

Atividade larvicida do extrato etanólico  
bruto da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil.  
sobre *Culex quinquefasciatus* Say  
(Diptera, Culicidae)

Larvicidal activity of ethanol crude extract of  
the peel of the stem coat of *Magonia pubescens* St. Hil.  
against *Culex quinquefasciatus* Say  
(Diptera, Culicidae)

VALERIA DE OLIVEIRA MENDES ZANON<sup>1</sup>  
HELOÍSA HELENA GARCIA DA SILVA  
REGINA MARIA GERIS DOS SANTOS<sup>2</sup>  
IONIZETE GARCIA DA SILVA<sup>1,2</sup>

*Culex quinquefasciatus* Say é a espécie mais importante na transmissão da *Wuchereria bancrofti* nas áreas em que esse nematóide apresenta periodicidade noturna. Apresenta distribuição trópico-cosmopolita, sendo acentuadamente antropofílico, com comportamento altamente sinantrópico e endofílico, com hábitos hematofágicos noturnos, principalmente nas horas mais avançadas, coincidindo com o período de maior microfilaremia do helminto. Esse mosquito tornou-se o mais conhecido do ser humano, fundamentalmente por atacar e perturbar o seu repouso noturno (CONSOLIN & OLIVEIRA, 1994; FORATINI *et al.*, 2000).

No Brasil, o *Cx. quinquefasciatus* está muito bem adaptado ao meio urbano, desenvolvendo-se em criadouros naturais e artificiais, desde a água límpida até extremamente poluída, tornando-se uma

---

<sup>1</sup> Lab. Biologia, Fisiologia de Insetos e Xenodiagnóstico do Inst. Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), UFGO. <sup>2</sup> Prof. Depto Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia o IPTSP-UFGO. Endereço para correspondência: Rua Delenda Resende de Melo esq. Com a 1ª Avenida. Setor Universitário. — C.P. 131 — CEP 74605-050, Goiânia, GO. E-mail: [ionizete@iptsp.ufg.br](mailto:ionizete@iptsp.ufg.br). Auxílio FUNAPE-2005, OPAS/PEA.

praga urbana, apresentando maior densidade onde não há infraestrutura de saneamento básico. Nas áreas com focos de transmissão, vários métodos têm sido integrados para o controle do mosquito e da filariose bancroftiana, como métodos químicos, físicos e microbiológicos (SCAFF & GUEIROS, 1968; FRAIHA-NETO, 1993; CALHEIROS *et al.*, 1998; FONTES *et al.*, 1994).

A filariose bancroftiana é também conhecida por elefantíase e constitui-se num sério problema de saúde na Ásia, África e nas Américas. Nessas áreas, estima-se que cerca de 120 milhões de pessoas estejam infectadas pela *W. bancrofti*. Esse Nematoda vive nos linfonodos e vasos linfáticos, causando obstrução e extravasamento de linfa, sendo responsável pelas manifestações clínicas mais graves de membros inferiores e da bolsa escrotal com edema linfático e queratinização cutânea (WHO, 1992 e 1994).

A bancroftose no Brasil apresenta uma distribuição urbana, localizada, principalmente nas cidades litorâneas. Na década de 50, essa parasitose distribuía-se em oito estados (Alagoas, Amazonas, Bahia, Maranhão, Pará, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Santa Catarina). Após essa década, em função das medidas de controle utilizadas contra o vetor e tratamento dos microfilarêmicos, inquéritos mostram que a prevalência persiste nas regiões Norte e Nordeste, nas cidades de Belém, Maceió e Recife (FONTES *et al.*, 2005; DREYER & COELHO, 1997; ROCHA *et al.*, 2000). Os inquéritos sobre a bancroftose são localizados, por isso coloca em dúvidas as áreas consideradas atualmente indenes, nos estados do Amazonas, Bahia, Maranhão, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (VIEIRA & COELHO, 1998). Contudo estudos recentes, através do índice de infestação larvária do *C. quinquefasciatus* e pela microfilaremia sangüínea, evidenciaram situação mais problemática na cidade de Recife, com aumento da endemia (DREYER & MEDEIROS, 1990; MACIEL *et al.*, 1996 e 1999; ROCHA *et al.*, 2000, 1998; VIEIRA & COELHO, 1998).

As ações de controle do *C. quinquefasciatus* são realizadas com inseticidas químicos, microbiológicos e manejo ambiental, apenas nos focos de transmissão. Com o aparecimento da resistência do mosquito a esses produtos (FAILLOUX *et al.*, 1994; WIRTH *et al.*, 1998), o controle da bancroftose tem sido centrado no diagnóstico, tratamento de microfilarêmicos e na conscientização sanitária da

população (SCAFF & GUEIROS, 1968; DREYER & DREYER, 2000; VIEIRA & COELHO, 1998).

Inseticidas de origem botânica têm sido investigados como alternativa para controle do *C. quinquefasciatus*. Assim, CHAHAD & BOOF (1994) mostraram atividade larvicida de extratos de pimenta preta sobre o quarto estágio desse mosquito. A *Azadirachta indica* tem sido estudada por diversos autores, que demonstraram potencialidade dessa planta como larvicida para o *C. quinquefasciatus* (RAO *et al.*, 1992; SAGAR & SEHGAL, 1996; SCOTT & KAUSHIK, 1998; SU & MULLA, 1998; EL-HAG *et al.*, 1999).

Com relação a plantas do Cerrado, o primeiro trabalho mostrando potencialidade larvicida do extrato bruto etanólico da *Magonia pubescens* foi o de SILVA *et al.* (1996) trabalhando com o *Aedes aegypti* e, GUIMARÃES *et al.* (2001) realizaram bioensaios no campo com essa planta, correlacionando a atividade com o tipo de criadouro. Estudos mais detalhados da toxicidade foram feitos por SILVA *et al.* (2003) e ARRUDA *et al.* (2003a,b). Isso abriu perspectivas de estudos para o *C. quinquefasciatus*, na busca de novas alternativas para as ações de controle desse culicíneo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Coletaram-se as cascas do caule da *M. pubescens*, no município de Formosa, Goiás, que foram levadas ao laboratório de Bioatividade de Plantas do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), da Universidade Federal de Goiás (UFG), para a extração. As cascas foram colocadas em estufa com fluxo de ar forçado à 40°C, para secagem, em seguida, trituradas em moinho de facas até atingir baixa granulometria e percoladas a frio. Esse processo consistiu em colocar cerca de 800 g do pó obtido da casca do caule, num béquer com capacidade para 2000 ml, no qual adicionou-se um litro de álcool etílico absoluto e misturou-se com agitador mecânico até completa homogeneização.

Cada béquer foi coberto com papel alumínio, para evitar a evaporação do álcool e uma possível interferência da luz, permanecendo em repouso por 72 horas. O sobrenadante foi filtrado em funil de vidro com papel filtro do tipo coador de café, descartável. Após cada filtração o volume do béquer era completado com álcool

para a seguinte percolação e esse procedimento foi repetido por quatro vezes.

O filtrado foi concentrado em evaporador rotativo e o extrato obtido colocado em placas de Petri para secagem, numa capela de exaustão, em temperatura ambiente. Após a evaporação do solvente, o extrato foi transferido para frasco de vidro âmbar e armazenado em dessecador, até sua utilização nos testes.

As larvas de *C. quinquefasciatus* utilizadas nos testes foram criadas de acordo com a metodologia de SILVA *et al.* (1998), com água da rede pública de abastecimento, em câmara biológica climatizada a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade de  $80 \pm 5\%$  e fotofase aproximada de 12 horas.

Os ensaios biológicos foram realizados em outra câmara climatizada similarmente à de criação. Foram feitas quatro réplicas de cada experimento, com seus respectivos controles, com o extrato bruto etanólico (e.b.e.) da casca do caule da *M. pubescens*, para determinar as concentrações letais:  $\text{CL}_{50}$  e  $\text{CL}_{99}$ , para todos os estádios larvais de *C. quinquefasciatus*.

As soluções utilizadas para os testes, foram preparadas, pesando-se o e.b.e. da casca do caule da *M. pubescens*, em balança analítica, com a precisão de 0,0001g. Em seguida, o e.b.e. foi dissolvido em água destilada, permanecendo em repouso cerca de uma hora, para facilitar a dissolução. Posteriormente, foi homogeneizado em agitador magnético por mais ou menos 10 minutos e o volume foi ajustado com água destilada. As soluções foram preparadas 24 horas antes da realização dos testes em copos plásticos, descartáveis, com 200 ml de solução.

Foram utilizadas 20 larvas, recém eclodidas, de cada estágio para cada bioensaio e mesma quantidade para o controle. As larvas foram colocadas nas soluções com auxílio de pipetas plásticas descartáveis. O mesmo procedimento foi realizado para o controle, substituindo a solução por água destilada.

As leituras da mortalidade foram realizadas após 48 horas de exposição das larvas ao extrato, sendo consideradas mortas as larvas totalmente inertes, associado com o escurecimento do corpo e/ou da cápsula cefálica. As concentrações letais foram interpoladas pela Análise de *Probit* através do programa *Statistical Product and Service Solution* (SPSS).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das coletas feitas para iniciar a criação de *C. quinquefasciatus* observou-se uma grande variação, tanto nos tipos de criadouros quanto nas características da água, variando desde a água limpa até a extremamente poluída. Contudo, as larvas coletadas eram basicamente de criadouros com alto grau de poluição. Esse mosquito está tão adaptado a essas condições que, no laboratório, ao transferi-las para bacias com água do sistema público, ocorria grande mortalidade. O desenvolvimento do *C. quinquefasciatus* em criadouros com água poluída sinaliza como um aspecto favorável às perspectivas de uso de extrato bruto de plantas no controle. Primeiro pela possibilidade de uso do produto na fase em que ele é mais barato, levando em consideração o custo-benefício e, segundo pela tecnologia mais simples de produção, possibilitando uso mais amplo sem impacto ambiental.

Os ensaios biológicos foram realizados com larvas de todos os estádios de *C. quinquefasciatus*, com o e.b.e. da casca do caule de *M. pubescens* que, após dissolvido apresentou coloração avermelhada e formação de espuma com forte tensão superficial. O e.b.e da *M. pubescens* demonstrou atividade larvicida para todos os estádios de *C. quinquefasciatus*. As  $CL_{50}$  encontradas para larvas de 1°, 2°, 3° e 4° estádios, foram, respectivamente, de 20, 30, 40 e 60 mg para 100 ml de água destilada. As  $CL_{99}$  para os mesmos estádios foram de 80, 80, 90 e 170 mg para 100ml de água destilada, respectivamente.

Trabalhos sobre a atividade larvicida de plantas para mosquitos são bastante heterogêneos, com concentrações letais muito variadas, como mostram as citações subseqüentes. Nas Filipinas, MONZON *et al.* (1994) estudaram o extrato bruto aquoso das plantas *Lansium domesticum*, *A. indica*, *Eucaliptus globosus* e *Codiaeum variegatum*. para 3° e 4° estádios do *C. quinquefasciatus*, apresentando concentrações letais extremamente elevadas, sendo a  $CL_{90}$  de 37, 28, 35 e 24 g/100 ml de água, respectivamente. Essa concentração é cerca de mil vezes superior a  $CL_{99}$  para o 4° estágio de *C. quinquefasciatus* encontrada neste trabalho.

Os resultados das concentrações letais são apresentadas na ordem crescente dos estádios larvais de *C. quinquefasciatus* como mostra a Figura 1.

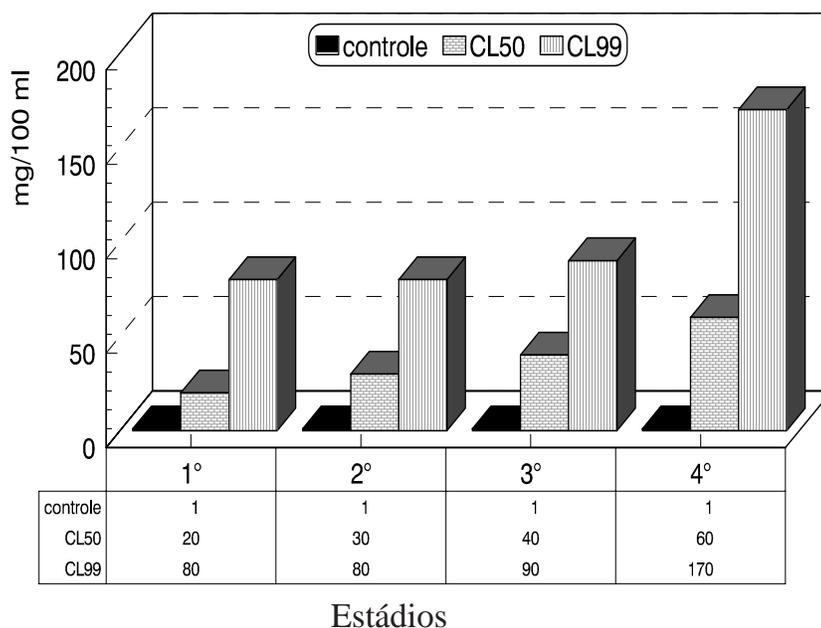


Fig. 1. Concentrações letais  $CL_{50}$  e  $CL_{99}$  do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* para todos os estádios larvais de *Culex quinquefasciatus*.

Concentrações letais inferiores às da *M. pubescens* obtidas com extrato bruto, para larvas do 4° estágio do *C. quinquefasciatus* foram obtidas por CHAHAD & BOOF (1994) com extratos de *P. nigrum*. Como esperado, essa planta também apresentou resultados inferiores aos dos princípios ativos isolados, nomilin e limonin, de uma planta da Índia, *Citrus reticulata* (JAYAPRAKASHA *et al.*, 1997); do thymol e alfa-amyrin, da planta egípcia *Thymus capitatus* (MANSOUR *et al.*, 2000), e na Tailândia, com a fração hexânica da *Kaempferia galanga* (CHOOCHOTE *et al.*, 1999).

A  $CL_{50}$  do e.b.e. da casca do caule da *M. pubescens* para o terceiro estágio do *C. quinquefasciatus*, foi 40 mg/100 ml, resultado similar aos obtidos por PIZARRO *et al.* (1999) com o extrato da *Agave sisalana*, que foi sugerida para uso no controle desse mosquito em função do tipo de criadouro e grau elevado de poluição da água onde as larvas se criam.

O e.b.e. da casca do caule da *M. pubescens* na concentração letal ( $CL_{99}$ ) de 170 mg/100 ml de água mostrou-se eficiente para

todos os estádios larvais de *C. quinquefasciatus*. Resultados similares foram encontrados por SILVA *et al.* (1996) e GUIMARÃES *et al.* (2001), que verificaram as concentrações letais do e.b.e. da casca do caule da *M. pubescens* de 140 e 150 mg/100 ml de água destilada, para *A. aegypti* e *A. albopictus*. Esses resultados indicam a possibilidade de uso integrado dessa planta para combater esses mosquitos. A atividade inseticida do princípio ativo purificado e a análise estrutural da *M. pubescens* encontram-se em andamento, pelas técnicas de cromatografia e espectrometria de massa.

### RESUMO

Foi estudada a atividade larvicida do extrato bruto etanólico (e.b.e) da casca do caule da *Magonia pubescens* St.Hil., sobre o *Culex quinquefasciatus*, na busca de novas alternativas para o controle do vetor mais importante da *Wuchereria bancrofti*. Após a coleta, as cascas foram dessecadas em estufa de ar forçado a 40°C, moídas, percoladas a frio em etanol por 72 horas, filtradas, concentradas em evaporador rotativo e os extratos secados numa capela de exaustão à temperatura ambiente. O e.b.e obtido, foi dissolvido em água destilada para a realização dos testes, com todos os estádios larvais do *C. quinquefasciatus*. Os experimentos foram realizados em copos descartáveis com 200 ml de solução, nos quais colocaram-se 20 larvas. Os mesmos procedimentos foram feitos para os controles, substituindo-se a solução por água destilada. Foram feitas 4 réplicas de cada experimento e seus respectivos controles. As observações da mortalidade foram realizadas após 48 horas de exposição das larvas à solução do extrato. Os experimentos foram realizados em câmara biológica climatizada a 28±1°C, umidade relativa de 80±5% e fotofase de aproximadamente 12 horas. O e.b.e da *M. pubescens* demonstrou atividade larvicida para todos os estádios de *C. quinquefasciatus*. As CL<sub>50</sub> encontradas para larvas de 1°, 2°, 3° e 4° estádios foram de 20, 30, 40 e 60 mg/100 ml, respectivamente. Na mesma ordem as CL<sub>99</sub> para os mesmos estádios foram de 80, 80, 90 e 170 mg/100ml de água destilada.

PALAVRAS CHAVE: *Magonia pubescens*, *Culex quinquefasciatus*, inseticida vegetal, filarióse bancroftiana .

### SUMMARY

Larvicidal activity of ethanol crude extract of the peel of the stem coat of *Magonia pubescens* St. Hil. against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, Culicidae) — Bioassays were carried out in this work to verify larvicide activity of ethanol crude extract (e.c.e.) of the peel of the stem of *Magonia pubescens* St.Hil., on *Culex quinquefasciatus*, trying to find

new alternatives to control the most important vector of the *Wuchereria bancrofti*. After being collected, the peels were desiccated in a forced air heater at 40° C, ground, percolated in room temperature in ethanol for 72 hours, filtered, concentrated in rotating evaporator and desiccated in a chapel at room temperature. The e.c.e. obtained was solved in distilled water and tested for larvae from all instars of *C. quinquefasciatus*. The experiments were carried out in plastic glasses with 200 ml of solution in each one, using 20 larvae to the test and the same number for the control. The mortality observations were made after 48 hours of exposition. The experiments were carried out in a weather controlled biological chamber at 28 ±2°C, 80 ±5 % of relative humidity and 12 hours of photoperiod. The e.c.e. of the *M. pubescens* demonstrated larvicide activity against all instars of *C. quinquefasciatus*. The LC<sub>50</sub> founded for 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> larval instars was 20, 30, 40 and 60 mg/100 ml, respectively. The LC<sub>100</sub> for the same instars was 80, 80, 90 and 170 mg/100ml of distilled water, respectively.

KEY WORDS: *Magonia pubescens*, *Culex quinquefasciatus*, botanical insecticide, bancroftian filariasis.

### RÉSUMÉ

Les qualités larvecides de l'extrait brut de l'écorce (e.b.e.) de *Magonia pubescens* St. Hil, sur le *Culex quinquefasciatus*, dans le but de trouver des nouvelles alternatives pour le contrôle du plus important vecteur de la *Wuchereria bancrofti*. Après être ramassées, les écorces ont été désséchées dans des étuves d'air porté à 40°C., broyées, macérées à froid dans de l'éthanol pendant 72 heures, filtrées e concentrées dans un évaporateur rotatif. Les extraits obtenus ont été séchés dans un cloison du genre chapelle, à une température ambiante. On a fait la dissolution de l'e.b.e. obtenu, dans de l'eau distillée, pour la réalisation des tests à tous les stades larvaires du *C. quinquefasciatus*. Les expérimentations ont été faites dans des recipientes jettables, contenant 200 ml de solution dans laquelle ont été mises 20 larves. Les mêmes procédés ont été pratiqués pour les contrôles, en substituant la solution par de l'eau distillée. Quatre (4) répétitions du procédé ont été faites, ainsi que ses respectifs contrôles. Les observations de la mortalité ont été réalisées après 48 heures d'exposition des larves à la solution de l'extrait. Les expérimentations ont été réalisées en chambres biologiques climatisées à 28°C ±1°C, à une humidité relative de 80°C ±5°C et à une photophase d'environ 12 heures. L'e.b.e. de la *Magonia pubescens* a démontré l'activité larvecide à tous les stades du *C. quinquefasciatus*. Les CL50 trouvés pour les larves du 1er au 4ème stade, ont été de 20, 30, 40 et 60 mg/100ml, respectivement. Dans le même ordre, les CL99, pour les mêmes stades, ont été de 80, 80, 90 e 170 mg/100ml d'eau distillée.

MOTS CLÉS: *Magonia pubescens*, *Culex quinquefasciatus*, insecticide végétal, filariose bancroftienne.

## BIBLIOGRAFIA

- ARRUDA, W.; OLIVEIRA G.M.C.; I.G. SILVA. 2003a. Alterações morfológicas observadas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) submetidas à ação do extrato bruto etanólico da casca do caule da *Magonia pubescens*. *Entomol. Vect.* 10: 47-60.
- Arruda, W.; G.M.C. Oliveira; I.G. Silva. 2003b. Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 36:17-25.
- CALHEIROS, C.M.L.; FONTES, G.; WILLIAMS, P.; ROCHA, E.M.M., 1998. Experimental infection of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes (Stegomyia) aegypti* with *Wuchereria bancrofti*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93: 855-860.
- CHAHAD, S. & BOOF, M.I.C., 1994. Efeitos de extratos de pimenta-preta sobre larvas de *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 23: 13-18.
- CHOOCHOTE, W.; D. KANJANAPOTHI; A. PANTHONG; T. TAESOTIKUL; A. JITPAKDI, U. CHAETHONG; B. PITASAWAT. 1999. Larvicidal, adulticidal and repellent effects of *Kaempferia galanga*. *Southeast Asian J. Trop. Med Public. Health* 30: 470-476.
- CONSOLI, R.A.G.B. & R.L. OLIVEIRA. 1994. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. 225 p.
- DREYER, G. & G. COELHO. 1997. Filariose linfática: doença potencialmente eliminável. *Cad. Saúde Pública* 13: 537-543.
- DREYER, G. & Z. MEDEIROS. 1990. Filariose linfática: ainda um desafio. *Ciência Hoje* 12: 6-7.
- DREYER, G. & P. DREYER. 2000. Bases para o tratamento da morbidade em áreas endêmicas de filariose bancroftiana. *Rev. Soc. Bras. Trop.* 33: 217-221.
- EL-HAG, E.A.; A.H. NADI; A.A. ZAITOON. 1999. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Phytother Res.* 13: 388-392.
- FAILLOUX, A.B.; U.N.G. ANDRÉ; M. RAYMOND; N. PASTEUR. 1994. Insecticide Susceptibility in Mosquitoes (Diptera: Culicidae) from French Polynesia. *Entomol. Soc. America* 31:639-644.
- FONTES, G.; R.F. BRAUM; A. FRAIA NETO; J.B.F. VIEIRA; S.S. PADILHA; R.C. ROCHA; E.M.M. ROCHA. 2005. Filariose linfática em Belém, Estado do Pará, Norte do Brasil e perspectiva de eliminação. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38:131-136.

- FONTES, G.; A.C. BRITO; C.M.L. CALHEIROS; C.M.F. ANTUNES; E.M.M. ROCHA. 1994. Situação atual da Filariose Bancroftiana na cidade de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil. *Cad. Saúde Públ.* 10: 293-300.
- FORATTINI, O.P.; I. KAKITANI; R.C. SANTOS; K.M. KOBAYASHI; H.M. UENO; Z. FERNANDÉZ. 2000. Potencial sinantrópico de mosquitos *Kerteszia* e *Culex* (Diptera: Culicidae) no Sudeste do Brasil. *Rev. Saúde Pública* 34: 565-569.
- FRAIHA-NETO, H., 1993. Bancroftian filariasis in Belém, Pará. Possibilidades atuais de erradicação mediante a integração à campanha de novos métodos de controle da população de *Culex quinquefasciatus*. *Cad. Saúde Pública* 9: 458-465.
- GUIMARÃES, V.P.; I.G. SILVA; H.H.G. SILVA; C. ROCHA. 2001. Atividade larvicida do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre o *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae). *Rev. Patol. Trop.* 30: 243-249.
- JAYAPRAKASHA, G.K.; R.P. SINGH; J. PEREIRA; K.K. SAKARIAH. 1997. Limonoids from *Citrus reticulata* and their moult inhibiting activity in mosquito *Culex quinquefasciatus* larvae. *Phytochemistry* 44: 843-846.
- MACIEL, A.; A.F. FURTADO; K.B.F. MARZOCHI. 1999. Perspectiva da municipalização do controle da filariose linfática na região metropolitana do Recife. *Cad. Saúde Pública*, 15 (1): 195-203.
- MACIEL, A.R.A.; K.B. MARZOCHI; Z. MEDEIROS; A.B. CARVALHO; L. REGIS; W. SOUZA; T. LAPA; A. FURTADO. 1996. Epidemiological study of bancroftian filariasis in Recife. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91 (4): 449-455.
- MANSOUR, S.A.; MESSEHA, S.S.; EL- GENGAHI, S.E. 2000. Botanical biocides. 4. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. *J. Nat. Toxins* 9: 49-62.
- MONZON, R.B.; L.L.C. LUCSON; A.S. MORALES; F.E.S. MUTUC. 1994. Larvicidal potencial of five phiippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Southteast Asian J. Trop. Med. Public Health* 25: 755-759.
- PIZZARRO, A.P.; A.M. OLIVEIRA-FILHO; J.P. PARENTE; M.T. MELO; C.E. SANTOS; P.R. LIMA. 1999. Utilization of the waste of sisal industry in control of mosquito larvae. *Rev Soc Bras. Med. Trop.* 32: 23-9.
- RAO, D.R.; R. REUBEN; M.S. VENUGOPAL; B.A. NAGASAMPAGI; H. SCHMUTTERER. 1992. Evaluation of neem, *Azadirachta indica*, with and with and without water management, for the control of culicine mosquito larvae in rice-fields. *Med. Vet. Entomol.* 6: 318-324.
- ROCHA, E.M.M.; G. FONTES; A.C. BRITO; T.R.C. SILVA; Z. MEDEIROS; C.M.F. ANTUNES. 2000. Filariose bancroftiana em área urbanas do Estado de Alagoas, nordeste do Brasil; estudo em população geral. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 33 (6): 545-551.

- SAGAR, S.K. & S.S. SEHGAL. 1996. Effects of aqueous extract of deoiled neem (*Azadirachta Indica* A. juss) seed Kernel and Karanja (*Pongamia Glabra* vent) seed Kernel against *Culex quinquefasciatus*. *J. Commun Dis.* 28: 260-269.
- SU, T. & M.S. MULLA. 1998. Ovicidal activity of neem products (azadirachtin) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera Culicidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 14: 204-209.
- SCAFF, L.M. & Z.M. GUEIROS 1968. Erradicação da filariose. Endemias Rurais. *Rev. Bras. Malariol. e Doenças Trop.* 21: 604-613.
- SCOTT, I.M. & N.K. KAUSHIK. 1998. The toxicity of Margosan-O, a product of neem seeds, to selected target and nontarget aquatic invertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35: 426-431.
- SILVA, H.H.G.; I.G. SILVA; K.S. LIRA. 1998. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. *Rev Pat Trop* 27: 51-63.
- SILVA, I.G.; A.H. SANTOS; P.H. FERRI; F.B.N. ALVES; R.Q. MELO; L. PEIXOTO; H.H.G. SILVA; C.N. ELIAS; E. ISAC; K.S. LIRA; M.F. CAMARGO. 1996. Ação larvicida de extrato bruto etanólico de *Magonia pubescens* St. Hil (tingui-do-Cerrado), sobre o *Aedes aegypti* (Lin.) em laboratório. *Rev. Pat. Trop.* 25: 51-59.
- SILVA, I.G.; V.P. GUIMARÃES, C.G. LIMA; H.H.G. SILVA; C.N. ELIAS; C.M. MADY; V.V.M. SILVA; A.P. NERY; K.R. ROCHA; C. ROCHA; E. ISAC. 2003. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico de *Magonia pubescens* St. Hil, sobre o *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) em criadouros artificiais. *Rev. Pat. Trop.* 32: 73-86.
- VIEIRA, J.B.F. & G.E. COELHO. 1998. Filariose; aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 31 (2): 79-83.
- WIRTH, M.C.; A. DELÉCLUSE; B.A. FEDERICI; W.E. WALTON. 1998. Variable cross-resistance to Cry 11B from *Bacillus thuringiensis* subsp. *jegathesan* in *Culex quinquefasciatus* (Diptera; Culicidae) Resistant to single or multiple toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Envir. Microbiol.* 64: 4174-4179.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1992. Lymphatic filariasis: the disease and its control. Fifth report of the expert committee on filariasis. WHO Technical Report Series 821: 1-71.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1994. Strategies for control of lymphatic filariasis infection and disease: Report of a CTC/TDR/FIL/PENANG/94.1.