

Orientações para vigilância de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* e teste de resistência a inseticidas nos Estados Unidos

Versão 2, 9/11/16

Índice

Público-alvo.....	1
Parte 1: Orientações para a condução de vigilância e para o relatório de presença, ausência e abundância relativa de <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i>	1
Histórico	1
Objetivos de vigilância	2
Recomendações de vigilância do CDC.....	2
Relatório ao CDC	5
Uso dos dados informados ao CDC.....	5
Referências	5
Parte 2: Teste de resistência a inseticidas para mosquitos vetores conhecidos dos vírus zika, dengue e chikungunya	6
Histórico	6
Objetivos dos testes.....	6
Recomendações de teste do CDC.....	6
Relatório ao CDC	8
Uso dos dados informados ao CDC.....	8
Adendo 1: Visão geral do algoritmo de teste de resistência a inseticidas	8
Adendo 2: Histórico estendido sobre resistência a inseticidas	8
Referências	9

Público-alvo

Estas orientações de vigilância foram desenvolvidas para os departamentos de saúde locais, estaduais e territoriais e para as cidades nos Estados Unidos que recebem financiamento do acordo de cooperação Epidemiology and Laboratory Capacity.

Parte 1: Orientações para a condução de vigilância e para o relatório de presença, ausência e abundância relativa de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*

Histórico

O *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*, vetores conhecidos dos vírus zika, dengue e chikungunya, estão presentes em partes dos Estados Unidos. Eles são os únicos membros conhecidos do subgênero *Stegomyia* do *Aedes*, os vetores mais importantes desses vírus, com ocorrência documentada no território contíguo dos Estados Unidos. Os mapas no site do CDC (<http://www.cdc.gov/zika/vector/range.html>) mostram as áreas onde a ocorrência desses mosquitos é conhecida ou suspeita. O *Ae. aegypti* é mais comum nos estados mais quentes do sul. O *Ae. albopictus* ocorre em uma área mais ampla e pode



estender-se para climas mais temperados. No entanto, ambas as espécies podem ser introduzidas sazonalmente em áreas com climas onde não é provável que a hibernação seja possível. Essas introduções podem iniciar e manter a transmissão local temporária de arbovírus durante o período quente do ano.

Objetivos de vigilância

- Melhorar o conhecimento da distribuição e da abundância local de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* nos Estados Unidos.
- Produzir e divulgar publicamente mapas da distribuição dos mosquitos atualizados regularmente.

Estas informações devem ser usadas para orientar as atividades de vigilância e controle de vetores que têm como alvo arboviroses transmitidas pelos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* no território contíguo dos Estados Unidos.

Recomendações de vigilância

- A) A vigilância deve ser conduzida em todos os condados onde *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* têm probabilidade de serem encontrados. A maior quantidade de locais possíveis deve ser monitorada nesses condados (especialmente cidades). A inclusão de mais locais no programa de vigilância aumentará as chances de detecção desses mosquitos, se estiverem presentes, fornecendo as informações necessárias para o desenvolvimento de mapas com distribuição precisa. Resultados negativos da vigilância são informações importantes, e as informações desses resultados negativos ao CDC são extremamente incentivadas, mas podem não fornecer uma evidência definitiva da ausência dessas espécies em um condado.
- B) O *Ae. aegypti* está adaptado a habitações humanas; é menos provável encontrá-lo em áreas rurais, parques ou outras áreas abertas ou pouco povoadas. O *Ae. albopictus* pode ser encontrado em uma ampla variedade de habitats, inclusive zonas arborizadas, florestais e rurais longe dos centros populacionais, bem como habitações humanas. Os melhores locais para vigilância do *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são:
- Centros urbanos/suburbanos densamente povoados
 - Lixões de pneus, depósitos de lixo, ferros-velhos e cemitérios
 - Cidades portuárias, cidades às margens de rios e cidades com alto tráfego comercial
 - Áreas urbanas históricas, que têm muitos locais subterrâneos de hibernação.
- C) O uso de um número maior de armadilhas por local de vigilância aumenta as chances de detecção do *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Devem ser aplicados métodos para o levantamento de populações de mosquitos adultos, de mosquitos em estágios imaturos e de ovos do mosquito. Dentre os métodos disponíveis, o mais econômico é a amostragem de recipientes e a distribuição de copos de coleta de óvulos. As armadilhas que coletam adultos são relativamente caras e sua utilidade pode variar de região para região; por exemplo, há relatos de que as armadilhas luminosas do deserto do Sudoeste são eficientes na coleta de amostras de *Ae. aegypti* (Monaghan et al. 2016). Detalhes específicos da coleta podem ser modificados com base na experiência profissional local com as espécies de mosquitos que se tem como alvo, mas a coleta deve ser sistemática.

- *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* adultos podem ser coletados com uso da
 - i. **BG-Sentinel Trap®** (<http://www.bg-sentinel.com/>). Essa armadilha tem como alvo mosquitos fêmeas que buscam alimentar-se de sangue. Ela pode ser usada com uma isca patenteada (BG-Lure®). Assim como as armadilhas BG-Sentinel, as armadilhas luminosas têm como alvo mosquitos fêmeas que buscam alimentar-se de sangue. Há relatos de que as armadilhas luminosas foram eficazes no Sudoeste árido, mas menos eficazes em outros lugares. A abundância relativa pode ser informada como o número de mosquitos coletados por armadilha por dia.
 - ii. **Ovitampa de fêmea grávida infiltrada (autocidal - AGO)** (<https://springstar.net/store/>). Essa armadilha tem como alvo mosquitos fêmeas grávidas. As fêmeas que põem ovos ficam presas no adesivo sobre o substrato de oviposição. A abundância relativa pode ser informada como o número de mosquitos coletados por armadilha por dia.
 - iii. **Coletas mecânicas com aspiradores.** Aspiradores portáteis ou do tipo mochila podem ser usados para coletar amostras de mosquitos em ambientes internos e externos. Em ambientes externos, esses mosquitos costumam ficar sob a vegetação ou em cantos cobertos; em ambientes internos, eles são frequentemente encontrados em armários e outros lugares escuros e tranquilos. A abundância relativa pode ser informada como o número de mosquitos coletados por unidade de tempo de amostragem ativa; por exemplo, o número de mosquitos coletados em um local ao longo de 15 minutos.
- As amostras de mosquitos no estágio imaturo são coletadas por meio de exame de recipientes com água em busca de larvas e pupas. Devido à grande variedade de recipientes com água em que os mosquitos podem ser encontrados, não há um equipamento de amostragem padrão para os estágios imaturos. Quando possível, todo o conteúdo de água deve ser esvaziado em uma bandeja ou panela, e os mosquitos em estágio imaturo devem ser recolhidos com um conta-gotas. É possível coletar amostras de recipientes maiores com o uso de conchas ou de utensílios de tamanhos variados (por exemplo, seringas de cozinha, pipetas ou conchas). Todo o conteúdo pode ser derramado em peneiras para separar os mosquitos em estágio imaturo. O objetivo é coletar uma amostra representativa; quanto maior for o número de locais inspecionados, mais representativa será a amostra.

Com a experiência, as larvas no terceiro e quarto instares podem ser identificadas com uso de um microscópio (Farajollahi e Price 2013), mas o meio mais fácil, embora mais lento, de identificação dos estágios imaturos é criá-las até que cheguem à fase adulta. Deve-se tomar cuidado para garantir que os dados sobre locais de coleta originais não sejam perdidos no processo de criação.

A partir dos dados coletados, os índices de larvas e pupas são calculados. Entre os índices comumente usados estão o Índice de casa (HI), o Índice de recipiente (CI), o Índice de Breteau (IB) e levantamentos de pupas para estimar o número de pupas por casa, por pessoa ou por hectare. Outras descrições desses índices podem ser encontradas em <https://www.cdc.gov/chikungunya/resources/vector-control.html>.

- A amostragem de ovos é conduzida com uso de ovitampas. As ovitampas são pequenos recipientes pretos feitos de vidro ou plástico, que contêm água ou infusão de feno e um

substrato (tipicamente uma tira de papel, como filtro de café ou papel para germinação) em que as fêmeas põem seus ovos. As ovitrampas são simples, baratas e fáceis de instalar. CDC usa copos de suvenir de plástico preto de 22 onças (produto MTC22T da giacona.com) e Anchor Paper (<http://www.anchorpaper.com/index.php/seed-solutions/germination-papers/#heavyweightpaper>, produto SD 7606) como substratos de oviposição. O Anchor Paper é cortado em pedaços de 10x3 polegadas que são colocados dentro dos copos. Os ovos devem ser criados em laboratório e identificados quanto à espécie quando adultos para assegurar a identificação definitiva das espécies. Os dados devem ser informados como número de ovos por armadilha por dia. Mais informações podem ser encontradas em <https://www.cdc.gov/chikungunya/resources/vector-control.html>.

- Alguns departamentos de saúde estaduais e de condados e distritos de redução de mosquitos já estão usando armadilhas luminosas e armadilhas do CDC para fêmeas grávidas para o levantamento dos vetores *Culex* do vírus do Nilo Ocidental. A instalação de armadilhas específicas para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* em algum desses locais, caso incluam ambientes de coleta adequados, pode reduzir o tempo e o esforço de amostragem. Para evitar a interferência entre os tipos de armadilhas
 - Em locais onde as armadilhas luminosas estiverem em uso, somente ovitrampas e armadilhas AGO devem ser instaladas.
 - Em locais onde as armadilhas do CDC para fêmeas grávidas estão instaladas, devem ser usadas apenas armadilhas BG Sentinel.

- D) A vigilância deve começar quando as temperaturas máximas externas durante o dia atingirem consistentemente 50 °F (10 °C) e deve continuar enquanto se mantiverem essas temperaturas. As armadilhas BG-Sentinel devem ser verificadas diariamente; as armadilhas AGO devem ser verificadas uma ou duas vezes por semana, e as ovitrampas, pelo menos a cada 3 dias. Recomenda-se a coleta de amostras vários dias por semana a fim de compensar as variações climáticas que podem afetar a eficiência da amostragem. Em áreas com atividade sazonal de mosquitos, a vigilância pode ser interrompida quando as temperaturas externas máximas durante o dia ficarem consistentemente abaixo de 50 °F ou após a primeira geada. Para áreas onde a temperatura externa máxima durante o dia não fica abaixo de 50 °F, a vigilância deve ser realizada durante todo o ano. Os mesmos locais para armadilhas devem, na medida do possível, ser utilizados durante toda a estação e de um ano para o outro, a fim de proporcionar uma base para comparação ao longo do tempo. Pode ser necessário mover as armadilhas ou aumentar o número de armadilhas utilizadas em setores onde está ocorrendo um surto ou onde os esforços de controle devem ser monitorados.

- E) Registro de dados. Registros precisos são essenciais. Um único número de identificação deve ser atribuído a cada coleta. Além disso, as seguintes informações mínimas devem ser registradas:
 - Local da coleta
 - i. Cidade e condado
 - ii. Bairro/endereço
 - iii. Coordenadas GPS
 - Tipo de habitat
 - Fase de vida sob análise
 - Método de coleta
 - Data da coleta
 - A presença de ovos, larvas e pupas do *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus*
 - Número de *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* adultos, separados por sexo.

Relatório ao CDC

O CDC lançou o portal on-line MosquitoNET para coletar dados sobre a presença e a abundância de mosquitos, e para testes de resistência a inseticidas. O portal MosquitoNET pode ser acessado pelo site <http://www.cdc.gov/zika/vector/for-professionals.html>. É necessário fazer a configuração inicial de uma conta de usuário e executar um relatório mensal de dados.

Uso dos dados informados ao CDC

Os dados serão usados para atualizar regularmente os mapas de distribuição dos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* nos Estados Unidos. Os mapas serão publicados em um site do CDC disponível para o público em geral. Os dados serão usados para orientar esforços de vigilância e controle atuais contra o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e seus arbovírus associados.

Em caso de outras dúvidas sobre a vigilância de mosquitos, entre em contato com:
CDCMosqSurveillance@cdc.gov

Referências

Surveillance and Control of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the United States
<http://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/surveillance-and-control-of-aedes-aegypti-and-aedes-albopictus-us.pdf>

Daytime Traps for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*.
<http://johnwhock.com/products/mosquito-sandfly-traps/>

The BG-Sentinel: Biogents' mosquito trap for researchers. <http://www.bg-sentinel.com/>.

Ary Farajollahi e Dana C Price. 2013. A rapid identification guide for larvae of the most common North American container-inhabiting *Aedes* species of medical importance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 29: 203-221.

Andrew J Mackay, Manuel Amador e Roberto Barrera. 2013. An improved autocidal gravid ovitrap for the control and surveillance of *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors.* 6:225.

Andrew J Monaghan, Cory W Morin, Daniel F Steinhoff, Olga Wilhelmi, Mary Hayden, Dale A Quattrochi, Michael Reiskind, Alun L Lloyd, Kirk Smith, Chris A Schmidt, Paige E Scalf e Kacey Ernst. 2016. On the seasonal occurrence and abundance of the Zika virus vector mosquito *Aedes aegypti* in the contiguous United States. *PLoS Currents Outbreaks*: doi: 10.1371/currents.outbreaks.50dfc7f46798675fc63e7d7da563da76.

M. M.W. Service. 1995. *Mosquito Ecology Field Sampling Methods*. Chapman and Hall London.

Parte 2: Teste de resistência a inseticidas para mosquito vetores conhecidos dos vírus zika, dengue e chikungunya

Histórico

Os inseticidas para controlar as fases larval e adulta do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus* são importantes componentes de um programa integrado de gestão de mosquitos (IMM). Com o uso frequente, é possível que se desenvolva a resistência a inseticidas (IR), especialmente com inseticidas utilizados para o controle de adultos. Testes de resistência sistemáticos são uma ferramenta importante para escolher os tipos de inseticidas que serão mais eficazes. Testes de resistência a inseticidas recentes para *Ae. aegypti* em Porto Rico são um excelente exemplo de como dados gerados sistematicamente sobre os padrões espaciais de resistência a inseticidas específicos podem ser exibidos como mapas (<http://www.cdc.gov/zika/vector/insecticideresistancetesting.html>) e usados para orientar esforços de controle emergencial.

Objetivos dos testes

Melhor capacitar os programas locais, estaduais e nacionais para uma resposta eficaz às epidemias dos vírus zika, chikungunya e da dengue por meio do controle dos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Outro objetivo é adquirir maior conhecimento sobre a evolução dos padrões geográficos de resistência a inseticidas e elaborar programas de gestão.

Recomendações de teste do CDC

A) Estratégia de teste

- Os testes de populações de mosquitos devem ocorrer pelo menos uma vez ao ano, a fim de monitorar mudanças na suscetibilidade a inseticidas.
- Os testes devem ser realizados antes da seleção dos produtos inseticidas a serem utilizados na próxima temporada de mosquitos.
- Os testes devem ser realizados em todos os municípios onde se realiza o controle de mosquitos.
- É importante determinar quais inseticidas de saúde pública foram utilizados em cada área durante os últimos 5 anos. Testes com uso de ingredientes ativos de grau técnico devem ser conduzidos para todos os adulticidas que estão em uso ou foram usados recentemente no local. Em algumas áreas, os efeitos secundários de inseticidas agrícolas podem contribuir para a resistência. Também é útil testar ingredientes ativos não utilizados atualmente, mas que estão comercialmente disponíveis, para estar preparado em caso de necessidade de um inseticida alternativo. Os ingredientes ativos adulticidas atualmente registrados para uso nos Estados Unidos são: malation, naled, clorpirifós, permetrina, sumitrina (d-fenotrina), praletrina, deltametrina, etofenproxi e piretrinas.
- A fim de assegurar que a resistência local não se desenvolveu nos mosquitos devido ao uso de pesticidas para fins diferentes do controle de mosquitos, uma avaliação rápida de resistência deve ser realizada antes do uso emergencial de adulticidas, mesmo em áreas onde não foi realizado controle de mosquitos nos últimos 5 anos.

B) Métodos de teste

- O [bioensaio com frascos do CDC](http://www.cdc.gov/parasites/education_training/lab/bottlebioassay.html) (http://www.cdc.gov/parasites/education_training/lab/bottlebioassay.html) deve ser usado para os testes.

- O principal objetivo é determinar a suscetibilidade local do *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* às principais classes de inseticidas. Até 2017, também se deve ter como objetivo o estabelecimento de mecanismos de resistência (<http://www.iraconline.org/about/resistance/mechanisms/>). O conhecimento dos mecanismos de resistência pode orientar com mais precisão a escolha de produtos químicos alternativos.
- Os mecanismos de resistência podem ser determinados utilizando uma variedade de ensaios. No mínimo, o bioensaio com frascos do CDC pode ser utilizado para avaliar os mecanismos de resistência por meio da adição de inibidores de enzimas para as 3 categorias de enzimas metabólicas que podem ser sobre-expressas, resultando em resistência. Esses inibidores neutralizam a sobre-expressão de enzimas e podem ser usados para determinar que classe de enzima é responsável pela resistência observada (ver: [using these inhibitors](http://www.cdc.gov/parasites/education_training/lab/bottlebioassay.html) [http://www.cdc.gov/parasites/education_training/lab/bottlebioassay.html]). Testes adicionais para medir a expressão de enzimas de resistência (ensaios de microplaca) e testes moleculares também podem ser realizados (McAllister et al. 2012, Scott and McAllister 2012).

C) Notas gerais sobre os mosquitos usados para teste

- Cerca de 125 mosquitos por produto químico por local são necessários para a realização de um teste. Os resultados serão mais precisos se adultos coletados no mesmo dia e no mesmo local forem utilizados. Em função de sua relativa escassez, isto pode não ser prático em todos os casos.
- O agrupamento dos mosquitos de teste de uma grande área geográfica deve ser evitado sempre que possível, pois os resultados em geral para a área maior podem mascarar a resistência local aos inseticidas.
- Se necessário, as fêmeas coletadas em campo que foram capazes de por ovos no laboratório podem ser usadas para gerar mosquitos para testes. Os testes de resistência a inseticidas devem ser realizados com a ninhada de primeira geração, pois a sucessiva alimentação dos mosquitos com sangue para gerar amostras numerosas para os testes pode mascarar ou superestimar o nível de resistência em uma população.
- Os mosquitos usados para os testes devem ser coletados na mesma localidade a cada ano.

Notas específicas sobre a coleta de mosquitos para teste

- Os mosquitos podem ser obtidos como parte das atividades de vigilância de rotina, pela instalação de armadilhas adicionais em locais de vigilância existentes (ver Parte 1).
- A armadilha BG Sentinel ou ovitrampas podem ser usadas para coletar amostras vivas de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Isso pode resultar na coleta de uma mistura de espécies de mosquito, e será necessário algum esforço para separar as espécies para teste.
- Os mosquitos adultos coletados em armadilhas devem ter um tempo de recuperação de 12 a 24 horas antes do teste para permitir que morram os feridos, por exemplo, por pás de ventilador, ao serem capturados.

D) As seguintes informações sobre os mosquitos utilizados devem ser registradas:

- Número de identificação da coleta
- Local ou locais de origem da amostra
 - i. Cidade e condado
 - ii. Bairro/endereço
 - iii. Coordenadas GPS
- Data da coleta
- Ciclo de vida coletado
- Espécies e geração que estão sendo testadas.

E) As seguintes informações do ensaio com frascos devem ser registradas para relatório ao CDC:

- Ingrediente ativo e, se utilizado, inibidor
- Concentrações (µg/frasco)
- Tempo entre a preparação do frasco e testes
- Número de mosquitos testados
- Tempo do diagnóstico e tempo total do teste
- Percentual de mortalidade no momento do diagnóstico e, se aplicável, no final do teste
- Tempo em que 100% de mortalidade foi atingida

Relatório ao CDC

O CDC lançou o portal on-line MosquitoNET para coletar dados sobre a presença e a abundância de mosquitos, e para testes de resistência a inseticidas. O portal MosquitoNET pode ser acessado pelo site: <http://www.cdc.gov/zika/vector/for-professionals.html>. É necessário fazer a configuração inicial de uma conta de usuário e executar um relatório mensal de dados.

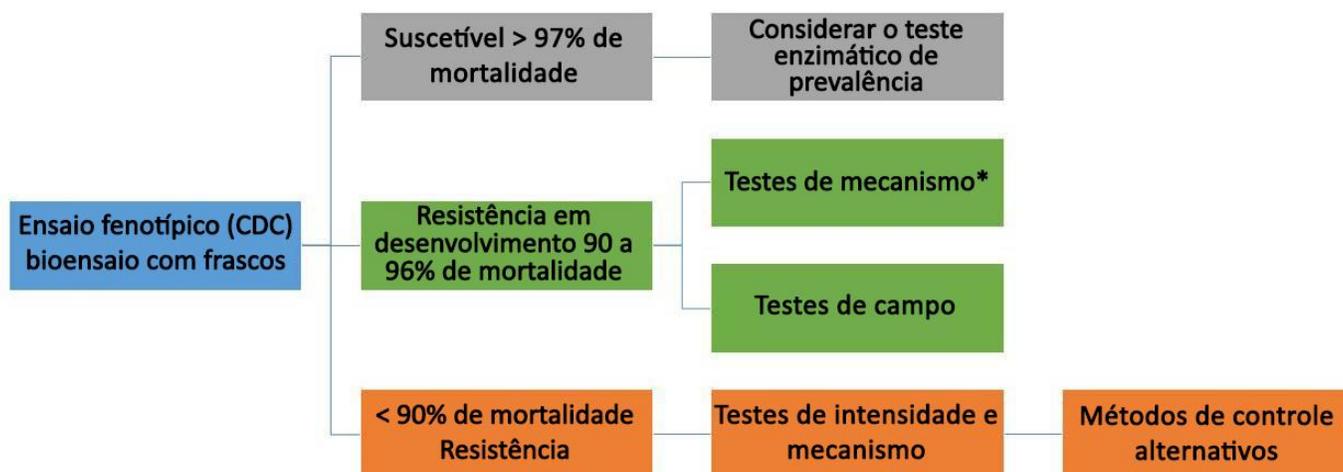
Uso dos dados informados ao CDC

Os dados serão usados para desenvolver e atualizar regularmente os mapas de resistência a inseticidas em *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* nos Estados Unidos. Os mapas serão publicados em um site do CDC (em desenvolvimento) disponível para o público em geral. Os dados serão usados para orientar a escolha de inseticidas para os esforços de controle emergencial contra *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* e seus arbovírus associados e para informar o planejamento da gestão de resistência a inseticidas.

Em caso de outras dúvidas sobre resistência a inseticidas, entre em contato com:

CDCInsectResistance@cdc.gov

Adendo 1: Visão geral do algoritmo de teste de resistência a inseticidas



*Opções de teste de mecanismo: enzimas, ensaios moleculares, bioensaio com frascos com inibidores

Adendo 2: Histórico estendido sobre resistência a inseticidas

Com o uso de inseticidas, aparece a possibilidade de desenvolvimento de resistência a inseticidas (IR), especialmente no caso dos inseticidas utilizados no controle de adultos. Atualmente, duas classes de

inseticidas são usadas em mosquitos adultos: organofosforados e piretroides. Essas duas classes também são usadas para a agricultura, para o controle de pragas urbanas, em residências e no controle de mosquitos há mais de 40 anos. Se inseticidas são usados em um programa, testes de rotina para IR também devem ser realizados a fim de assegurar o uso de um produto eficaz.

A IR é uma alteração genética em resposta à seleção por substâncias tóxicas que podem prejudicar o controle no campo. (Sawicki, 1987). Esta definição permite reconhecer o desenvolvimento de resistência e alterar as técnicas de controle a fim de mitigá-la antes que a utilização de uma substância química específica seja perdida. A maneira mais direta de testar a IR é a realização de um ensaio fenotípico, conhecido como bioensaio com frascos do CDC (Brogdon e McAllister, 1998), que mede o tempo necessário para que um inseticida chegue ao local-alvo e aja sobre o local. Um local-alvo é o tecido com o qual o inseticida interage para causar mortalidade. Há outras maneiras menos diretas de medir a resistência, incluindo a avaliação de mudanças relativas nas doses necessárias para matar 50% de uma população (às vezes de difícil interpretação) ou a comparação das respostas de colônias sensíveis em cativeiro e de mosquitos coletados em campo (muito trabalhosa e depende de rigorosas condições ambientais que não se pode controlar). Além disso, ambos os testes exigem um número relativamente grande de mosquitos, em comparação com o bioensaio com frascos do CDC. Por estas razões, o bioensaio com frascos do CDC é o método preferido para a realização de testes de resistência a inseticidas.

Referências

Brogdon, W.G. and J.C. McAllister. 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 14(2):159-164.

McAllister, J.C., M.S. Godsey, M.L. Scott. 2012. Pyrethroid resistance in and *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Port-au-Prince, Haiti, *J. Vector Ecol.* 37(2):325-332.

Sawicki, R.M. 1987. Definition, detection and documentation of insecticide resistance. In "Combating Resistance to Xenobiotics; Biological and Chemical Approaches". M.G. Ford, D.W. Holloman, B.P.S. Khambay and R.M Sawicki, Eds. Pp.105-117. Ellis Horwood, Chichester, UK.

Scott, M.L. and J.C. McAllister. 2012. Comparison of biochemical and molecular tests for detecting insecticide resistance due to insensitive acetylcholinesterase in *Culex quinquefasciatus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 28(4):323-326.

Idioma inglês, versão acessível:

<http://www.cdc.gov/zika/pdfs/guidelines-for-aedes-surveillance-and-insecticide-resistance-testing.pdf>