fouque F, Gaven B, Lagneau C. Residual activity of *Bacillus thuringiensis* serovars medellin and jegathesan on *Culex pipiens* and *Aedes aegypti* larvae. *J Am Mosq Control Assoc.* Sep;15 (3):371-9, 1999.
20. World Health Organization (WHO). Insecticide Resistance and Vector Control Technical Report Series. Geneva, 1970.
21. World Health Organization (WHO). Vector Resistance to Pesticides. Technical Report Series. Geneva, 1992.

✻

Gráfico 1

Evolução da mortalidade (%) de larvas de *Aedes aegypti* expostas a diferentes apresentações comerciais de larvicidas em relação ao tempo, Fortaleza/Ceará, 2002





**Tabela 1**

Distribuição da mortalidade média de larvas expostas a cada apresentação comercial de larvicida de acordo com o período de exposição, Fortaleza/Ceará, 2002

Dias após exposição	Apresentações comerciais				
	% Médio de Mortalidade				
	A	B	C	D	E
1 – 15	100	100	100	99,80	99,96
16 – 25	85,25	100	100	93,65	98,85
26 – 35	52,65	100	100	81,65	94,25
36 – 45	50,95	99,75	99,00	63,55	87,15
46 – 55	38,45	96,10	93,00	45,35	61,30
56 – 65	42,95	93,65	74,90	38,25	42,45
66 – 75	20,05	89,20	72,40	45,95	39,70
76 – 85	13,90	84,75	60,10	27,75	24,20
86 – 95	11,05	82,95	58,05	26,90	21,00
96-102	6,78	71,57	42,78	15,28	14,71

**Gráfico 2**

Curvas teóricas de probabilidade de mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* expostas a diferentes apresentações comerciais de larvicidas (A,B,C,D,E) em relação ao tempo, Fortaleza/Ceará, 2002

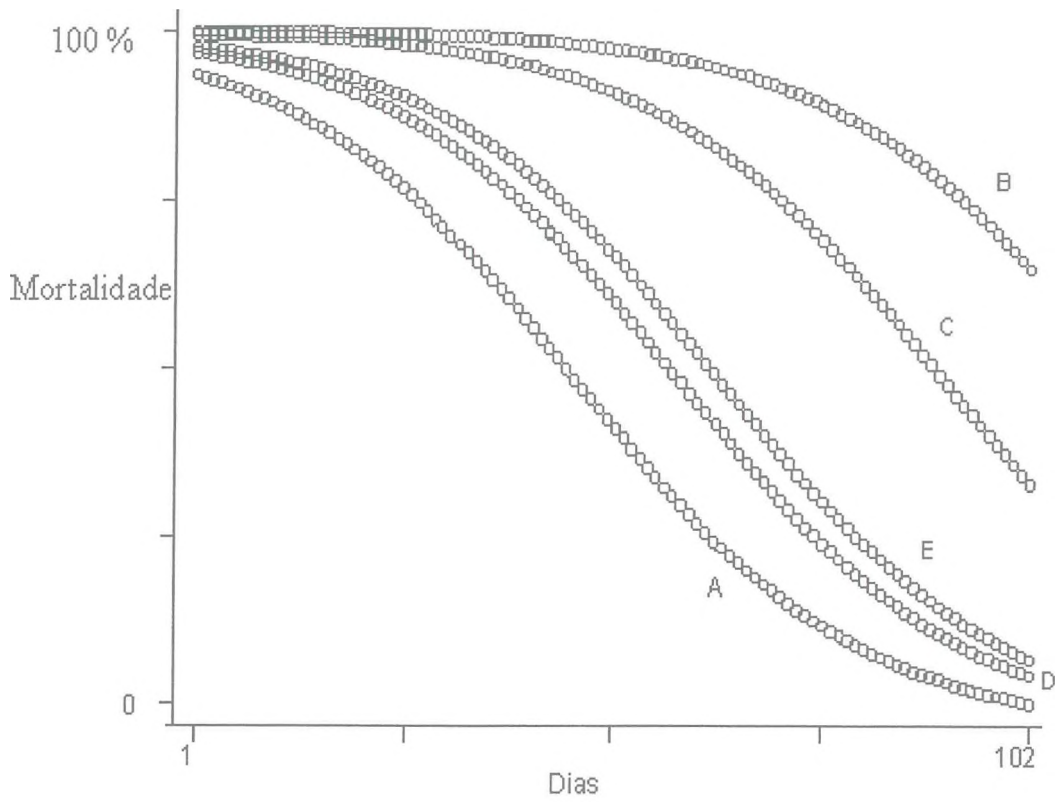


Tabela 2

Razão de Mortalidade de larvas entre apresentações comerciais de larvicidas do mesmo princípio ativo (Temephos - A,B,C e *Bacillus thuringiensis israelensis* - D,E), segundo períodos de exposição (dias), Fortaleza/Ceará, 2002

Exposição	Razão de Mortalidade (RM) e Intervalos de Confiança (IC 95%)			
	Temephos (B) / Temephos(A)	Temephos (C) / Temephos (A)	Temephos (B) / Temephos (C)	Bti (E) / Bti (D)
15	1,00 (*)	1,00 (*)	1,00 (*)	1,00 (1,00;1,00)
25	1,17 (1,15;1,19)	1,17 (1,15;1,19)	1,00 (*)	1,06 (1,04;1,07)
35	1,90 (1,82;1,98)	1,90 (1,82;1,98)	1,00 (*)	1,15 (1,13;1,18)
45	1,99 (1,91;2,08)	1,97 (1,89;2,06)	1,01 (1,01;1,01)	1,37 (1,32;1,42)
55	2,50 (2,36;2,64)	2,42 (2,29;2,56)	1,03 (1,02;1,05)	1,36 (1,28;1,44)
65	2,18 (2,07;2,30)	1,74 (1,65;1,85)	1,25 (1,22;1,29)	1,12 (1,04;1,21)
75	4,45 (4,07;4,86)	3,61 (3,29;3,96)	1,23 (1,19;1,27)	0,86 (0,80;0,93)
85	6,10 (5,46;6,81)	4,32 (3,85;4,85)	1,41 (1,35;1,47)	0,91 (0,82;1,01)
95	7,51 (6,62;8,51)	5,25 (4,61;5,98)	1,43 (1,37;1,49)	0,78 (0,69;0,88)

\* intervalo de confiança não especificado (100% de mortalidade)

**Tabela 3**

Razão de Mortalidade de larvas entre algumas apresentações comerciais de larvicidas de diferentes princípios ativos (Temephos - A,B,C e BTI - D,E), segundo períodos de exposição (dias), Fortaleza/Ceará, 2002

Expo- sição	Razão de Mortalidade (RM) e Intervalos de Confiança (IC 95%)			
	Temephos (B) / Bti (E)	Temephos (C) / Bti (E)	Bti (E) / Temephos (A)	Bti (D) / Temephos (A)
15	1,00 (1,00;1,00)	1,00 (1,00;1,00)	1,00 (1,00;1,00)	1,00 (1,00;1,00)
25	1,01 (1,01;1,02)	1,01 (1,01;1,02)	1,16 (1,14;1,18)	1,10 (1,08;1,12)
35	1,06 (1,05;1,07)	1,06 (1,05;1,07)	1,79 (1,71;1,87)	1,56 (1,49;1,63)
45	1,15 (1,13;1,17)	1,14 (1,12;1,16)	1,73 (1,66;1,82)	1,26 (1,20;1,34)
55	1,56 (1,51;1,62)	1,51 (1,46;1,57)	1,60 (1,50;1,71)	1,18 (1,10;1,27)
55	2,18 (2,07;2,30)	1,74 (1,65;1,85)	1,00 (0,93;1,07)	0,89 (0,83;0,96)
75	2,25 (2,12;2,38)	1,82 (1,72;1,94)	1,98 (1,79;2,19)	2,29 (2,07;2,53)
35	3,36 (3,11;3,63)	2,38 (2,19;2,59)	1,82 (1,59;2,07)	2,00 (1,75;2,27)
35	4,24 (3,87;4,65)	2,97 (2,70;3,27)	1,77 (1,52;2,06)	2,27 (1,96;2,63)