

Efeito do tratamento com diflubenzuron na hematologia de jundiás, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) infestados por *Lernaea cyprinacea* (Copepoda) em banhos de imersão de 24 horas

Rodrigo Gasparoto Mabilia* e Silvia Maria Guimarães de Souza

Setor de Aquicultura, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Autor para correspondência. e-mail: rgmabilia@hotmail.com

RESUMO. Na aquicultura brasileira, formulações à base de diflubenzuron para uso agrícola são utilizadas indiscriminadamente no controle de ectoparasitas de peixes. Na ausência de formulações para uso em peixes cultivados, surgem protocolos terapêuticos repletos de incertezas quanto à sua eficácia, impacto ambiental e perfil hematológico dos peixes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do diflubenzuron sobre os seguintes parâmetros hematológicos de jundiás (*Rhamdia quelen*) infestados por *Lernaea cyprinacea*: número total de eritrócitos, número total de leucócitos, hematócrito e contagem diferencial de leucócitos. Jundiás divididos em 4 grupos foram expostos a banhos de imersão de 24 horas com diflubenzuron nas concentrações: 0,0 mg.L⁻¹, 0,01 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹ e 1,0 mg.L⁻¹. Essas concentrações não apresentaram diferenças significativas na hematologia (teste Tukey p<0,05). Novos trabalhos devem pesquisar o efeito do diflubenzuron sobre em períodos de exposição prolongados, para verificar a existência de efeito crônico atribuído ao princípio ativo.

Palavras-chave: aquicultura, diflubenzuron, *Lernaea cyprinacea*, jundiá, hematologia.

ABSTRACT. Effect of the treatment with diflubenzuron in the hematology of Jundiás *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) infected by *Lernaea cyprinacea* (Copepoda) in 24-hour immersion baths. There are no specific formulations of diflubenzuron for the treatment of ectoparasites in freshwater fishes. Many therapeutics protocols of untested efficacy, environmental impact and unknown hematological effects have been introduced in Brazilian aquaculture. The aim of this study was evaluate the diflubenzuron effect on the hematological parameters (total number of erythrocytes, hematocrit, total number of leucocytes and differential count of leucocytes) of "Jundias" (*Rhamdia quelen*) infected by *Lernaea cyprinacea*. Four groups of jundias were exposed to a 24 hour immersion bath containing diflubenzuron in concentrations: 0.0 mg.L⁻¹, 0.01 mg.L⁻¹, 0.1 mg.L⁻¹ and 1.0 mg.L⁻¹. These concentrations of diflubenzuron did not show any significant difference in the basal parameters of hematology (Tukey test p<0.05) of Jundias. More studies about the effect of diflubenzuron on the hematology of infected fishes exposed to a long period of treatment are needed to test chronic effects.

Key words: aquaculture, diflubenzuron, *Lernaea cyprinacea*, jundia, haematology.

Introdução

O uso indiscriminado de fármacos na aquicultura, para tratamento de enfermidades, é uma realidade preocupante. Sabe-se que na piscicultura brasileira é comum a prática de utilização de produtos, como organofosforados, avermectinas e diflubenzuron no combate às ectoparasitoses. Dados levantados em pisciculturas do Rio Grande do Sul indicam que o percentual de uso destes produtos no tratamento da lerneose é de 19,04% para as avermectinas, 9,52% de organofosforados e 33,33% para o diflubenzuron. Muitos desses produtos não

são registrados para uso veterinário na aquicultura, como é o caso do diflubenzuron. Os efeitos destes produtos sobre a fisiologia dos peixes, o meio ambiente e a saúde da população não estão esclarecidos no meio científico. Assim, as implicações do seu uso não podem ser repassadas aos produtores sob a forma de orientação técnica adequada.

O emprego do diflubenzuron na aquicultura e os impactos ambientais atribuídos à sua alta toxicidade sobre organismos zooplanctônicos já foram discutidos por Mabilia *et al.* (2004a). Este composto é capaz de reduzir abruptamente o desenvolvimento

e a reprodução de importantes grupos de crustáceos não alvos como cladoceros, copepodas e ostracodas (Cunningham, 1986). A ictiofauna, que depende do zooplâncton, como fonte de alimento, pode sofrer consequências indiretas, mas nem por isso, de menor magnitude. É difícil estimar com precisão o impacto do diflubenzuron sobre a comunidade zooplanctônica, justamente por existir uma variabilidade dos fatores que atuam na determinação de sua meia vida relacionados às particularidades de cada meio ambiente. Sob condições de cativeiro, Ludwig (1993) observou que as larvas de “Stripped Bass” (*Morone saxatilis*) tiveram maior sobrevivência em tanques não tratados com este pesticida, quando comparados à sua sobrevivência em tanques tratados. Os riscos são maiores, especialmente, para fases de vida mais jovens e que dependem do zooplâncton como fonte de alimento. A hipótese que esse efeito possa ocorrer em ambientes naturais também não pode ser descartada. Nos Estados Unidos e na Europa, o uso deste produto sofre sérias restrições devido ao seu potencial de impacto ambiental (WHO, 1995; EPA, 1997).

Há evidências de toxicidade, imunotoxicidade e carcinogenicidade em relação ao metabólito 4-Cloroanilina em humanos (Chhabra *et al.*, 1990, 1991). Em pessoas que manipulam este pesticida, já foi reportada, em curtos períodos de exposição, a ocorrência de sulfametahemoglobina e, para períodos prolongados de exposição, a ocorrência de metahemoglobina (EPA, 1997). Em peixes, as implicações de uso parecem não ter a mesma gravidade, quando comparada aos riscos ambientais, pois estudos de toxicidade em peixes (Hunn *et al.*, 1993) classificam o diflubenzuron como praticamente atóxico. No entanto, não há trabalhos que investiguem o efeito do diflubenzuron sobre o número total de eritrócitos, o número total de leucócitos, o hematócrito e a contagem diferencial de leucócitos em peixes durante o tratamento de ectoparasitas. Nesse contexto, o presente trabalho tem o objetivo de avaliar o efeito do diflubenzuron sobre o perfil hematológico do jundiá *Rhamdia quelen* Quoy R. Gairard, 1824, infestado pelo ectoparasita *Lernaea cyprinacea* L., 1758.

Material e métodos

Os animais estudados foram jundiás (*Rhamdia quelen*) oriundos de uma estação de piscicultura do noroeste do Rio Grande do Sul. Foram utilizados 64 peixes com peso médio de 190 ± 26 gramas, divididos em 4 tratamentos com 4 repetições. Cada repetição era formada por 4 animais, totalizando 16 animais para cada tratamento. As concentrações de

diflubenzuron utilizadas foram: 0,0 mg.L⁻¹ (controle), 0,01 mg.L⁻¹, 0,1 mg.L⁻¹ e 1 mg.L⁻¹, sendo a dose de 0,01 mg.L⁻¹ a recomendada por Post (1987) no tratamento da lerneose. Os banhos de imersão tiveram a duração de 24 horas numa única aplicação, como ocorre no protocolo adotado por muitos piscicultores na região Sul do país.

A escolha desta espécie deve-se à sua importância econômica e potencial zootécnico promissor para a piscicultura do Estado do Rio Grande do Sul. O jundiá (*R. quelen*) é um peixe de couro nativo da região onde o estudo se desenvolveu. Essa espécie é frequentemente acometida por este ectoparasita. Pode ser encontrado desde o norte do México até o sul da Argentina (Silfvergrip, 1996). Os peixes estudados deveriam apresentar parasitas adultos de *Lernaea cyprinacea* e seus estágios intermediários do ciclo de vida. Para diagnóstico parasitário dos copepoditos infectantes, realizou-se raspado cutâneo e secção dos arcos branquiais de 5% da população, para visualização sob microscopia óptica de luz 10x. Os parasitas adultos foram visualizados macroscopicamente e removidos com auxílio de uma pinça de dissecação simples. Após coletados, foram fixados em formalina 10%, de acordo com Becky (2001).

Para estudo hematológico, coletou-se sangue por punção do pedúnculo caudal com agulha 25 x 0,7 mm de seringas descartáveis, contendo anticoagulante EDTA. Para determinação do número total de eritrócitos e leucócitos, foi utilizada a diluição 1:100 do diluente (Natt-Herick, 1952). Para a contagem de eritrócitos, utilizou-se 5 quadrados pequenos de cada retículo expressando o resultado em células/μl, ou seja, número encontrado multiplicado pelo fator 5.000 (Stoskopf, 1993). Para a contagem de leucócitos, foram utilizados os 4 quadrados grandes de um retículo, expressando o resultado em células/mm³, ou seja, o número encontrado vezes 250 mm³ de sangue (Hrubec *et al.*, 1986). O hematócrito foi realizado em duplicatas (Goldenfarb *et al.*, 1971). A técnica de extensão sangüínea foi aplicada, segundo Archer (1966). As lâminas de extensão foram confeccionadas em duplicata e coradas, segundo Rosenfeld (1947) para contagem diferencial.

A análise estatística realizada foi a comparação múltipla de médias pelo teste ANOVA seguido do teste Tukey 5%, ambos com auxílio do Software SAS.

Resultados

Os resultados encontrados para o ertitrograma encontram-se na Tabela 1 e para o leucograma na

Tabela 2. Não houve diferença significativa pelo teste Tukey 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes tratamentos para nenhuma variável hematológica avaliada. Não houve eficácia deste protocolo de tratamento, sugerindo que o tempo de exposição de 24 horas não é suficiente para que o diflubenzuron atue sobre a síntese de quitina das diferentes fases de vida deste parasita.

Tabela 1. Contagem total de eritrócitos e hematócritos de jundiás (*R. quelen*) parasitados por *L. cyprinacea* após banho de imersão de 24 horas com diferentes concentrações de diflubenzuron.

Tratamentos	N	Eritrócitos $\times 10^6/\mu\text{L}$			Hematócritos (%)		
		Valores Médios	Amp.	CV (%)	Valores Médios	Amp.	CV (%)
0 mg.L ⁻¹	15	2,71 $\pm$ 0,3 a	2,0 - 3,1	11,02	32,7 $\pm$ 3,62 a	27-40	11,07
0,01 mg.L ⁻¹	16	2,67 $\pm$ 0,4 a	1,9 - 3,1	15,09	32,9 $\pm$ 2,61 a	30-38	7,95
0,1 mg.L ⁻¹	16	2,56 $\pm$ 0,3 a	1,83 - 3,0	12,75	31,1 $\pm$ 2,80 a	26-35	8,98
1 mg.L ⁻¹	16	2,60 $\pm$ 0,4 a	1,59 - 3,1	15,55	30,1 $\pm$ 1,7 a	27-33	5,53

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$). Amp. = Amplitude.

Tabela 2. Contagem total e diferencial de leucócitos de jundiás (*R. quelen*) parasitados por *L. cyprinacea* após banho de imersão de 24 horas com diferentes concentrações de diflubenzuron.

Tratamentos	N	Parâmetros	Valores Médios	Amplitude	CV (%)
Controle 0 mg.L ⁻¹	15	Leucócitos Totais $\times 10^3/\mu\text{L}$	13,4 $\pm$ 2,7	7,75 - 17,25	20,27
		Ln (%)	62,1 $\pm$ 5,7	54 - 72	9,14
		Nt (%)	25,3 $\pm$ 5,5	16 - 34	21,65
		Mn (%)	11,6 $\pm$ 2,9	8 - 18	25,40
		Eos (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
		CGE (%)	2,7 $\pm$ 1,2	2 - 4	43,30
T1 0,01 mg.L ⁻¹	16	Leucócitos Totais $\times 10^3/\mu\text{L}$	13,2 $\pm$ 2,9	7,25 - 12,25	22,44
		Ln (%)	61,9 $\pm$ 6,8	54 - 74	10,91
		Nt (%)	26,9 $\pm$ 5,8	16 - 36	21,56
		Mn (%)	10,9 $\pm$ 4,5	4 - 20	41,37
		Eos (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
		CGE (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
T2 0,1 mg.L ⁻¹	16	Leucócitos Totais $\times 10^3/\mu\text{L}$	12,6 $\pm$ 2,1	8,0 - 15,5	16,35
		Ln (%)	62,4 $\pm$ 6,3	52 - 72	10,15
		Nt (%)	25,9 $\pm$ 6,7	16 - 36	26,09
		Mn (%)	11,1 $\pm$ 3,5	4 - 14	31,46
		Eos (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
		CGE (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
T3 1,0 mg.L ⁻¹	16	Leucócitos Totais $\times 10^3/\mu\text{L}$	12,2 $\pm$ 2,4	7,0 - 17,0	19,66
		Ln (%)	62,6 $\pm$ 6,4	54 - 76	10,21
		Nt (%)	25,9 $\pm$ 7,1	4 - 14	27,28
		Mn (%)	10,6 $\pm$ 4,3	4 - 14	40,49
		Eos (%)	2,0 $\pm$ 0	2 - 2	0
		CGE (%)	4,0 $\pm$ 2,0	2 - 6	50

Ln (linfócitos), Nt (Neutrófilos), Mn (Monócitos), Eos (Eosinófilos) e CGE (Célula Granulocítica especial).

Discussão

Os valores eritrocitários médios encontrados neste estudo, em todos os tratamentos e no controle (Tabela 1), quando comparados aos valores basais para mesma espécie sob condições de cativeiro, são bastante superiores: $1,42 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Soso *et al.*, 2002) e $1,95 \times 10^6/\mu\text{L}$ (Tavares-Dias *et al.*, 2002). Nesse estudo, foi observada alta ocorrência de eritroblastos durante a contagem. Em outros estudos com jundiás

(*R. quelen*) submetidos ao estresse crônico, os valores médios de eritrócitos também foram elevados, ($2,985 \times 10^6/\mu\text{L}$) (Barcellos *et al.*, 2004) de maneira semelhante ao que foi verificado neste trabalho. Estas evidências sugerem que a contagem total de eritrócitos em jundiás, acometidos de lerneose, sofre um aumento atribuído a uma condição de estresse crônico, promovida pelo parasita. Estudos de determinação do perfil hematológico do jundiá infestado pela *L. cyprinacea* (Mabilia *et al.*, 2004b) também encontraram, na contagem de eritrócitos valores semelhantes, $2,742 \times 10^6/\mu\text{L}$, confirmando esta tendência.

Os valores de hematócrito (Tabela 1) encontrados nos jundiás (*R. quelen*) parasitados para os diferentes tratamentos (30%, 12%, 32% e 66%) foram inferiores aos parâmetros basais encontrados na literatura, 35,8% (Santos *et al.*, 1986), 40,4% (Soso *et al.*, 2002) e 40,5% (Zuim *et al.*, 1986 *apud*. Tavares-Dias e Moraes, 2004). Valores basais em cativeiro, 40,44% (Barcellos *et al.*, 2003) encontram-se acima, e após estresse crônico, muito próximos (33,29%) aos encontrados no presente estudo. Com estes resultados há indicativo de que o parasitismo causa decréscimo nessa variável hematológica, devido a uma situação de estresse crônico.

No leucograma, os linfócitos foram as células predominantes. O diflubenzuron não causou alteração significativa no porcentual de leucócitos para os diferentes tratamentos. Em *Oreochromis niloticus* (Mabilia *et al.*, 2004c), também não se encontrou efeito em banhos de diflubenzuron durante exposição de 24 horas em concentrações até 1.000 vezes a recomendada na literatura. Em relação aos valores de leucócitos totais (Tabela 2), esses foram bastante superiores aos encontrados na literatura, $2,960 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Soso *et al.*, 2002). Uma vez que diflubenzuron não causou efeito significativo sobre os leucócitos totais, sugere-se que esta leucocitose seja atribuída ao parasitismo. Em estudos sobre o perfil hematológico de jundiás parasitados pelo copepoda *L. cyprinacea*, Mabilia *et al.* (2004d) corroboram com esta observação ao encontrarem valores leucocitários totais semelhantes ao do presente estudo e superiores aos basais, $13,216 \times 10^3/\mu\text{L}$, referidos na literatura. A compreensão da razão destes elevados valores para o número total de leucócitos, no presente estudo, deve ser muito cautelosa, uma vez que poucos trabalhos relatam a interação entre infestações por ectoparasitas e o seu efeito sobre os leucócitos totais. A evolução da doença parasitária e as condições ambientais de cultivo também são importantes fatores que devem explicar muitas diferenças hematológicas

encontradas na literatura. A instabilidade da homeostase dos peixes aliada a uma série de outros fatores intrínsecos e extrínsecos, (Ranzani-Paiva *et al.*, 2004) causa grande variabilidade dos parâmetros hematológicos.

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que o diflubenzuron, no protocolo terapêutico utilizado, não é eficaz com $\alpha = 0,05$ no controle da lerneose, quando os peixes são expostos a um único banho de imersão de 24 horas. O tempo é insuficiente para o copepoda executar suas mudas, visto que este é o período onde o parasita está susceptível ao efeito inibidor da síntese de quitina promovido pelo diflubenzuron. O diflubenzuron não teve efeito sobre as variáveis hematológicas avaliadas. As diferenças encontradas no presente trabalho, em relação aos valores de referência encontrados na literatura, podem ser atribuídas à condição de estresse crônico, causada pelo parasitismo. Estudos sobre o efeito do diflubenzuron sobre a fisiologia de peixes cultivados em períodos de exposição prolongados devem ser realizados para verificar a existência de efeito crônico sobre o perfil hematológico desta espécie.

Referências

- ARCHER, R.K. *Técnicas de hematologia animal*. Acridia: Zaragoza, 1966.
- BARCELLOS, L.J.G. *et al.* Haematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard: Pimelodidae) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 237, p. 229-236, 2004.
- CHHABRA, R.S. *et al.* Toxicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v. 28, n. 10, p. 717-722, 1990.
- CHHABRA, R.S. *et al.* Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v. 29, n. 2, p. 119-24, 1991.
- CUNNINGHAM, P.A. A review of toxicity testing and degradation studies used to predict the effects of diflubenzuron (Dimilin®) on estuarine crustaceans. *Environm. Pollut.*, Kidlington, v. 40, p. 63-86, 1986.
- EPA-ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Reregistration Eligibility Decision Diflubenzuron. List A Case 0144 (RED) (EPA 738-R-97-008)*, 1997. Disponível em <<http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/0144red.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2003.
- GOLDENFARB, P.B. *et al.* Reproducibility in the hematology laboratory and the microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.*, Chicago, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.
- HRUBEC, T.C. *et al.* Hematology of fish. In: *Schalm's veterinary hematology*. Chapter 174, p. 1120-1125, 1986.
- HUNN, J.B. *et al.* *Fish and agricultural chemicals: Safeguarding your pond*, 1993. Disponível em: <www.muextension.missouri.edu/explore/agguides/agengin/g01912.htm>. Acesso em: 30 out. 2004.
- LUDWIG, G.M. Effects of Trichlorfon, fenthion and diflubenzuron on the zooplankton community and on production of reciprocal-cross hybrid striped bass fry in culture ponds. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 110, p. 301-319, 1993.
- MABILIA, R.G. *et al.* Uso do diflubenzuron (Dfb) na aquicultura para o tratamento de ectoparasitas de peixes - Restrições de uso em 2004. In: XVI CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 16., 2004. Passo Fundo. *Anais...* Passo Fundo: Congresso Estadual de Medicina Veterinária, 2004a.
- MABILIA, R.G. *et al.* Efeito do diflubenzuron quanto a eficácia e perfil hematológico do Jundiá (*Rhamdia quelen*) parasitado pelo copepoda *Lernaea cyprinacea* em 2004. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 8., 2004. Laguna. *Anais...* Laguna: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 2004b. p. 217.
- MABILIA, R. G. *et al.* Reação hematológica de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes concentrações de diflubenzuron (Dimilin®) em 2004. In: XVI CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, V CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONESUL E IX EXPOSIÇÃO DE PRODUTOS E SERVIÇOS EM MEDICINA VETERINÁRIA, 2004, Passo Fundo. *Anais...* Passo Fundo: XVI Congresso Estadual de Medicina Veterinária, V Congresso de Medicina Veterinária do Conesul e IX Exposição de Produtos e Serviços em Medicina Veterinária, 2004c.
- MABILIA, R.G. *et al.* Perfil hematológico do Jundiá (*Rhamdia quelen*) parasitado pelo copepoda *Lernaea cyprinacea* em 2004. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 8., 2004, Laguna. *Anais...* Laguna: Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 2004d. p. 188.
- NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A New blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poult. Sci.*, Savoy, v. 31, p. 735-738, 1952.
- POST, G. *Textbook of fish health*. Ottawa: T.F.H Publications, 1987.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. *et al.* *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Varela, 2004.
- ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, v. 20, p. 329-34, 1947.
- SANTOS, H.S.L. *et al.* Variações volumétricas dos eritrócitos de *Rhamdia hilarii* em função do sexo em diferentes fases do ciclo sexual em 1986. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 1986, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá: ABRAQ, 1986. p. 65.
- SILFVERGRIP, A.M.C. *A systematic revision of the neotropical*

catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Stockolm: Stockolm University and Departament of Vertebrate Zoology, 1996.

SOSO, A.B. *et al.* Perfil hematológico de jundiá (*Rhamdia quelen*) mantidos em cativeiro em 2002. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 2002, Goiânia. *Anais...* Goiânia: ABRAq, 2002. p. 285.

STOSKOPF, M.K. Fish Medicine. In: STOSKOPF, M.K. (Ed.). *Clinical pathology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993. cap. 9, p. 113-131.

TAVARES-DIAS, M. *et al.* Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 4, n. 32, p. 693-698, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. *Hematologia dos*

peixes teleósteos. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias, 2004.

TRIPATHI, R.K. Information sheet on dimilin. *Virginia Department of Health Bureau of Toxic Substances*, Virginia, 3 maio. 1996.

WHO-United Nations Environment Programme International Labour Organisation. IPCS International Programme on Chemical Safety, 1995. Disponível em <www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg099.htm>. Acesso em: 22 out. 2004. Health and Safety Guide N°. 99 Diflubenzuron Health And Safety Guide 1995.

Received on may 02, 2005.

Accepted on June 29, 2006.