



TEMPO DE EFEITO DO ESPINOSADE SOBRE LARVAS DO MOSQUITO

Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)¹

Ana Luíza Barrionuevo Vicari², Marcelo Monteiro³, Heloisa Carvalho Fernandes⁴,
Sthefanie Viechnieski⁵, Gabriela Rebelatto⁶, Maria Assunta Busato⁷

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido na Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ).

² Bolsista PIBITI/CNPq, estudante do curso de Medicina da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: anabvicari@unochapeco.edu.br

³ Mestrando do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: marcelo.monteiro@unochapeco.edu.br

⁴ Estudante do curso de Medicina da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: heloisafernandes@unochapeco.edu.br

⁵ Estudante do curso de Medicina da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: sthe.vic@unochapeco.edu.br

⁶ Estudante do curso de Medicina da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: gabriela.rebelatto@unochapeco.edu.br

⁷ Docente do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ), Chapecó – SC/Brasil. E-mail: assunta@unochapeco.edu.br

RESUMO

Introdução: O mosquito *Aedes aegypti* é vetor dos arbovírus causadores da dengue, chikungunya, Zika e da febre amarela, sendo assim considerado um problema de saúde pública mundial. O Espinosade é um larvicida que vem sendo utilizado no Programa Nacional de Controle da Dengue para controle populacional desse mosquito e consequentemente do número de notificação dos arbovírus relacionados. **Objetivo:** Avaliar o tempo de efeito do biolarvicida Espinosade, em condições laboratoriais, no controle populacional do mosquito *Aedes aegypti*. **Metodologia:** Os testes, realizados em microcosmos em quintuplicata com dez larvas e larvicida diluído, foram avaliados por 24 h. **Resultados:** As larvas que estavam em contato com o larvicida Espinosade, começaram a morrer após 1h30 de exposição. Ocorreu mortalidade de 100% das larvas de *A. aegypti* após 24 horas de exposição. **Conclusão:** Identificou-se que as larvas expostas ao Espinosade apresentaram mortalidade a partir de 1h30 de exposição até 24 horas para 100% de efetividade.

INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) é vetor dos arbovírus causadores da dengue, chikungunya, Zika e da febre amarela (KAMAL *et al.*, 2022). É, em termos de morbidade e mortalidade, um potencial problema na saúde pública mundial, especialmente em países situados nas regiões tropicais e subtropicais do globo (ALIAGA-SAMANEZ *et al.*, 2021). No Brasil, em 2022, até a semana epidemiológica (SE) 48 ocorreram 978 óbitos e 1.400.100 casos prováveis de dengue (taxa de incidência de 656,3 casos por 100 mil hab.), quando comparado com o ano de 2021, ocorreu um aumento de 172,4% casos até a



respectiva semana. Os estados que apresentaram o maior número de óbitos foram: São Paulo (275), Goiás (153), Paraná (108), Santa Catarina (90) e Rio Grande do Sul (66) (BRASIL, 2022). Permanecem em investigação outros 134 óbitos. Em relação a chikungunya até a SE 48 de 2022 ocorreram 170.186 casos prováveis (taxa de incidência de 79,8 casos por 100 mil hab.). No Brasil foram confirmados 91 óbitos para chikungunya, sendo que o Ceará concentra 44,8% (39) dos óbitos. Já os números de contaminação de Zika, ocorreram 9.256 casos prováveis até a SE 48 de 2022, correspondendo a uma taxa de incidência de 4,3 caso por 100 mil hab. foi confirmado um óbito por Zika no País, ocorrido no estado de Goiás (BRASIL, 2022).

Há diversos fatores que corroboram a dispersão geográfica do mosquito *A. aegypti*. No território brasileiro a espécie se encontra distribuída em todos os estados, fazendo-se presente em qualquer mês do ano (SALVI *et al.*, 2021; CARVALHO *et al.*, 2020; BUSATO *et al.*, 2019). As mudanças climáticas globais, ambientes com elevada densidade populacional humana, aliado com baixa cobertura vegetal, poluição, descarte incorreto de resíduos e perda de biodiversidade, são os principais fatores facilitadores da disseminação geográfica do mosquito (SALVI *et al.*, 2021; LIU-HELMERSSON *et al.*, 2019; CECÍLIO *et al.*, 2015). O acesso precário ao saneamento básico, abastecimento de água desfalcado, urbanização descontrolada aliada à desigualdade social, são questões que culminam na propagação de *A. aegypti* e de doenças relacionadas, no território brasileiro (MERÊNCIO; TASCA; VIEIRA, 2018; CODEÇO, 2009).

Diferentes estratégias são empregadas e desenvolvidas para controle populacional de *A. aegypti*, de modo a diminuir os casos de notificação de doenças que o mosquito transmite (BRASIL, 2019; ZARA *et al.*, 2016; BRASIL, 2009). São utilizados diferentes mecanismos como: uso de adulticidas, larvicidas químicos, principalmente os piretróides, carbamatos e organoclorados, inseticidas biológicos, animais, eliminação dos criadouros, procedimentos moleculares e genético com o vetor, ações de educação ambiental e campanhas de conscientização da população e outras (ZARA *et al.*, 2016; BRASIL, 2009). No entanto, a eficácia é limitada em muitos métodos, principalmente pela dificuldade de acesso a criadouros crípticos, pela fraca cobertura de aplicação, pelo alto custo financeiro dos inseticidas, a crescente resistência genética dos mosquitos em decorrências das aplicações intensivas e



prolongadas de inseticida químico (ZUHARAH, 2021a; ZUHARAH, 2021b; OPAS, 2019; POSSEL, 2019).

Mediante esse cenário, e considerando: - que o mosquito *A. aegypti* é um vetor de arbovírus que causam sérios problemas de saúde pública; - que o Espinosade é um produto que vem sendo utilizado no Plano Nacional de Combate à Dengue, este estudo se propõe a responder a seguinte questão: Qual é efeito (tempo) do larvicida Espinosade, em condições de laboratório, no controle populacional do mosquito *Aedes aegypti*?

METODOLOGIA

Obtenção das larvas de A. aegypti e condições para realização do Bioensaio em laboratório

As larvas foram oriundas dos ovos produzidos na criação laboratorial de mosquitos *A. aegypti* do Laboratório de Entomologia Ecológica (LABENT-Eco) da UNOCHAPECÓ. A criação das larvas seguiu a metodologia de Silva *et al.* (1998). Para o experimento, as larvas foram criadas em recipientes de plástico de 30 cm de altura x 7 cm de comprimento, contendo 1 litro de água e tratados com 0,2g/L de ração para peixes (Ração Poytara Spirulina Black Line Pellets M@ 1,5 mm 45 g). Os testes foram realizados na sala de criação de mosquito do LABENT-Eco, onde constam todos os aparatos de biossegurança para criação e manipulação de mosquitos, como telas de proteção no ambiente, cortinas de vento em todas as portas, gaiolas próprias para a criação de mosquitos e fluxo reduzido de pessoas. O procedimento de eclosão dos ovos foi conduzido à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 12 horas.

Bioensaio da atividade larvicida em larvas de A. aegypti

Para os testes foram utilizadas larvas do terceiro instar. Os testes foram realizados em microcosmos constituídos de copos plásticos descartáveis (200 ml). Cada copo recebeu 10 larvas e 50 ml de água com o larvicida diluído, seguindo as recomendações presentes na Nota Técnica n.º 10/2021-CGAR/DEIDT/SVS/MS do Ministério da Saúde. O teste foi feito em quintuplicata. Para o controle negativo foi utilizado somente água. Todos os testes foram realizados com alimentação para as larvas e avaliados por 24 h e monitorado nas primeiras 5 horas com leituras a cada 30 minutos, de 5 h às 9 h de exposição com leituras a cada 1 h e a última após completar 24 h.



O ambiente e o microcosmo onde foram conduzidos os testes estavam aclimatados na temperatura ambiente de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%. Esses dados foram mensurados durante todo o processo, por um Termohigrômetro digital de temperatura e umidade modelo BT-3/Elitech (faixa de temperatura de -50°C a 70°C , faixa de umidade de 20% a 99% UR). O fotoperíodo foi de 12 h claro e 12 h escuro. A morte das larvas foi considerada quando não apresentavam movimentos a estímulos mecânicos.

Análise de dados

A eficiência dos tratamentos testados se deu pelo cálculo pela equação de Abbott (1925) e avaliação por análises de variância (ANOVA) seguidas de avaliação post hoc pelo teste Tukey e os valores representados pelas médias \pm desvio padrão. Os resultados em que $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos.

RESULTADOS

No controle negativo, todas as larvas estavam vivas ao fim do Bioensaio. Já as larvas que estavam em contato com o larvicida Espinosade, começaram a morrer após 1h30 de exposição (Figura 1). Também, observou-se que, após esse tempo de exposição, as larvas começaram a se movimentar de forma mais vagarosa. Após 5 horas de exposição ao larvicida os resultados em comparação ao controle negativo começaram a apresentar relevância estatística, pois o valor de p ficou $< 0,0001$ (Tabela 1). Ocorreu mortalidade (100%) das larvas de *A. aegypti* após 24 h de exposição.

Figura 1. Mortalidade de larvas de *A. aegypti* expostas ao larvicida biológico Espinosade em condições laboratoriais.

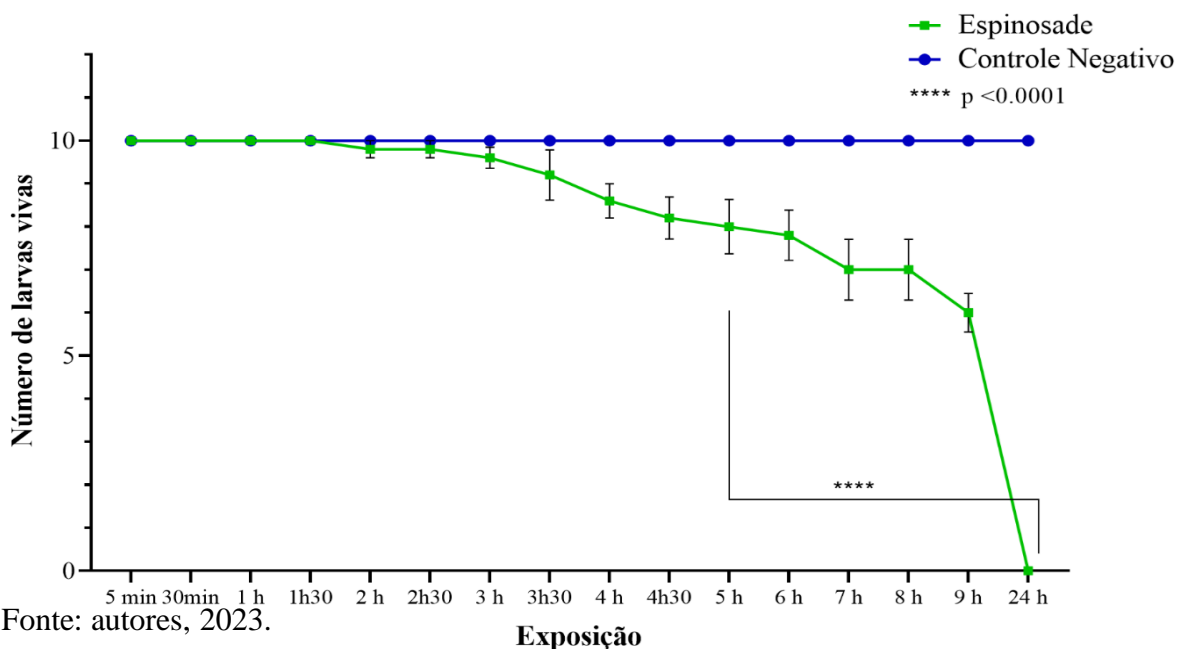


Tabela 1. Distribuição da mortalidade média de larvas expostas ao Espinosade, teste estatísticos Anova Two-way, ANOVA aliada ao teste de comparações múltiplas de Sidak, comparando a mortalidade das larvas expostas ao controle negativo e ao larvicida Espinosade.

Tempo	Diferença média	Intervalo de confiança de 95%	Significância	Valor de p ajustado
5 min	0,000	-1,261 a 1,261	Não -	>0,9999
30 min	0,000	-1,261 a 1,261	Não -	>0,9999
1 h	0,000	-1,261 a 1,261	Não -	>0,9999
1h30	0,000	-1,261 a 1,261	Não -	>0,9999
2 h	-0,2000	-1,461 a 1,061	Não -	>0,9999
2h30	-0,2000	-1,461 a 1,061	Não -	>0,9999
3 h	-0,4000	-1,661 a 0,8614	Não -	0,9988
3h30	-0,8000	-2,061 a 0,4614	Não -	0,6217
4 h	-1,400	-2,661 a -0,1386	Sim *	0,0177
4h30	-1,800	-3,061 a -0,5386	Sim ***	0,0006
5 h	-2,000	-3,261 a -0,7386	Sim ****	<0,0001
6 h	-2,200	-3,461 a -0,9386	Sim ****	<0,0001
7 h	-3,000	-4,261 a -1,739	Sim ****	<0,0001
8 h	-3,000	-4,261 a -1,739	Sim ****	<0,0001
9 h	-4,000	-5,261 a -2,739	Sim ****	<0,0001
24 h	-10,00	-11,26 a -8,739	Sim ****	<0,0001

Fonte: autores, 2023.



DISCUSSÃO

Este estudo utilizou o Espinosade como substância larvicida para determinar a relação entre a taxa de mortalidade de larvas de *A. aegypti* relacionado ao tempo de exposição ao produto. Esse é um produto biológico, diferentemente dos produtos químicos utilizados no controle do mosquito *A. aegypti*. O produto é um larvicida à base de Espinosade (Espinosina A + Espinosina D) sendo derivado da fermentação biológica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*. A formulação apresenta uma concentração 7,48% em forma de tabletes de 1,35g com duas camadas, sendo uma camada efervescente para ação imediata e outra de liberação lenta para ação residual, para o controle de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*.

O Espinosade é recomendado para controle de larvas do mosquito *A. aegypti*, pelo Programa de Pré-qualificação em Controle de Vetores da Organização Mundial de Saúde (OMS) e está registrado na ANVISA sob n.º 337270005. Também está recomendada sua aplicação em reservatórios de água de consumo humano, como, por exemplo, caixas d'água, contêineres, tanques, cisternas, etc (BRASIL, 2021). Estudos simulados de campo demonstraram sua eficácia durante pelo menos 60 dias em depósitos com troca constante de água, podendo atuar por mais tempo quando as trocas de água não são frequentes (BRASIL, 2021). Sua efetividade também foi comprovada em estudos de campo e nas aplicações em vários municípios para o controle larvário de *A. aegypti* e *Ae. albopictus*. Em relação aos efeitos toxicológicos para as espécies não alvo, há estudo que esse larvicida é tóxico para algumas espécies de abelhas polinizadoras, especialmente *Melipona quadrifasciata* ainda que em doses muito baixas, apresenta toxicidade para essas abelhas (LOPES *et al.*, 2018).

Por outro lado, o controle químico para o *A. aegypti* é efetuado com substâncias capazes de eliminar/ controlar o vetor em algum estágio da vida, são geralmente utilizados larvicidas de baixa toxicidade para humanos e demais animais (ZARA, 2016; BRASIL, 2009). Esse tipo de controle populacional é utilizado, pois oferece rapidez e facilidade para eliminar os focos do vetor. O controle químico começou a ser utilizado no século passado, e na década de 1940 o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (C₁₄H₉Cl₅) se destacou como o principal agente químico dos programas de erradicação do mosquito, realizados nas Américas (ZARA, 2016; BRASIL, 2009). A seleção de populações de mosquitos resistentes aos inseticidas resulta no aumento da frequência de aplicação de inseticida, com dosagens crescentes, rendimentos diminuídos,



causando danos ambientais e recrudescimento de doenças transmitidas pelo vetor (ZARA, 2016; BRASIL, 2009). Para o controle químico de *A. aegypti*, quatro classes principais de inseticidas são utilizadas: organoclorados, carbamatos, organofosforados e piretróides (SANTANA *et al.*, 2022).

Atualmente, o controle químico do vetor se dá principalmente nas fases larvais. De fato, as estratégias de controle vetorial são mais eficientes no estágio larval, pois se encontram mais vulneráveis (BRASIL, 2009). Contudo, o análogo de hormônio juvenil utilizado, Pyriproxyfen (BRASIL, 2009) possui maior efeito em pupas e na inibição de emergência do adulto, com a avaliação de eficácia e efetividade de persistência média em criadouros de oito semanas (FREITAS, 2018). No Brasil, como uma alternativa de diminuir o uso pyriproxyfen, o Ministério da Saúde, em nota técnica, recomenda a utilização do produto larvicida à base de Espinosade (Espinosina A + Espinosina D) um derivado da fermentação biológica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa* (BRASIL, 2021) sendo sua formulação um concentrado emulsionável. Esse larvicida é recomendado para controle de larvas do mosquito *A. aegypti*, pelo Programa de Pré-qualificação em Controle de Vetores da Organização Mundial de Saúde (OMS) (BRASIL, 2021).

O Espinosade é um composto de efeito larvicida, com modo de ação que interrompe o receptor nicotínico de acetilcolina e é eficaz contra muitas espécies de insetos (LAN *et al.*, 2021). No presente estudo foi possível determinar a relação entre a taxa de mortalidade do mosquito *Aedes aegypti* e o tempo de exposição ao larvicida, pois já há estudo demonstrando que o Espinosade é ideal para o controle do mosquito, especialmente em grandes reservatórios de água (MARINA *et al.*, 2020) A taxa e o tempo de mortalidade das larvas expostas ao larvicida, serve como parâmetro importante para determinar a criação de novas medidas para o controle populacional de vetores, diminuindo os casos notificados das arboviroses relacionadas (BOYER *et al.*, 2022). A relação entre a intensidade do efeito tóxico e a mortalidade está associada à concentração, tempo de exposição, composição química (formulação) e fatores como idade e saúde do organismo alvo (SANTANA *et al.*, 2022), neste caso, as larvas de *A. aegypti*.



CONCLUSÕES

Considerando os objetivos deste estudo, identificou-se que após 5 horas de exposição o número de larvas mortas aumentou significativamente. Estudos futuros ainda devem ser realizados para validação dos testes laboratoriais, avaliação dos efeitos em outros estágios do ciclo de vida.

PALAVRAS-CHAVE: Política pública; Febre da dengue; Arbovirose; Mosquito-da-dengue.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à UNOCHAPECÓ e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (PIBITI) pela destinação da bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALIAGA-SAMANEZ, A. *et al.* Worldwide dynamic biogeography of zoonotic and anthroponotic dengue. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 6, p. 1–30, 2021.

BOYER, S. *et al.* Monitoring insecticide resistance of adult and larval *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Phnom Penh, Cambodia. **Parasites and Vectors**, v. 15, n. 1, p. 1–7, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 9 de 2022**. Ministério da Saúde - Boletim Epidemiológico, v. 53, n. 09, p. 1–10, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito *Aedes*** (dengue, chikungunya e Zika), semanas



epidemiológicas 1 a 21, 2021. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde. v. 51, n. 24, p. 1–13, 2021a.

BRASIL. Nota Informativa, Assunto: **Alerta - Cenário Epidemiológico: Febre Amarela. Governo do Estado de Minas Gerais**, Secretaria de Estado de Saúde - Subsecretaria de Vigilância em Saúde. p. 1 - 42. 2021b.

BRASIL. **Nota Técnica Nº 10/2021-CGAR/DEIDT/SVS/MS 1**. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Coordenação-Geral de Vigilância de Arboviroses, p. 1–5, 2021.

BUSATO, M. A. *et al.* Environmental factors associated to dengue fever occurrence in the Chapecó municipality, Santa Catarina State TT. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 40, n. 2, p. 237–248, 2019.

CARVALHO, B. L. *et al.* Susceptibility of *Aedes aegypti* populations to pyriproxyfen in the federal district of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. 1–6, 2020.

CECÍLIO, S. G. *et al.* Dengue virus detection in *Aedes aegypti* larvae from southeastern Brazil. **Journal of Vector Ecology**, v. 40, n. 1, p. 71–74, 2015.

CODEÇO, C. T. *et al.* Seasonal dynamics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Northern Most state of Brazil: A likely port-of-entry for dengue virus 4. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 4, p. 614–620, 2009.

FREITAS L. Uso do pyriproxyfen em novas abordagens para controle de formas jovens e adultas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Dissertação - Mestrado em Biociências e Biotecnologia em Saúde, Instituto Aggeu Magalhães, **Fundação Oswaldo Cruz**, Recife, 2018.

KAMAL, A. S. M. M. *et al.* Relationship between Urban Environmental Components and dengue Prevalence in Dhaka city – An Approach of Spatial Analysis of Satellite Remote Sensing, Hydro-Climatic and Census dengue Data. **J. Environ. Res. Public Health** p. 1–18, 2022



LAN, J. *et al.* Identification of the *Aedes aegypti* nAChR gene family and molecular target of spinosad. **Pest Management Science**, v. 77, n. 4, p. 1633–1641, 2021.

LIU-HELMERSSON, J. *et al.* Climate change may enable *Aedes aegypti* infestation in major European cities by 2100. **Environmental Research**, v. 172, n. 2018, p. 693–699, 2019.

LOPES, M. P. Spinosad-mediated effects on the walking ability, midgut, and Malpighian tubules of Africanized honey bee workers. **Pest Management Science**, v. 74, n. 6, p. 1311–1318, 2018.

MARINA, C. F. *et al.* Comparison of novaluron, pyriproxyfen, spinosad and temephos as larvicides against *Aedes aegypti* in Chiapas, Mexico. **Salud Publica de Mexico**, v. 62, n. 4, p. 424–431, 2020.

MERÊNCIO, I.; TASCIA, F. A.; VIEIRA, C. A. O. Indicadores socioambientais de focos do *Aedes aegypti* no extremo sul de Santa Catarina. **Acta Brasiliensis**, v. 2, n. 2, p. 53, 2018.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Avaliação das estratégias inovadoras para o controle de *Aedes aegypti***: desafios para a introdução e avaliação do impacto dessas. OPAS, 2019.

POSSEL, R. D. **Atividade inseticida e repelente de plantas do cerrado no controle alternativo do mosquito *Aedes aegypti***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2019.

SALVI, F. I. *et al.* Fatores ambientais e climáticos associados à ocorrência de *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, p. 11, 2021.

SALVI, F. I. *et al.* Percepções de agentes de combate a endemias e da população quanto aos fatores que influenciam na proliferação do mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Sustinere**, v. 9, n. 1, p. 125–144, 2021.

SANTANA, E. C. *et al.* Substâncias fitoquímicas para o controle do *Aedes aegypti*: protocolo de scoping review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e39411629343, 2022.



SILVA, H. H. G.; SILVA, L. H.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**. v. 27, 1998.

ZARA, A. L. DE S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. Epidemiologia e serviços de saúde. **Revista do Sistema Único de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 2016.

ZUHARAH W. F.; YOUSAF A.; OOI, K. L.; SULAIMAN, S. F. Larvicidal activities of family Anacardiaceae on *Aedes mosquitoes* (Diptera: Culicidae) and identification of phenolic compounds. **Journal of King Saud University – Science**, 2021.

ZUHARAH, W. F.; ROHAIYU, M. D.; AZMI, A. W.; NAGAO H. Pathogenicity of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* MET-GRA4 isolate on dengue vectors, *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* mosquito larvae (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v, 24, p.4-29, 2021.