

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO-UFMA CURSO DE CIÊNCIAS NATURAIS/BIOLOGIA-CAMPUS CODÓ

ATIVIDADE LARVICIDA DO VECTOBAC® WG NO CONTROLE DE Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) EM CONDIÇÕES DE SEMICAMPO NO MUNICÍPIO DE CODÓ, MARANHÃO

Orientadora: Prof.^a Dr^a. Joelma Soares da Silva

Coorientadora: Dr. a Juliete Lima Viana

Discente: Thiellys Pereira Chaves dos Santos

Thiellys Pereira Chaves dos Santos

ATIVIDADE LARVICIDA DO VECTOBAC® WG NO CONTROLE DE Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) EM CONDIÇÕES DE SEMICAMPO NO MUNICÍPIO DE CODÓ, MARANHÃO

Orientadora: Prof.^a Dr^a. Joelma Soares da Silva

Coorientadora: Dr.a Juliete Lima Viana

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Maranhão-UFMA, como requisito para obtenção do título de Licenciada em Ciências Naturais/Biologia.

Thiellys Pereira Chaves dos Santos

ATIVIDADE LARVICIDA DO VECTOBAC® WG NO CONTROLE DE Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) EM CONDIÇÕES DE SEMICAMPO NO MUNICÍPIO DE CODÓ, MARANHÃO

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Maranhão-UFMA, como requisito para obtenção do título de Licenciada em Ciências Naturais/Biologia.

Aprovada em: <u>08 / 08 /2025</u>

BANCA EXAMINADORA

Dra. Joelma Soares da Silva (Orientadora)

Doutora em Ciências Biológicas (Entomologia) Universidade Federal do Maranhão

Ma. Katiane dos Santos Lobo

Mestra em Saúde do Adulto e da Criança Universidade do Estado do Amazonas

Dra. Juciane da Conceição da Silva Lima

Doutora em Ciências Biológica (Entomologia) Faculdade Estácio do Amazonas

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a). Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Santos, Thiellys Pereira Chaves dos.

Atividade larvicida do VectoBac® WG no controle de Aedes aegypti Linnaeus, 1762 em condições de semicampo no município de Codó, Maranhão / Thiellys Pereira Chaves dos Santos. - 2025.

36 f.

Coorientador(a) 1: Juliete Lima Viana.

Orientador(a): Joelma Soares da Silva.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Naturais - Biologia, Universidade Federal do Maranhão, Codó-ma, 2025.

1. Mosquitos. 2. Controle Biológico. 3. Entomopatógeno. 4. Efetividade. I. Silva, Joelma Soares da. II. Viana, Juliete Lima. III. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, pelo apoio e pela presença durante toda a minha jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder tamanha bênção. Pela saúde e forças ao longo de toda essa jornada. A Ele minha gratidão!

A Universidade Federal do Maranhão - UFMA, *Campus VII*, pela oportunidade e por me proporcionar crescimento pessoal e profissional.

A professora Doutora Joelma Soares da Silva pela orientação deste trabalho, pela confiança, pelos ensinamentos e pelas oportunidades ao longo da minha trajetória acadêmica, sou muito grata por tudo.

A Doutora Juliete Lima Viana, pela coorientação e importante contribuição na realização deste trabalho.

Ao corpo docente do Curso de Ciências Naturais/Biologia, que com excelência contribuíram grandemente para minha formação.

Ao Grupo de Pesquisa Controle de Insetos Vetores – GPCIV e colaboradores por toda ajuda na execução das atividades em projetos de pesquisas.

Ao Programa Institucional de bolsas de Iniciação em desenvolvimento Tecnológico e Inovação – PIBITI, a qual fui bolsista durante os anos de 2022 a 2025 desenvolvendo importantes pesquisas sobre o controle Biológico de insetos vetores.

A fundação de Amparo à pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA e a Universidade Federal do Maranhão – UFMA, pelo financiamento das bolsas.

A minha família, minha mãe Maria José Pereira da Silva, minha avó, Maria das Graças e meu esposo Ednaldo Silva dos Santos, por todo cuidado, apoio, incentivo, força e dedicação para me verem bem e feliz. Aos meus irmãos, que também contribuíram de alguma forma.

Aos meus colegas Layane Santos, Francinilde Cunha, Iolanda Maria, Rodrigo Silva e Carlos Aguiar, que fizeram parte da minha trajetória acadêmica. Sou grata pelo companheirismo, pelas aventuras e pelos momentos aleatórios de diversão.

E a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta, e fizeram parte da minha trajetória acadêmica, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

Os larvicidas formulados à base de Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti) têm sido amplamente recomendados para o controle de imaturos de Aedes aegypti, devido à baixa toxicidade ao ambiente quando comparados ao controle químico. O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficiência do larvicida VectoBac® WG, contendo B. thuringiensis var. israelensis como seu principal ingrediente ativo, para o controle de larvas de A. aegypti em condições de semicampo, na cidade de Codó, MA. Foram realizados bioensaios em 20 baldes plásticos, cada um com 10 L de água, alimento e 20 larvas do 3º instar de A. aegypti. Desses, 10 foram posicionados expostos aos fatores ambientais, sendo cinco recipientes tratados com o biolarvicida e cinco mantidos sem a aplicação do produto (controle). Os outros 10 baldes foram colocados à sombra, protegidos de sol e chuva, seguindo a mesma metodologia de tratamento dos recipientes expostos aos fatores ambientais. A cada 24 e 48 horas, foi verificada a mortalidade larval. A cada sete dias, retirou-se 1 mL de água para determinação da concentração de esporos viáveis nos recipientes tratados e avaliação da reciclagem do Bti. O bioproduto, nas primeiras semanas, manteve efetividade, matando 100% das larvas nos baldes protegidos das condições climáticas, diferentemente dos recipientes desprotegidos, que apresentaram 100% de mortalidade apenas nos primeiros dias, com queda significativa a partir do 8º dia. Durante o experimento, foi possível verificar que a persistência microbiológica nos recipientes protegidos apresentou um número elevado de esporos viáveis quando comparado com os recipientes expostos às condições ambientais. Dessa maneira, a presença de esporos viáveis nos baldes protegidos dos fatores ambientais por mais tempo contribuiu para a maior efetividade do produto no controle de larvas de A. aegypti.

Palavras-chave: Mosquitos, Controle biológico, Entomopatógeno, Efetividade.

ABSTRACT

Larvicides formulated with Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti) have been widely recommended for the control of immature Aedes aegypti larvae due to their low environmental toxicity compared to chemical control. This study aims to evaluate the effectiveness of the larvicide VectoBac® WG, containing Bacillus thuringiensis var. israelensis as its main active ingredient, for the control of A. aegypti larvae under semi-field conditions in the city of Codó, Maranhão. Bioassays were performed in 20 plastic buckets, each containing 10 L of water, food, and 20 third-instar A. aegypti larvae. Of these, 10 were exposed to environmental factors; five containers were treated with the biolarvicide and five were kept without application of the product (control). The other 10 buckets were placed in the shade, protected from sun and rain, following the same treatment methodology as the containers exposed to environmental factors. Larval mortality was checked every 24 and 48 hours. Every seven days, 1 mL of water was removed to determine the concentration of viable spores in the treated containers and evaluate Bti recycling. The bioproduct remained effective in the first few weeks, killing 100% of the larvae in the buckets protected from weather conditions, unlike the unprotected containers, which showed 100% mortality only in the first few days, with a significant decrease after the 8th day. During the experiment, it was possible to verify that microbiological persistence in the protected containers showed a higher number of viable spores compared to the containers exposed to environmental conditions. Thus, the presence of viable spores in the buckets protected from environmental factors for longer contributed to the product's greater effectiveness in controlling A. aegypti larvae.

Keywords: Mosquito, Biological control, Entomopathogen, Effectiveness.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Área de estudo	13
3.2 Criação de Aedes aegypti em laboratório para a realização	dos bioensaios em condição
de semicampo	13
3.3 Avaliação da persistência do VectoBac® WG em condiçã	o de semicampo no controle de
larvas Aedes aegypti	15
3.4 Determinação da concentração de esporos bacterianos nos	baldes tratados com o
biolarvicida VectoBac® WG	17
3.5 Análise dos dados	18
4. RESULTADOS	19
4.1 Bioensaios em baldes expostos a fatores ambientais	19
4.2 Bioensaios em baldes protegidos de sol e chuva	21
5. DISCUSSÃO	24
6. CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) é considerado o principal vetor dos agentes etiológicos de importantes arboviroses, como a dengue (DENV), Zika (ZIKV) e chikungunya (CHIKV), apresentando ampla distribuição global e configurando-se como um grande desafio de saúde pública em todo o mundo (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994; Lwande *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2024). A espécie foi introduzida no Brasil no final do século XIX e, devido à sua alta capacidade de adaptação às condições climáticas e ambientais, rapidamente se disseminou por todo o território nacional (Costa, 1988; Forattini, 2002; Fávoro *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2021).

Atualmente, esse mosquito está presente em todos os estados brasileiros, especialmente em grandes centros urbanos, onde encontra condições propícias para sua proliferação (Brasil, 2002; Fonseca, 2018; Cavalcante, 2020; Wuliandari, 2020; Xia *et al.*, 2021). Essa disseminação é favorecida por sua habilidade de colonizar uma grande diversidade de criadouros artificiais e naturais (Martins *et al.*, 2013; Pancetti *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2023).).

Nas regiões brasileiras, esse vetor está limitado aos municípios, sempre ligado ao ambiente domiciliar humano, sendo encontrado em áreas com alta densidade populacional e, raramente, em florestas, configurando-se como uma espécie eminentemente antropofilica (Consoli e Lourenço-de-Oliveira, 1994; Grossi, 2021).

O Brasil registrou, em 2024, 6.563.561 casos de dengue (6.321 óbitos), 263.502 casos de chikungunya (246 óbitos) e 5.114 casos de Zika. Até o momento, no corrente ano, foram registrados 1.568.893 casos prováveis de dengue (1.609 óbitos), 119.923 casos prováveis de chikungunya (110 óbitos) e 3.739 casos prováveis de Zika (Brasil, 2025).

A região Nordeste registra, atualmente, 82.683 casos prováveis de dengue (40 óbitos), com coeficiente de incidência de 144,8 por 100 mil habitantes. Para a chikungunya, foram registrados 10.647 casos prováveis (4 óbitos), com incidência de 18,6 por 100 mil habitantes. Já a Zika apresenta 1.503 casos prováveis, com coeficiente de incidência de 2,6 por 100 mil habitantes (Brasil, 2025).

No estado do Maranhão, foram registrados 5.447 casos prováveis de arboviroses, sendo 4.828 de dengue (3 óbitos), 490 casos de chikungunya e 137 de Zika. No município de Codó, registraram-se 25 casos prováveis de dengue (incidência de 21,1 por 100 mil habitantes), 3 de chikungunya (incidência de 2,5 por 100 mil habitantes) e 1 de Zika (incidência de 0,9 por 100 mil habitantes) (Brasil, 2025).

Devido à capacidade do *A. aegypti* em transmitir diferentes tipos de arbovírus, aliada à sua rápida reprodução e adaptação ao ambiente urbano, este vetor representa uma séria ameaça à saúde pública (Chadee e Martinez, 2016; Weaver *et al.*, 2018; Romero-Vivas *et al.*, 2024). Dessa forma, estratégias de controle vetorial têm sido amplamente estudadas e aplicadas (Silva, 2008; Huang *et al.*, 2017; Côrtes *et al.*, 2023).

O controle químico com foco na eliminação das formas imaturas do *A. aegypti* é realizado principalmente por meio do tratamento focal, que consiste na aplicação de larvicidas diretamente em criadouros fixos ou de difícil remoção (Brasil, 2019). Para essa finalidade o larvicida utilizado no Brasil é o Piriproxifem, que atua como um análogo ao hormônio juvenil que inibe a emergência do mosquito adulto (Brasil, 2024).

De forma mais sustentável, o controle biológico tem sido amplamente explorado como uma alternativa que reduz naturalmente a população de mosquitos por meio da predação, parasitismo, competição e ação de agentes patógenos que produzem toxinas e enfermidades (Brasil, 2001; Parra et al., 2002; Zara et al., 2016; Nakazawa et al., 2020). Há diversos estudos que demonstram a eficácia do controle biológico com o uso de organismos entomopatogênicos, os quais, além de causarem mortalidade direta das larvas, consequentemente reduzem a quantidade de ovos, larvas e mosquitos alados (Farenhorst et al., 2009; Pontes, 2018; Viana et al., 2021; Rique et al., 2024).

As bactérias entomopatogênicas são utilizadas mundialmente no controle de insetos vetores, como o *A. aegypti* (Salekjalali *et al.*, 2012; Ben-Dov, 2014; Derua *et al.*, 2018; da Silva *et al.*, 2020; Soares *et al.*, 2020; Viera-Neta *et al.*, 2021). A espécie *Bacillus thuringiensis* (Bt) destaca-se por suas propriedades inseticidas, atuando contra uma ampla gama de insetos vetores e pragas agrícolas (Beegle, 1992; Polanczyk *et al.*, 2003; Queiroz *et al.*, 2023). Trata-se de uma bactéria esporulante, em formato de bastonete (1 a 1,2 μm de largura por 3 a 5 μm de comprimento), Gram-positiva, aeróbica, podendo se desenvolver espontaneamente em anaerobiose, dentro da faixa de 10 a 45 °C (Alves, 1998; Habib; Andrade, 1998; Bora *et al.*, 2023; Land *et al.*, 2023). Essa capacidade de formar esporos confere-lhe resistência a condições ambientais adversas, sendo um fator crucial para sua viabilidade em processos de produção em larga escala, especialmente na formulação de bioinseticidas comerciais (Moraes *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2024).

A subespécie *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) é altamente tóxica e possui especificidade para larvas de mosquitos, devido à produção das proteínas Cry e Cyt, com forte ação larvicida (Bel *et al.*, 2020; Tetreau *et al.*, 2021; Crickmore *et al.*, 2023) (Figura 1).

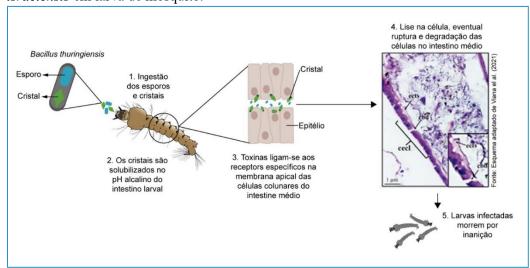


Figura 1. Esquema mostrando o modo de ação da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em larva de mosquito.

Fonte: Viana et al. (2021).

É, naturalmente, encontrada no solo, em ambientes aquáticos e em cadáveres de larvas de insetos, os quais, em determinadas circunstâncias, podem servir como ambiente favorável para sua multiplicação (Aly *et al.*, 1985; Khawaled *et al.*, 1990; Poulin *et al.*, 2022).

A utilização do Bti no controle de *A. aegypti* teve início a partir de 2001 no Brasil, como alternativa de substituição ao larvicida químico que estava sendo utilizado na época, temofós (Oliveira *et al.*, 2003).

Nesse contexto, o uso de biolarvicidas à base de Bti tem sido amplamente adotado, devido à baixa toxicidade ambiental, sobretudo quando comparado ao controle químico, que pode ocasionar danos à saúde humana e ao meio ambiente (Alves, 1998; Peña *et al.*, 2022; Sauka *et al.*, 2023). Além disso, esses produtos oferecem menor risco de seleção de mosquitos resistentes a inseticidas, devido ao seu mecanismo de ação (Bruhl *et al.*, 2020; Brasil, 2022).

Atualmente, está em uso no Brasil o larvicida VectoBac® WG, à base de Bti (cepa AM65-52), com concentração de 37,4% (3.000 Unidades Tóxicas Internacionais - UTI por miligrama), composto por grânulos dispersíveis em água, desenvolvido pela Valent BioSciences Corporation, EUA (WHO, 2025). Trata-se de um produto importado, de fácil aplicação, podendo ser introduzido diretamente nos potenciais criadouros com água, em baixas concentrações (Brasil, 2022; 2024).

A nova recomendação do Ministério da Saúde do Brasil para o uso de *Bacillus* thuringiensis israelensis (Bti) no controle de larvas de *A. aegypti* considera os registros de

seleção de resistência a alguns larvicidas anteriormente utilizados, além do enquadramento do Bti em todos os critérios estabelecidos para a seleção de produtos a serem adotados nos próximos cinco anos (Brasil, 2024).

Contudo, uma das principais limitações do uso de proteínas de Bt em larvicidas é sua baixa persistência no ambiente, pois fatores como radiação ultravioleta (UV), altas temperaturas e chuvas podem reduzir, significativamente, sua atividade inseticida (Fernández-Chapa *et al.*, 2019; Jalali *et al.*, 2023). A exposição direta à luz solar pode degradar as proteínas Cry e Cyt, responsáveis pela toxicidade do produto, reduzindo, drasticamente, sua eficiência larvicida e limitando a capacidade de reciclagem bacteriana (Zogo *et al.*, 2019; Viana *et al.*, 2021).

Diante do exposto, torna-se essencial verificar o potencial do larvicida VectoBac® WG em condições locais, principalmente em regiões tropicais como o Nordeste brasileiro, onde há forte influência desses fatores ambientais ao longo do ano (Batra *et al.*, 2000; Setha *et al.*, 2016; Viana *et al.*, 2021).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência do larvicida VectoBac® WG no controle de larvas de Aedes aegypti
em condições de semicampo, no município de Codó, Maranhão.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o potencial larvicida do VectoBac® WG em condições de semicampo, utilizando baldes plásticos expostos ao sol e à sombra;
- Verificar a persistência do VectoBac® WG em condições de sol e sombra;
- Conhecer o potencial de reciclagem bacteriana do larvicida em semicampo em condições de sol e sombra.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na cidade de Codó, Maranhão situado a aproximadamente 290 km da capital, São Luís. O município possui uma área territorial de 4.361,599 km² e uma população de 114.275 habitantes, resultando em uma densidade demográfica de 26,20 habitantes/km² (IBGE, 2022). Encontra-se a 47 m de altitude em relação ao nível do mar, com coordenadas geográficas de 4°27′18″ de latitude Sul e 43°53′9″ de longitude Oeste.

A vegetação predominante é composta por floresta aberta com babaçu e formações de cerrado. O clima é tropical subúmido, caracterizado por duas estações bem definidas: uma chuvosa (de janeiro a junho) e outra seca (de julho a dezembro). A temperatura média anual varia entre 26 °C e 27 °C, podendo atingir valores máximos de até 36 °C (Correia Filho *et al.*, 2011).

O experimento foi realizado na área externa do campus da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), no Centro de Ciências de Codó (CCCo), um espaço amplo e favorável à execução de estudos em semicampo, sob condições ambientais naturais.

3.2 Criação de *Aedes aegypti* em laboratório para a realização dos bioensaios em condição de semicampo

Para a realização dos bioensaios, foram utilizadas larvas de terceiro estádio de A. aegypti, obtidas da criação mantida no Laboratório de Controle de Insetos Vetores da UFMA, do CCCo. A criação foi conduzida conforme o protocolo descrito por Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994), adaptado por Pinheiro e Tadei (2002). As larvas foram mantidas sob condições controladas, com temperatura média de 26 ± 2 °C, umidade relativa de 85% e fotofase de 12 horas.

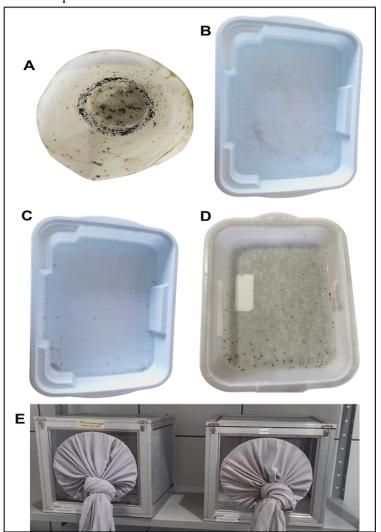
Após a eclosão, as larvas foram alimentadas com ração para gatos (Whiskas), padronizada e fornecida três vezes por semana, sendo realizada a limpeza das bacias plásticas, com troca de água, a fim de evitar a formação de película de gordura e a proliferação de microrganismos. As larvas permaneceram nas bacias até atingirem o terceiro estádio (L3), quando foram retiradas para serem utilizadas nos experimentos.

Na manutenção dos mosquitos adultos, fêmeas e machos foram alimentados com solução de água e açúcar a 10%, umedecida em algodão. Para as fêmeas, foi oferecido o repasto sanguíneo; as ingurgitadas foram colocadas para desovar em copos revestidos com papel-filtro

umedecido, a fim de evitar a dessecação dos ovos. Após o período de oviposição, em média de três a cinco dias, as desovas foram armazenadas em caixas de isopor.

Quando necessário para a realização dos bioensaios, as desovas de *A. aegypti* eram transferidas para bacias plásticas contendo água potável e alimento, seguindo o mesmo ciclo de atividades mencionado anteriormente (Figura 2). Além disso, mensalmente, eram introduzidos na criação de *A. aegypti* do laboratório, os mosquitos selvagens coletados em campo, para manter a variabilidade genética e garantir a representatividade das populações naturais, assegurando a reprodutibilidade dos estudos (Gloria-Soria *et al.*, 2019).

Figura 2. Criação de *Aedes aegypti* em laboratório para realização de bioensaios. A) Ovos B) Bandeja plástica com ovos para eclodir C) Larvas D) Pupas E) Gaiolas entomológica com mosquitos alados.



Fonte: A própria autora

3.3 Avaliação da persistência do VectoBac® WG em condição de semicampo no controle de larvas Aedes aegypti.

Os testes com o VectoBac® WG em semicampo foram realizados no período chuvoso de 20/03/2024 a 03/05/2024, totalizando 44 dias de avaliação.

Em semicampo foram utilizados 20 baldes plásticos de 13 litros, contendo em cada 10 litros de água da rede de abastecimento. Em cada balde foi adicionado 20 larvas do terceiro estádio de *A. aegypti* e alimento que consistia em ração para gato (Whiskas).

Dos 20 baldes utilizados, 10 foram posicionados ao ar livre. Desses, cinco receberam aplicação do larvicida biológico VectoBac® WG, enquanto os outros cinco foram mantidos como controle negativo, sem aplicação do produto. Todos os baldes foram cobertos com tecido tipo "volta ao mundo" para impedir a entrada de detritos e pequenos insetos (Figura 3). Os 10 baldes restantes foram alocados em uma área coberta e sombreada, protegida da luz solar direta e da chuva, e também foram cobertos com o mesmo tipo de tecido (Figura 4). Nessa condição, a metodologia de tratamento foi a mesma: cinco baldes receberam VectoBac® WG e cinco permaneceram como controle negativo.

A aplicação do biolarvicida se deu unicamente no primeiro dia do experimento seguindo recomendação da ficha técnica de uso do VectoBac® WG, adaptada pela secretaria de saúde do estado do Maranhão, sendo utilizada a proporção de 1/2 medida (0,5 g) em 10L de água (Valent Biosciences, [s.d.]).

Semanalmente foram feitas reposições das 20 larvas de terceiro estádio de *A. aegypti* em cada um dos baldes nas duas condições testadas e adicionado o alimento. A eficácia do larvicida foi avaliada semanalmente durante todo o período de experimento, com base na taxa de mortalidade larval após 24 e 48 horas de exposição, com contagem das larvas vivas. As larvas eram consideradas mortas quando não reagiam ao estímulo de agitação da água ou não subiam à superfície.

Figura 3. Bioensaios em baldes plásticos expostos a fatores ambientais para avaliação do larvicida biológico VectoBac® WG no controle de larvas de *Aedes aegypti* em Codó, Maranhão.



Fonte: A própria autora

Figura 4. Bioensaio em baldes plásticos protegidos de sol e chuva para avaliação do larvicida biológico VectoBac® WG no controle de larvas de *Aedes aegypti*, em Codó, Maranhão.



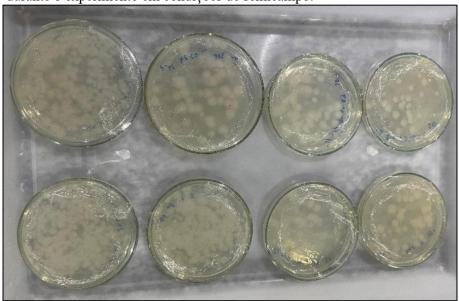
Fonte: A própria autora

3.4 Determinação da concentração de esporos bacterianos nos baldes tratados com o biolarvicida VectoBac® WG

Para verificar a persistência do biolarvicida VectoBac® WG, em condições de semicampo, retirou-se semanalmente 1 mL da água dos baldes tratados, em ambas as condições testadas, com o auxílio de uma micropipeta monocanal, transferindo-se o volume para microtubos de centrifugação de 1,5 mL. Em seguida, as amostras foram armazenadas em geladeira, à temperatura de 4 °C. Esse procedimento foi adotado durante todo o período do experimento.

Duas amostras de cada semana foram sorteadas para os testes de reciclagem bacteriana, totalizando 24 amostras avaliadas (12 dos baldes protegidos e 12 dos baldes desprotegidos). Cada amostra coletada foi submetida a choque térmico (80 °C por 12 minutos e resfriadas por 5 minutos), com o objetivo de eliminar células vegetativas e bactérias não esporulantes da suspensão. Em seguida, cada amostra foi submetida individualmente a diluições seriadas (10, 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³) em água destilada. Para cada uma dessas diluições, foram preparadas triplicatas, utilizando-se 100 μL da diluição em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Nutriente (KASVI). Com o auxílio da alça de Drigalski, o conteúdo foi espalhado uniformemente por toda a superfície das placas. Em seguida, foi passado papel filme nas bordas para vedá-las, e as placas foram incubadas de forma invertida em estufa bacteriológica a 28 °C por 24 horas. Após esse período, realizou-se a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL), com base no modelo de contagem em placa descrito por Alves e Moraes (1998), (Figura 5).

Figura 5. Crescimento de colônias bacterianas de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* em placas de Petri, obtidas a partir das amostras da água coletadas nos baldes tratados com o larvicida biológico VectoBac® WG durante o experimento em condições de semicampo.



Fonte: A própria autora.

3.5 Análise dos dados

Os dados de mortalidade dos testes em condições de semicampo foram digitados em planilhas do Programa Microsoft Office Excel 2019 para montagem do banco de dados e construção de gráficos e tabelas.

Os dados obtidos a partir dos tratamentos foram submetidos ao teste t-Student para avaliar a diferença de mortalidade larval entre os reservatórios tratados e os do grupo controle, a nível de 5% de significância, sendo valores de p significativos aqueles < 0,05. Foi utilizado programa GraphPad Prism version 5.0 (La Jolla, CA, USA) para a realização das análises e confecção dos gráficos.

4 RESULTADOS

4.1 Bioensaios em baldes expostos a fatores ambientais

O bioensaio realizado sob exposição direta aos fatores ambientais utilizando o larvicida VectoBac® WG demonstrou elevada eficácia nos primeiros dias, com 100% de mortalidade com 24 horas de exposição (Figura 6). A partir do 8º dia, observou-se uma redução na eficácia, com 96% de mortalidade, seguida de um aumento para 98% no 9º dia. Nos dias subsequentes, houve um declínio gradual, 90% no 15º dia, e 93% no 16º dia (Figura 6).

A partir do 22º dia, a eficácia do produto diminuiu consideravelmente, registrando 32% de mortalidade, com um leve aumento para 40% no 23º dia. Após o 29º dia a taxa de mortalidade larval manteve-se inferior a 30% (Figura 6).

Nos recipientes utilizados como controle (sem inoculação do produto), a taxa de mortalidade permaneceu em 0% até o 9° dia exposição. A partir do 15° dia, observou-se variações da mortalidade, mantendo percentual de mortalidade menor ou igual a 10% até 36° dia de experimento, após esse período a mortalidade larval apresentou valores mais elevados, como 38% no 44° dia, o que levou a finalização do teste (Figura 6).

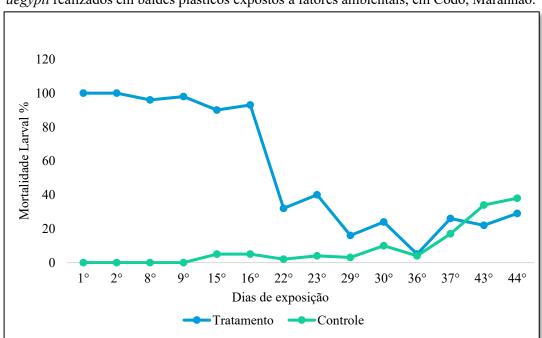
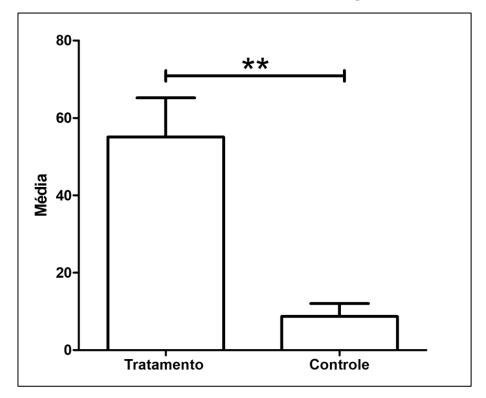


Figura 6. Atividade larvicida do VectoBac® WG em bioensaios com larvas de *Aedes aegypti* realizados em baldes plásticos expostos a fatores ambientais, em Codó, Maranhão.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Nos baldes expostos aos fatores ambientais e tratados com o biolarvicida, observaramse diferenças estatisticamente significativas entre as médias, sendo a do tratamento superior à do controle (t = 3.8; df = 13; p = 0.0021) (Figura 7).

Figura 7. Média da mortalidade larval de *Aedes aegypti* em baldes expostos a fatores ambientais avaliados na cidade de Codó-MA. **p < 0,01.



Fonte: Autores

4.2 Bioensaios em baldes protegidos de sol e chuva

Nos recipientes protegidos de sol e chuva, o VectoBac® WG apresentou uma eficácia prolongada. A mortalidade manteve-se em 100% durante os primeiros 16 dias de exposição ao larvicida (Figura 8).

No 22º dia, observou-se uma redução da eficácia para 85%, mas entre o 29º e o 37º dia, a taxa de mortalidade variou entre 88% e 99% respectivamente. No 43º dia houve uma queda para 50%, aumentando posteriormente o índice de mortalidade, que atingiu 96% no 44º dia, quando o experimento foi encerrado (Figura 8).

No grupo controle, a taxa de mortalidade permaneceu abaixo de 20% até o 43° dia, alcançando um índice de 24% ao final do experimento (Figura 8).

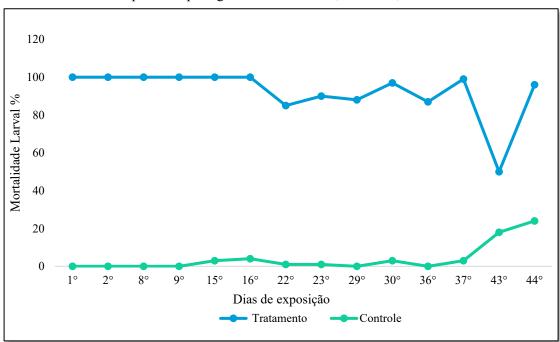
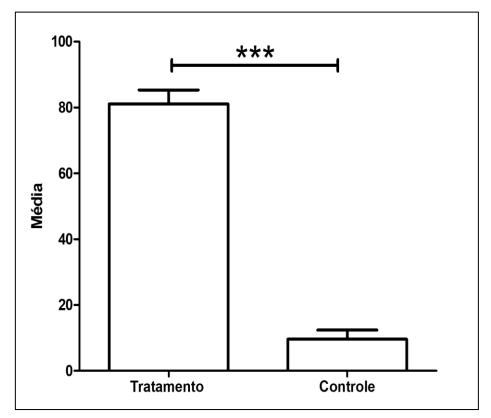


Figura 8. Atividade larvicida do VectoBac® WG em bioensaios com larvas de *Aedes aegypti* realizados em baldes plásticos protegidos de sol e chuva, em Codó, Maranhão.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Nos baldes protegidos tratados com o biolarvicida, verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre as médias, com a média do tratamento sendo superior à do controle (t = 13,22; df = 23; p = 0,0001) (Figura 9).

Figura 9. Média da mortalidade larval de *Aedes aegypti* em baldes plásticos protegidos de sol e chuva avaliados na cidade de Codó-MA. ***p < 0,001.



Fonte: Autores

4.3 Reciclagem bacteriana

Nos baldes protegidos, a média inicial do número de esporos viáveis no 7º dia foi de 7,205×10⁴ UFC/mL, seguida por redução para 3,5×10³ UFC/mL no 14º dia e 3,35×10³ UFC/mL no 21º dia. A partir do 28º dia, observou-se aumento na concentração de esporos viáveis atingindo 1,985×10⁴ UFC/mL, seguido de uma leve redução para 1,85×10⁴ UFC/mL no 35º. No 42º dia de exposição, houve um aumento no número de esporos viáveis, alcançando 5,295×10⁴ UFC/mL (Tabela 1).

Nos baldes desprotegidos, verificou-se uma média inicial de 5,025×10⁴ UFC/mL no 7° dia, que diminuiu para 4,925×10⁴ UFC/mL no 14° dia, 3,495×10⁴ UFC/mL no 21° dia e 4,85×10³ UFC/mL no 28° dia, seguido de um aumento para 1,215×10⁴ UFC/mL no 35° dia e, ao final do experimento, houve uma redução no número de esporos viáveis, para 7,75×10³ UFC/mL no 42° dia (Tabela 1).

Tabela 1. Viabilidade microbiológica do VectoBac® WG (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) em larvas de 3º instar de *Aedes aegypti*, em baldes protegidos e expostos às condições ambientais.

	BALDES PROTEGIDOS	BALDES DESPROTEGIDOS
Dias	Viabilidade Microbiológica (UFC/mL)	Viabilidade Microbiológica (UFC/mL)
7°	$7,205 \times 10^4$	5,025x10 ⁴
14°	$3,5x10^3$	$4,925 \times 10^4$
21°	$3,35x10^3$	$3,495 \times 10^4$
28°	$1,985 \times 10^4$	$4,85 \times 10^3$
35°	$1,85 \times 10^4$	$1,215x10^4$
42°	$5,295 \times 10^4$	$7,75x10^3$

Fonte: Elaborado pela própria autora.

5 DISCUSSÃO

Os bioensaios realizados em semicampo com o VectoBac® WG demonstraram que o larvicida apresenta elevada eficácia inicial em ambas as condições testadas, com 100% de mortalidade larval. No entanto, em relação à efetividade do produto, houve diferença no decorrer do experimento, sendo maior nos baldes protegidos do que nos baldes expostos aos fatores ambientais.

Esses resultados corroboram com os estudos realizados por Silva *et al.* (2014) em Caxias-MA, no qual testaram o biolarvicida VectoBac® em tanques de cimento e mostraram que a efetividade do larvicida nos recipientes protegidos dos fatores ambientais é mais elevada, agindo 100% na mortalidade das larvas de *A. aegypti* até o 42° dia após a aplicação, enquanto que nos expostos aos fatores ambientais a mortalidade de 100% só ocorreu durante as primeiras 24 horas de exposição, verificando que a efetividade e persistência do produto quando exposto às condições ambientais é fortemente afetada por fatores abióticos.

Estudos realizados por Viana *et al.* (2021), também no município de Caxias-MA, utilizando o formulado VectoBac® WG em baldes e pneus contra larvas de *A. aegypti*, encontraram resultados semelhantes com a eficácia inicial do larvicida nas duas condições testadas. Nos recipientes protegidos, a efetividade do biolarvicida foi 100% até o 42° dia, o que sobressaiu sobre os recipientes desprotegidos, que obtiveram 100% por aproximadamente duas semanas. Esses resultados demonstraram que os fatores ambientais interferem na atividade larvicida do produto independentemente do tipo de reservatório (Araújo, 2006; Amorim *et al.*, 2019; Devillers, 2020).

O efeito residual do Bti pode variar, com alguns estudos indicando uma duração menor da eficácia em comparação a outros inseticidas. Chen *et al.* (2025) verificaram que a eficácia do larvicida microbiano á base de Bti em larvas de *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) manteve-se por apenas dois dias no tratamento, enquanto uma eficácia mais longa de até três e quatro semanas foi alcançada pelos tratamentos com S-metopreno. Derua *et al.* (2022), estudando biolarvicidas para o controle de larvas de *Anopheles gambiae* Giles, 1902 *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 e *A. aegypti* em semicampo no nordeste da Tanzânia, constataram atividade residual de *Lysinibacillus sphaericus* (Griselesf®) mais prolongada em comparação com Bti (Bactivec®). Outros estudos também relataram eficácias residuais curtas de produtos com Bti, afirmando que seu uso requer reaplicações frequentes (Su e Mulla, 1999; Lima *et al.*, 2005; Zogo *et al.*, 2019).

No trabalho realizado por Lima *et al.* (2016), ao analisar a eficácia de duas formulações de granulado de Bti, Vectobac G® e Vectobac WDG®, e do organosfosforado Temephos® contra *A. aegypti* em semicampo, obtiveram mortalidade larval de *A. aegypti* maior de 80% mantida por até 56 dias para o Temephos®, 35 dias para o Vectobac G® e 49 dias para o Vectobac WDG®. Esses resultados indicaram baixa persistência de Bti, principalmente para recipientes expostos à luz solar, como observado no presente estudo. Rique *et al.* (2024) avaliaram a atividade residual do larvicida combinado *Lysinibacillus sphaericus*/Bti (Vectomax™ FG) contra larvas de *A. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* em semicampo protegido dos fatores ambientais e demonstraram um período de persistência de 8 semanas com aproximadamente 80% de mortalidade para ambas as espécies após um único tratamento. Esses resultados são semelhantes aos encontrados no presente estudo, que indicam maior persistência da bactéria nos recipientes protegidos dos fatores ambientais.

No decorrer das semanas, verificou-se que a eficácia do biolarvicida foi reduzindo, mostrando que os estresses ambientais, bem como as condições climáticas, como temperaturas mais elevadas e intensidade da luz solar, podem ter afetado negativamente a sua eficiência, visto que a radiação ultravioleta degrada as toxinas e reduz a viabilidade dos esporos (Lacey, 2007; Silva *et al.*, 2014; Zogo *et al.*, 2019; Poulin *et al.*, 2022; Rique *et al.*, 2024; Wu, 2024). Em Codó, a estação chuvosa é quente e nublada, a estação seca é sufocante e parcialmente nublada, e o clima é opressivo o ano todo. Ao longo do ano, a temperatura varia tipicamente de 22°C a 38°C, raramente abaixo de 20°C ou acima de 39 °C (WEATHERSpark, 2025).

Conforme discutido na literatura, a faixa UV-B (280–310 nm) e UV-A (320–400 nm) é responsável pela degradação dos cristais, principalmente por danos ao resíduo de triptofano e formação de espécies reativas de oxigênio via foto-sensibilização; a ausência de oxigênio (em vácuo) reduz os danos significativamente (Pusztai *et al.*, 1991; Sanchis *et al.*, 1999). Segundo Sansinenea *et al.* (2015), após um dia de exposição à luz solar, os produtos de Bt são rapidamente inativados, mas geralmente leva de dois a três dias para que os efeitos inseticidas atinjam seu pleno efeito.

Outro fator determinante é que as precipitações podem também ter contribuído para a redução da eficácia biolarvicida nos baldes expostos (Dambach *et al.*, 2014), uma vez que o aumento do nível da água pode ter provocado a diluição do produto e até mesmo o transbordamento, resultando na perda do biolarvicida. O período chuvoso na cidade de Codó dura 8,9 meses, de 9 de outubro a 4 de julho, com uma precipitação pluviométrica de pelo menos 1,3 cm em intervalos de 31 dias (WEATHERSpark, 2025). O mês com mais chuva em

Codó é março, com uma precipitação média de 28 cm. Esses achados corroboram os resultados observados por Viana *et al.* (2021), que também relataram o impacto das chuvas na redução da persistência do Bti em ambientes expostos aos fatores climáticos. Apesar das adversidades das condições climáticas observadas no Maranhão, com clima tropical, que afetam a ação do biolarvicida, os resultados demonstram que ocorre a reciclagem do Bti em semicampo. Os resultados obtidos mostraram que o processo de reciclagem do Bti ocorreu naturalmente nos recipientes, mesmo nos expostos às condições ambientais.

A reciclagem ocorre quando os esporos de Bt, que são formas dormentes e resistentes da bactéria, são ingeridos por certos organismos, como insetos aquáticos. Esses esporos proliferam em cadáveres de insetos, onde podem completar todo o seu ciclo de crescimento, desde a germinação até o crescimento vegetativo e a esporulação, sendo então liberados de volta ao ambiente por meio de suas fezes ou decomposição. Esse processo pode levar a uma presença duradoura de Bt no ambiente e potencialmente contribuir para o desenvolvimento de resistência de insetos às toxinas de Bt (Khawaled *et al.*, 1988; Melo-Santos *et al.*, 2009; Raymond *et al.*, 2010; Duchet *et al.*, 2014; Poulin *et al.*, 2022).

Também foi possível observar a variação da viabilidade microbiológica ao longo do desenvolvimento do experimento. Os esporos viáveis do Bti obtiveram maior número nos baldes protegidos do que nos desprotegidos. Dados estes corroboram com os testes realizados em semicampo por Viana *et al.* (2021), em que verificaram elevada reciclagem do biolarvicida entre duas e três semanas. Batra *et al.* (2000), em ensaios realizados em campo na Índia, em diferentes reservatórios, também verificaram que formulações de Bti apresentam persistência no máximo de três semanas.

De acordo com Myasnik *et al.* (2001), Silva *et al.* (2014), Viana *et al.* (2021) e Viana *et al.* (2023), a diferença no número de esporos viáveis do Bti impacta diretamente na efetividade do biolarvicida, pois, nas condições protegidas, o biolarvicida mantém a eficiência por mais tempo do que quando exposto às condições adversas do ambiente.

Nesse contexto, a efetividade e a persistência do produto diminuem ao longo do tempo, evidenciando a influência das condições climáticas sobre o biolarvicida. Ainda assim, a reciclagem bacteriana ocorre e contribui para prolongar a ação do formulado nos criadouros, favorecendo o controle larval. Este estudo reforça a importância do uso de Bti no controle de imaturos de *A. aegypti* em Codó-MA, cidade com condições propícias à proliferação do vetor e com necessidade de alternativas ao uso de inseticidas químicos. Diante do exposto, as

condições climáticas e ambientais locais devem ser consideradas quando novos produtos são testados, devido à alta variabilidade regional prevalecente no Brasil.

6 CONCLUSÃO

- O larvicida apresenta elevada eficácia inicial tanto nos baldes expostos aos fatores ambientais quanto em recipientes protegidos desses fatores;
- A eficiência do larvicida foi maior em baldes protegidos das condições ambientais;
- Os esporos viáveis do Bti possuem a capacidade de se reciclar em baldes contendo imaturos de A. aegypti;
- A reciclagem bacteriana influencia na efetividade do larvicida, prolongando sua eficácia ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B.; MORAES, S. A. Quantificação de inóculos de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. (Org.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.765-777.
- ALY, C. et al. Sporulation and toxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in cadavers of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 46, n. 3, p. 251–258, 1985.
- AMORIM. *et al.* Avaliação da persistência de três larvicidas utilizados no controle do *Aedes aegypti* em Arapiraca, Nordeste do Brasil. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 35, n. 3, p. 192–199, 2019.
- ARAÚJO, A. P. Avaliação de um biolarvicida à base de *Bacillus thuringiensis* sorovar *israelensis*, desenvolvido no Brasil, para o controle do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- BATRA, C. P. *et al.* Control of *Aedes aegypti* breeding in desert coolers and tires by use of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulation. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 16, n. 4, p. 321-323, 2000.
- BEEGLE, C. C.; Yamamoto, T. Invitation paper (C. P. Alexander Fund): history of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Canadian Entomologist**, v. 124, p. 587–616, 1992.
- BEL, Y. *et al.* Bacillus thuringiensis toxins: functional characterization and mechanism of action. **Toxins (Basel)**, v. 12, n. 12, p. 785, 2020.
- BEN-DOV, E. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. **Toxins**, v. 6, n. 4, p. 1222-1243, 2014.
- BORA, P. et al. Rhizospheric Bacillus spp. exhibit miticidal efficacy against Oligonychus coffeae (Acari: Tetranychidae) of tea. **Microorganisms**, v. 11, n. 11, p. 2691, 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas.** Brasília: Ministério da Saúde, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Programa Nacional de Controle da Dengue.** Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 45 p.
- BRASIL. Ministério Da Saúde. **Painel de vigilância de arboviroses**. 2025. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses. Acesso em 15 de abr. de 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Arboviroses. **Nota**

- **Informativa nº 29/2024-CGARB/DEDT/SVSA/MS:** Recomendações para o manejo da resistência do *Aedes aegypti* a inseticidas. Brasília, DF, 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias Volume 1:** Arboviroses Transmitidas pelo *Aedes aegypti*. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Arboviroses. **Nota Técnica nº 39/2022-CGARB/DEIDT/SVS/MS.** Disponível em: https://pt.scribd.com/document/648287536/Nota-tecnica-39. Acesso em: 05 jul. 2025.
- BRUHL, C. A. *et al.* Environmental and socioeconomic effects of mosquito control in Europe using the biocide *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti). **Science of The Total Environment**, 2020, p. 137800.
- CAVALCANTE, A. C. P. *et al.* Spatial modelling of the infestation indices of *Aedes aegypti*: aninnovativestrategy for vector control actions in developing countries. **Parasites & Vectors**,13(1), 197.2020.
- CHADEE, D. D.; MARTINEZ, R. *Aedes aegypti* (L.) in Latin American and Caribbean region: with growing evidence for vector adaptation to climate change? **Acta Tropica**, v. 156, p. 137–143, 2016.
- CHEN, Y. et al. Evaluation on activity and efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and S-methoprene against the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in discarded tires. **Journal of Medical Entomology**, v. 62, n. 4, p. 895–904, 2025.
- CONSOLI, R. A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. L. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: SciELO Editora FIOCRUZ, 1994.
- CORREIA-FILHO, F. L. et al. **Projeto de Fontes de Abastecimento por Água Subterrânea, estado do Maranhão: relatório diagnóstico do município de Codó**. Teresina: CPRM Serviço Geológico do Brasil, 2011.
- CÔRTES, N. *et al.* Integrated control strategies for dengue, Zika, and Chikungunya virus infections. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1281667, 18 dez. 2023.
- COSTA, A. I. P.; NATAL, D. Distribuição espacial da dengue e determinantes socioeconômicos em localidade urbana no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p. 232-236, 1998.
- CRICKMORE, N. *et al. Bacillus thuringiensis* **toxin nomenclature.** Disponível em: http://www.btnomenclature.info._Acesso em: 9 maio 2023.
- DA SILVA, W. J. et al. The great potential of entomopathogenic bacteria *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* for mosquito control: a review. **Parasites & Vectors**, v. 13, art. 376, 2020.

DAMBACH, P. et al. Eficácia do Bacillus thuringiensis var. israelensis contra mosquitos da malária no noroeste de Burkina Faso. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 371, 2014.

DERUA, Y. A. *et al.* Laboratory and semi-field evaluation of the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bactivec®) and *Bacillus sphaericus* (Griselesf®) for control of mosquito vectors in northeastern Tanzania. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 2, p. 100089, 2022.

DEVILLERS, J. Fate and ecotoxicological effects of pyriproxyfen in aquatic ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 27, p. 16052–16068, 2020.

DUCHET, C. et al. Persistence and recycling of bioinsecticidal *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis spores in contrasting environments: evidence from field monitoring and laboratory experiments. **Microbial Ecology**, v. 67, p. 576–586, 2014.

FARENHORST, M. *et al.* Fungal infection counters insecticide resistance in African malaria mosquitoes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n.41, p.17443-17447, 2009.

FÁVARO, Eliane A. *et al.* Physiological state of *Aedes (Stegomyia) aegypti* mosquitoes captured with MosquiTRAPsTM in Mirassol, São Paulo, Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 31, n. 2, p. 285-291, 2006.

FERNÁNDEZ-CHAPA, D. *et al.* Potencial tóxico do *Bacillus thuringiensis*: uma visão geral. In: INTECHOPEN. **Potencial tóxico do Bacillus thuringiensis: uma visão geral**, 2019.

FONSECA, F. V. Morfometria geométrica e banco de dados na investigação de problemas biológicos em Culicidae. 2018. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica.** 1. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

GLORIA-SORIA, A. *et al.* Diversidade genética de cepas de laboratório e implicações para a pesquisa: o caso do *Aedes aegypti*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 12, e0007930, 2019.

GROSSI, S. M. Isolamento, identificação e desenvolvimento de compostos com potencial atividade em *Aedes aegypti*. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. F. S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (org.). **Controle microbiano de insetos**, v. 2, p. 383–446, 1998.

HUANG, Y.-J. S. *et al.* Biological control strategies for mosquito vectors of arboviruses. **Insects**, v. 8, n. 1, art. 21, 2017.

- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Codó (MA) Panorama. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ma/codo/panorama. Acesso em: 14 jun. 2025.
- JALALI, E. *et al.* Aumento da eficácia inseticida do *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab por meio de encapsulamento sensível ao pH. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, p. 6407–6419, 2023.
- KHAWALED, K. *et al.* Feeding behavior of *Aedes aegypti* larvae and toxicity of dispersed and of naturally encapsulated *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 52, n. 3, p. 419–426, 1988.
- KHAWALED, K. et al. The fate of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis in B. thuringiensis var. israelensis-killed pupae of *Aedes aegypti*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 56, n. 3, p. 312–316, nov. 1990.
- LACEY, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23, suplemento 2, p. 133–163, 1 jul. 2007.
- LAND, M. *et al.* Effects of mosquito control using the microbial agent *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) on aquatic and terrestrial ecosystems: a systematic review. **Environmental Evidence**, v. 12, n. 1, art. 26, 2023.
- LEE, S. A. *et al.* The impact of climate suitability, urbanisation, and connectivity on the expansion of dengue in 21st century Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 12: e0009773, dez. 2021.
- LIMA, J. B. *et al.* Residual effect of two *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* products assayed against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in laboratory and outdoors at Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, p. 125–130, 2005.
- LWANDE, O. W. et al. Globe-trotting Aedes aegypti and Aedes albopictus: risk factors for arbovirus pandemics. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, v. 20, n. 2, p. 71–81, 2020.
- MARTINS, V. P. *et al. Aedes albopictus* no Brasil: aspectos ecológicos e riscos de transmissão da dengue. **Entomotropica**, v. 28, n. 2, p. 75-86, 2013.
- MELO-SANTOS, M. A. V. *et al.* Long lasting persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* larvicidal activity in *Aedes aegypti* breeding places is associated to bacteria recycling. **Biological Control**, v. 49, n. 2, p. 186–191, 2009.
- MORAES, I. O. *et al.* Produção de bactérias entomopatogénicas. In: S.B. ALVES, **Controle microblano de insetos**. São Paulo: FEALQ. 1998. p. 815-843.
- MYASNIK, R. M. *et al.* Comparative sensitivity to UV-B radiation of two *Bacillus thuringiensis* subspecies and other *Bacillus* sp. **Current Microbiology**, v. 43, p. 140–143, 2001.

- NAKAZAWA, M. M. et al. Efficacy and persistence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) and pyriproxyfen-based products in artificial breeding sites colonized with susceptible or Bti-exposed *Aedes aegypti* larvae. **Biological Control**, v. 151, art. 104400, 2020.
- OLIVEIRA, R. L. *et al.* Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios dos estados do Rio de Janeiro, Alagoas e Sergipe. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 3, p. 141–145, 2003.
- PANCETTI, F. G. M. *et al.* Twenty-eight years of *Aedes albopictus* in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 1, p. 87-89, 2015.
- PARRA, J. R. P. *et al.* **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002.
- PEÑA, L. C. *et al.* Mosquito *Aedes* spp. vetor de importantes arboviroses: do controle clássico ao biotecnológico, uma breve revisão. **Revista Valore**, v. 7, p. 7052, 2022.
- PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 6, p. 1529-1535, 2002.
- POLANCZYK, R.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociencia**, v. 7, n. 2, p. 1-9, 2003.
- PONTES, G.O. **Seleção de fungos filamentosos de solos da Amazônia para controle biológico de larvas e adultos de** *Aedes aegypti* **L**, vetor dos vírus da dengue, chikungunya e zika. 2018. 120 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.
- POULIN, B. *et al.* Long-term persistence and recycling of *Bacillus thuringiensis israelensis* spores in wetlands sprayed for mosquito control. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 243, p. 114004, 2022.
- PUSZTAI, M. *et al.* The mechanism of sunlight-mediated inactivation of *Bacillus thuringiensis* crystals. **Biochemical Journal**, v. 273, n. 1, p. 43–47, 1991.
- QUEIROZ, P. R. *et al.* Identificação de genes *cry* em *Bacillus thuringiensis* por PCR multiplex em tempo real. **Journal of Microbiological Methods**, v. 205, art. 2023.
- RAYMOND, B. *et al.* The ecology and evolution of microbial insecticides. **Trends in Microbiology**, v. 18, n. 7, p. 311–316, 2010.
- RIQUE, H. L. *et al.* Evaluation of a long-lasting microbial larvicide against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* under laboratory and a semi-field trial. **Parasites & Vectors**, v. 17, n. 1, art. 391, 2024.

- RODRIGUES, G. O. *et al.* Potenciais criadouros de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) em pontos estratégicos em um município da região leste do Maranhão. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e275582, 2023.
- ROMERO-VIVAS, C. M. *et al.* Comparação dos limiares de transmissão do arbovírus *Aedes aegypti* em duas comunidades com diferentes infraestruturas de abastecimento de água. **BMC Saúde Pública**, v. 24, n. 1, p. 2096, 2 ago. 2024.
- SALEKJALALI, M. *et al.* Isolation, Pcr Detection and Diversity of Native *Bacillus thuringiensis* Strains Collection Isolated from Diverse Arasbaran Natural Ecosystems. **World Applied Sciences Journal**, v. 18, n. 8, p. 1133-1138, 2012.
- SANCHIS, V. *et al.* Development and field performance of a broad-spectrum nonviable asporogenic recombinant strain of *Bacillus thuringiensis* with greater potency and UV resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 9, p. 4032–4039, set. 1999.
- SANSINENEA, E. *et al.* Uma cepa selvagem tolerante à radiação ultravioleta de *Bacillus thuringiensis* produtor de melanina. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 8, n. 7, e20910, jul. 2015.
- SANTOS DA SILVA, A. *et al.* Influência de los factores abióticos en la efectividad de la *Bacillus thuringiensis israelensis* (Berliner, 1911) contra larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 66, n. 2, p. 174–190, 2014.
- SAUKA, D. H. *et al. Bacillus thuringiensis* Bt_UNVM-84, a novel strain showing insecticidal activity against *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). **Toxins**, v. 16, n. 1, p. 4, 2023.
- SETHA, T. et al. Bacterial larvicide, Bacillus thuringiensis israelensis strain AM 65-52 water dispersible granule formulation impacts both dengue vector, Aedes aegypti (L.) population density and disease transmission in Cambodia. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 10, n. 9, p. e0004973, 2016.
- SILVA, D. M. F. da. *et al.* Detecção de arbovírus em *Aedes aegypti* por meio de análise transovariana: um estudo em Goiânia, Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 57, p. e00400-2023, 2024.
- SILVA, J. S. *et al.* A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação às políticas de controle. **Hygeia**, v. 3, n. 6, p. 163–175, jun. 2008.
- SOARES, A. S. *et al.* Bioprospecting of *Bacillus thuringiensis* in the control of *Aedes aegypti* larvae. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 16, p. e430–e430, 2020.
- SU, T.; MULLA, M. S. Field evaluation of new water dispersible granular formulations of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* against *Culex* mosquitoes in microcosms. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 15, p. 356–365, 1999.

- TETREAU, G. et al. How does *Bacillus thuringiensis* crystallize such a large diversity of toxins? **Toxins (Basel)**, v. 13, p. 443, 2021.
- VALENT BIOSCIENCES. **Ficha técnica: VectoBac® WG** *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), Cepa AM65-52. [S.l.]: Valent BioSciences Corporation, [s.d.]. 2 p. Disponível em: https://www.sumitomochemical.com/wp-content/uploads/2024/03/Ficha-Tecnica-VectoBac-WG.pdf. Acesso em: 16 jun. 2025.
- VIANA, J. L. et al. Microencapsulation of *Bacillus thuringiensis* strains for the control of *Aedes aegypti*. **Experimental Parasitology**, v. 255, p. 108654, 2023.
- VIANA, J. L. *et al.* Larvicide activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in simulated field condition. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 43248–43264, 2021.
- VIEIRA-NETA, M. R. A. et al. Strain of *Bacillus thuringiensis* from Restinga, toxic to *Aedes* (Stegomyia) aegypti (Linnaeus) (Diptera, Culicidae). **Brazilian Journal of Biology**, 2021.
- WEATHERSpark. Clima e condições meteorológicas médias em Codó no ano todo. Disponível em:https://weatherspark.com/y/30641/Average-Weather-in-Cod%C3%B3-Maranh%C3%A3o-Brazil-Year-Round. Acesso em: 8 set. 2025.
- WEAVER, S. C. *et al.* Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. **Annual Review of Medicine**, v. 69, p. 395–408, 2018.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **VectoBac WG**. Geneva: WHO Prequalification Team Vector Control, [2025?]. Disponível em: https://extranet.who.int/prequal/vector-control-products/vectobac-wg. Acesso em: 9 jun. 2025.
- WU, Z. Uso de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* para controlar larvas de mosquitos na aquicultura (*Aedes* spp.): uma estratégia de controle ecológico. **Journal of Mosquito Research**, v. 14, n. 2, p. 67–75, 2024.
- WULIANDARI, J. R. *et al.* Frequency of *kdr* mutations in the voltage-sensitive sodium channel (VSSC) gene in *Aedes aegypti* from Yogyakarta and implications for *Wolbachia*-infected mosquito trials. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 429, 2020.
- XIA, S. *et al.* Larval breeding sites of the mosquito *Aedes aegypti* in forest and domestic habitats in Africa and the potential association with oviposition evolution. **Authorea Preprints**, 2021.
- ZARA, A. L. S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391–404, 2016.
- ZOGO, B. et al. Impacto da exposição solar na eficácia residual dos biolarvicidas *Bacillus* thuringiensis israelensis e *Bacillus sphaericus* contra o principal vetor da malária, *Anopheles gambiae*. **Malaria Journal**, v. 18, p. 55, 2019.