

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN-Managua

Recinto Universitario “Rubén Darío”



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

TITULO:

Evaluación de la eficacia de Temefos (Abate®) en condiciones de laboratorio y su utilidad en el control de larvas de *Aedes aegypti*, vector del Dengue y Chikungunya en el barrio “Bóer”, Managua en el período Febrero-Marzo, 2016

AUTORES:

 Julio César Castillo Rivas

 Juergen Ramos Carvajal

TUTORA:

 Dra. Clara González Moncada

Profesor Titular de Microbiología y Parasitología

UNAN-Managua

Managua, Nicaragua

INDICE

CAPITULO		PÁGINA
	Resumen	
I	Generalidades	
	1.1 Introducción	4
	1.2 Antecedentes	6
	1.3 Justificación	10
	1.4 Planteamiento del Problema	12
	1.5 Objetivos	13
	1.6 Marco Teórico	14
II	Diseño Metodológico	29
	2.1 Tipo de Estudio	29
	2.2 Universo	29
	2.3 Muestras	29
	2.4 Área de Estudio	29
	2.5 Criterios de Selección	29
	2.7 Técnicas y Procedimientos	30
	2.8 Variables	36
	2.9 Relación entre Variables	37
	2.10 Operacionalización	38
	2.11 Plan de Tabulación y Análisis	41
	2.13 Aspectos Éticos	41
III	Referencias	42
	3.1 Bibliografía	
IV	Anexos	44



1.1. AGRADECIMIENTOS

A nuestro padre celestial que nos permitió la fuerza, paciencia y determinación para alcanzar esta meta que parecía imposible de alcanzar.

A nuestros padres por apoyarnos en cada instante de la investigación, y durante toda nuestra carrera.

A la Dra. Clara González, nuestra tutora por su total apoyo, confianza y tiempo otorgado para el alcance de nuestros objetivos, y por creer en este tema de investigación.

A todo el personal del laboratorio de Microbiología, principalmente al Lic. Medardo quien de forma voluntaria e incondicional nos brindó todo su apoyo durante los experimentos en el laboratorio, y participó de forma constante en el mantenimiento de la supervivencia de las larvas en el laboratorio.

Al departamento de Fisiología Médica por su colaboración con la pesa analítica, sin la cual, no hubiésemos logrado calcular las dosis necesarias para realizar los experimentos.

A todos los docentes de la UNAN-Managua por su participación en la formación académica de calidad de cada uno de nosotros.

Gracias padre por permitirnos finalizar nuestra defensa monográfica, la cual es una gran bendición, y gracias a ti hoy podemos decir que nuestra meta está cumplida y que a partir de hoy se abrirán muchas puertas.



1.2.DEDICATORIA

A mi madre, padre y hermanos quienes me ofrecieron la oportunidad de poder desarrollarme social e intelectualmente, quienes sembraron en mí el espíritu de responsabilidad y amor al trabajo; sin los cuales hoy no hubiese logrado alcanzar esta meta.



1.3.RESUMEN

INTRODUCCION: Las enfermedades transmitidas por las especies del mosquito *Aedes*, se observaron con mayor frecuencia en Nicaragua durante los dos últimos años. El Dengue y el Chikungunya son enfermedades de transmisión vectorial, de tipo viral que afectan predominantemente a los países con climas tropicales. Actualmente representa un problema creciente para la Salud Pública mundial, adaptándose a las diferentes condicionantes para el desarrollo de la enfermedad tales como el cambio climático, el aumento de la población mundial en áreas urbanas, la insuficiente provisión de agua potable que obliga a su almacenamiento en recipientes caseros habitualmente descubiertos, la inadecuada recolección de residuos, etc. A esto se suman fallas en el control de los vectores y la falta de una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad (CDC, 2001).

OBJETIVO GENERAL: Determinar los grados de resistencia y sensibilidad al insecticida Temefos en poblaciones de *Aedes aegypti*, según la dosis diagnóstica recomendada por la OMS, en los criaderos de larvas de *Aedes aegypti* creados bajo condiciones de laboratorio en la ciudad de Managua, Nicaragua en el período Febrero-Marzo, 2016.

METODOLOGIA: Se seleccionó muestras de la población de *Aedes aegypti* del Barrio “Bóer” correspondientes al Distrito II, Managua, en el periodo de Febrero- Marzo 2016. Fueron 6 manzanas del barrio “Bóer”, Managua en hogares con criaderos que contenían larvas del mosquito *Aedes aegypti*, las cuales estaban presentes (desarrolladas) de forma no intencional. Las muestras se originaron de las casas que presentaron criaderos de larvas de *Aedes aegypti* las cuales se cultivaron en condiciones de laboratorio supervisadas para observar su respuesta ante el agente administrado que posteriormente se trasladaron a un segundo criadero diseñado según estas vivieran o murieran. Se siguió el protocolo descrito por la OMS/OPS (1980). Para establecer la línea de base, las larvas fueron sometidas a concentraciones seriadas entre 0.002 y 0.08 ppm del insecticida Abate (1%) grado técnico. De cada concentración a evaluar se realizó dos replicas y un control, cada una sobre aproximadamente 20 larvas. La mortalidad se registró a las 24 horas post-exposición. Las larvas que pasaron a estadio de pupa durante la prueba se trasladaron a la jaula-cría. La dosis diagnóstica determinadas para Temefos por la OMS es 0.02 ppm. Esta dosis se utilizó



para determinar el nivel de resistencia de la población de larvas de *Aedes aegypti* de la localidad de estudio.

RESULTADOS: El tratamiento con las dosis iniciales de temefos no redujo en 24 horas la cantidad de larvas en los criaderos, sin embargo cuando llevamos la concentración a 0.08 ppm la presencia de larvas se redujo en su totalidad a 0 larvas por depósito ($p < 0,05$), resultando con esta dosis diagnóstica en un porcentaje de mortalidad de 100% en las primeras 12 horas.

CONCLUSION: La susceptibilidad del 100% de las poblaciones evaluadas al larvicida temefos, sugiere la condición de susceptibilidad generalizada en las poblaciones de *Aedes aegypti* a este larvicida. Por lo tanto este larvicida puede seguir utilizándose como medida de control en caso de brotes o epidemias de dengue acorde a los lineamientos nacionales del Ministerio de Salud de Nicaragua. La verificación para vigilancia debe de mantenerse como una opción en nuestro país, ya que si bien es cierto con las dosis diagnóstica de 0.08 ppm fue posible la mortalidad del 100% de las larvas, pero esta dosis ya supera la recomendada por la OMS (1981) y es posible que las formas larvarias de *Aedes aegypti* logren desarrollar resistencia ante la presión de selección, ya que la abatización representa una de las principales formas de prevención del desarrollo del vector en este país.



1.4. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por las especies del mosquito *Aedes*, se observaron con mayor frecuencia en Nicaragua durante los dos últimos años, por lo que, ante la emergencia de las mismas se emplearon medidas de prevención diseñadas para el control de la reproducción y migración del vector transmisor. El Dengue y el Chikungunya son enfermedades de transmisión vectorial, de tipo viral que afectan predominantemente a los países con climas tropicales. Actualmente representa un problema creciente para la Salud Pública mundial, íntegro a las diferentes condicionantes para el desarrollo de la enfermedad tales como el cambio climático, el aumento de la población mundial en áreas urbanas, la insuficiente provisión de agua potable que obliga a su almacenamiento en recipientes caseros habitualmente descubiertos, la inadecuada recolección de residuos, etc. A esto se suman fallas en el control de los vectores y la falta de una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad (CDC, 2001).

En la actualidad, no existe quimioterapéutica o vacuna disponible para la enfermedad del Dengue y la única forma de controlarla es mediante la eliminación del vector o reducción de su densidad a niveles extremadamente bajos (Bisset J., 2002). El programa de prevención del Dengue del estado de Nicaragua está basado en la reducción de criaderos de *Aedes aegypti* a través del control físico (eliminación, remoción y protección), químico (aplicación de larvicidas Temefos granulados o abate con visitas casa por casa y rociados espaciales para la eliminación de adultos) y complementado con campañas de limpieza anunciadas en medios masivos de comunicación. Asimismo, se promueven acciones de limpieza domiciliaria por la comunidad denominadas “Plan Chatarra”.

Por otra parte, en Octubre del año 2013; el SINAPRED emitió un comunicado en el que declaraba a Nicaragua en estado de alerta roja, por la incidencia hasta ese momento de casos confirmados de Dengue y la prevalencia de casos en las unidades de atención. Sin embargo, se registraba un total de trece fallecidos, cincuenta y siete casos hospitalizados en estado crítico hasta ese mes, por lo que; dicha institución en conjunto con el MINSA y los grupos organizados en las comunidades comienzan a implementar de forma aún más activas, medidas de prevención de la epidemia de Dengue.



Actualmente los casos de Chikungunya continúan en aumento, y aunque el Ministerio de Salud (MINSa) ha recurrido a todas las medidas de prevención disponibles para el control vectorial, el número de personas afectadas por esta patología es impactante. Todo esto produce un estado de alerta constante dentro de las autoridades del sector salud, ya que las unidades de atención se encuentran saturadas con pacientes con síntomas sospechosos de ambas enfermedades y muchos de ellos con diagnóstico confirmado de la misma.

El objetivo del presente estudio es determinar el estado de susceptibilidad y/o resistencia de las formas larvarias del mosquito *Aedes aegypti* al abate (Temefos), ya que no existen datos de un estudio previo que avale el estado de susceptibilidad a nivel local o nacional y las condiciones actuales maximizan la problemática a nivel de salud de las enfermedades vectoriales. La realización del estudio en esta localidad (Barrio Bóer) ofrecerá una panorámica inicial de como es el estado de susceptibilidad en las especies de *Aedes aegypti* de nuestra región y/o sector, y según sea este sugerirá si las medidas que conlleva el Ministerio de Salud actualmente, están acertadas al utilizar abate como una de las principales herramientas para combatir enfermedades vectoriales.



1.5.ANTECEDENTES

En Lima, Perú realizaron una “Evaluación del efecto residual del Temefos en larvas de *Aedes aegypti*” en todos los Tanques Bajos Concreto (TBC), los cuales estuvieron infestados (mediana de 43,5 larvas). La mortalidad en los TBC a 24 horas fue 99,7% y no se evidenció recolonización de los TBC hasta la 14^{ta} Semana. Sin embargo, en el laboratorio se evidencia disminución semanal de 11% de la mortalidad desde la 7^{ma} semana. La mortalidad en la semana número 14 estuvo asociada de forma inversa con la frecuencia de recambio de agua en los TBC ($p < 0,05$). Concluyeron que no hubo evidencia en condiciones de campo de eficacia residual disminuida del temefos a la 14^{ta} semana de aplicación (Palomino, M., 2006).

En un estudio realizado por el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) en Colombia, en el cual evaluaron la “Eficacia y persistencia de temefos (Abate®) en condiciones de campo para el control de *Aedes aegypti*, vector del dengue en Colombia” encontraron que la población de *Aedes aegypti* evaluada mostró susceptibilidad al insecticida temefos. (Castro, M., 2007).

Otro estudio realizado en Colombia acerca de la “Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a temefos en Atlántico-Colombia reporta que las poblaciones de Galapa (100%) y Santa Rita (100%) registraron susceptibilidad al temefos; mientras que en las de Malambo (86%), Barranquilla (87%), Baranoa (90%) y Sabanagrande (93%), se debe verificar para vigilancia. Las poblaciones procedentes de Puerto Colombia (34%) y Juan de Acosta (45%) presentó resistencia al temefos (Maestre, R., 2009).

El primer registro de resistencia al temefos en Colombia para la especie *Aedes aegypti* se presentó en Cali en el departamento de Valle del Cauca en la década de los 90's (RONALD MAESTRE S, 2009). La Escuela de Salud Pública de la Universidad del Valle, determinó resistencia al temefos en mosquitos *Aedes aegypti* procedentes de las ciudades de Cartagena (Bolívar), Cali, y Buga (Valle del Cauca) al presentar mortalidades a la dosis diagnóstica (0.0125 ppm) de 3.6%, 55% y 68% respectivamente (Vega, G. R., 2011)



Por otra parte, en Honduras se realizó un estudio acerca de la “Residualidad del Temefos en depósitos domésticos y su efectividad en el control de larvas de *Aedes aegypti*” en el cual lograron identificar una residualidad de más de 100 días, a pesar de la influencia de los factores ambientales, sociales y antropogénicos, esta observación se obtuvo durante los bioensayos de laboratorio que se realizaron con el agua de la pila abatizada, logrando demostrar la efectividad del Abate.

En Argentina se realizó un estudio sobre "Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae)" en el cual reportan que las larvas de Misiones y Buenos Aires resultaron susceptibles a temefos de acuerdo al criterio de Mazarry y Georghiou, en 1995, ellos recomendaron diagnosticar resistencia para valores de factor de resistencia (FR50) mayores de 5. Sin embargo, se podría hablar de resistencia incipiente en las larvas de Misiones, para un valor de $FR50=4$, de acuerdo al criterio utilizado en trabajos previos de monitoreo de resistencia a temefos en cepas de *Aedes aegypti* de Clorinda e Iguazú, Argentina, cuyos autores diagnosticaron resistencia incipiente a temefos, con valores de FR50 mayores de 3. También en Brasil, para el Ministerio de Salud, un valor de FR50 mayor de 3, es considerado una razón para establecer estrategias de alternar el uso de temefos con otros insecticidas como *Bacillus thuringiensis*. Las diferentes formas de diagnosticar la resistencia en los diferentes trabajos de investigación, en ocasiones, dificulta la comparación de resultados en la comunidad científica. En este trabajo el nivel de susceptibilidad a temefos y otros insecticidas evaluados en larvas puede ser atribuido a que en Argentina el país hace un gran esfuerzo para aplicar medidas de control integrado de vectores y utilizar la menor cantidad de insecticidas químicos posibles o utilizarlo sólo en casos de epidemias de dengue, de ahí que no se haya detectado resistencia a los productos en uso, en este caso específico a temefos, que sí se ha utilizado como larvicida para el control de *Aedes aegypti* desde el año 2002, cuando se implementó un programa de control masivo llevado a cabo por la Fundación Mundo Sano (Bisset J., 2014).

En el país vecino a Nicaragua, se realizó un estudio sobre el “Perfil de resistencia a insecticidas en una cepa de *Aedes aegypti* (Linnaeus) de la región Caribe, Costa Rica” los resultados demuestran que existe un proceso de desarrollo de resistencia a la cipermetrina



en los mosquitos *Aedes aegypti* en esta localidad, el cual está relacionada con la actividad citocromo P450 monooxigenasa. Esto alerta a las autoridades para sustituir dicho insecticida y así asegurar el adecuado control del vector sin la generación de resistencia (Calderón-Arguedas, O., 2014).

En Nicaragua, no se encuentran registros sobre estudios de resistencia del mosquito *Aedes aegypti* al abate, se realizó búsqueda en la Biblioteca Virtual en Salud de este país y no se encontró resultados relacionados al tema.



1.6.JUSTIFICACIÓN

El Dengue y el Chikungunya representan un problema de salud pública a nivel mundial, siendo la infección viral transmitida por mosquitos de más rápida propagación en el mundo. En los últimos 50 años, la incidencia de Dengue ha aumentado 30 veces estimando que anualmente ocurren 50 millones de infecciones por Dengue en el mundo y que aproximadamente 2.5 mil millones de personas viven en países con Dengue endémico. Los países más afectados en Centroamérica son Honduras, Nicaragua y El Salvador. Según datos de la OMS durante el período 2001-2007, en Nicaragua se reportaron 64 muertes por Dengue.

La diseminación geográfica tanto de los mosquitos vectores como de los virus ha conducido al resurgimiento de las epidemias de fiebre del Dengue en los últimos 25 años, con la aparición de hiperendemicidad en muchos centros urbanos, en los trópicos y con ello la reciente introducción del Chikungunya en los diferentes países, al ser transmitido por *Aedes spp.*. El número de países con epidemias de dengue se está incrementando continuamente (OMS/OPS/CDC, 2002) y con ello el aumento de casos positivos de Chikungunya; Nicaragua no es la excepción.

El uso rutinario y prolongado de insecticidas ha generado la aparición de resistencia en poblaciones de campo de diferentes especies de *Aedes* en el mundo, es así como un total de 21 especies de *Aedes*, entre ellas el vector de dengue *Aedes aegypti* presentan resistencia a 16 insecticidas (IRAC, 2011).

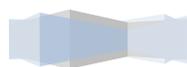
Debido a esto, se inició el tratamiento con insecticidas organofosforados tales como temefos (Abate), el cual actúa como larvicida utilizándolo a la concentración de una parte por millón en los contenedores de agua en los que se crían estas larvas y Adulticidas como malatión, baytex o fention y fenitrotión en aplicaciones a ultra bajo volumen (ULV).

En el año 2013 en Nicaragua, hubo una epidemia que dejó como resultado cuatro mil trescientos casos positivos de Dengue en todo el país, cincuenta y siete casos hospitalizados en estado crítico y 13 personas fallecidas, según los datos brindados el 24 de octubre del año 2013 por el SINAPRED lo que tuvo una gran repercusión a nivel nacional, teniendo



como resultado una amplia difusión a través de los diferentes medios de comunicación, que reportaban la cantidad de casos de personas afectadas y fallecidas, al mismo tiempo que instaban a la población a tomar las medidas preventivas en sus hogares para erradicar la reproducción del mosquito transmisor, y en caso de presentar los síntomas de la enfermedad acudir lo antes posible a la unidad de salud más cercana. Sin embargo, a finales del año 2014 se introduce en nuestro país el Chikungunya, provocando un incremento de personas afectadas por esta enfermedad paralela al Dengue, lo cual provoca mayor preocupación en el sistema de salud.

Teniendo como precedente la realidad antes descrita es necesario realizar una Evaluación de la eficacia de temefos (Abate®) en condiciones de laboratorio y medir su efectividad en el control de larvas de *Aedes aegypti*, vector del Dengue y Chikungunya en el barrio “Bóer” de Managua; de tal forma que se logre determinar un factor más a tomar en cuenta en el control de esta enfermedad de transmisión vectorial.



1.7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El programa de prevención del Dengue del estado de Nicaragua está basado en la reducción de criaderos de *Aedes aegypti* a través del control físico (eliminación, remoción y protección), químico (aplicación de larvicidas temefos granulados o abate con visitas casa por casa y rociados espaciales para la eliminación de adultos) y complementado con campañas de limpieza anunciadas en medios masivos de comunicación.

Sin embargo, el uso rutinario y prolongado de insecticidas ha generado la aparición de resistencia en poblaciones de campo de diferentes especies de *Aedes* en el mundo, es así como un total de 21 especies de *Aedes*, entre ellas el vector de dengue *Aedes aegypti* presentan resistencia a 16 insecticidas (IRAC, 2011); es por eso que surgen las siguientes preguntas:

1. ¿Es alta la resistencia de larvas *Aedes aegypti* ante el organofosforado en los criaderos desarrollados en condiciones de laboratorio?
2. ¿Cuál es el nivel de sensibilidad del mosquito *Aedes Spp.* al abate en los criaderos desarrollados en condiciones de laboratorio?



1.5.OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los grados de resistencia y sensibilidad al insecticida temefos en poblaciones de *Aedes aegypti*, según la dosis diagnóstica recomendada por la OMS, en los criaderos de larvas de *Aedes aegypti* creados bajo condiciones de laboratorio en la ciudad de Managua, Nicaragua en el período Febrero-Marzo, 2016

Objetivos Específicos

- Establecer los grados de resistencia al temefos (GR50 y GR90) en las poblaciones de *Aedes aegypti* evaluadas en condiciones de laboratorio.
- Evaluar en condiciones de laboratorio la eficacia del temefos (Abate ®), sin recambio de agua, en larvas de *Aedes aegypti* que presenten grados de resistencia superiores a 5.
- Determinar la susceptibilidad de la cepa en estudio mediante la dosis diagnóstica según los criterios de la OMS.



1.6.MARCO TEÓRICO

a) *Generalidades de los Mosquitos*

Los mosquitos pertenecen al Orden Díptera, Suborden Nematóceras, Familia Culicidae; se tratan de artrópodos hematófagos que se alimentan del hombre, otros mamíferos y también de aves. En ocasiones hasta de reptiles y anfibios. (Harwood & James, 1987). Los mosquitos son los únicos vectores de patógenos que pueden causar desde malaria, fiebre amarilla, dengue y actualmente de forma reconocida el 'Chikungunya'.

La familia Culicidae consta de 20 géneros. Entre sus características encontramos la combinación de escamas en las venas alares y en el margen posterior de las alas. Proboscis largas, antenas largas y filamentosas con aproximadamente 15 artejos con sedas en espiral. Presentan larvas acuáticas, apodas, tórax en forma de bulbo más ancho que la cabeza y abdomen, capsula cefálica completa, un solo par de estigmas funcionales dorsales en el octavo segmento abdominal (Harwood & James, 1987).

Existen 3 subfamilias: Toxorhynchitinae, Culicinae y Anophelinae. La especie de interés pertenece al grupo Culicinae, Género *Aedes*, subgénero *Stegomyia*.

b) *Generalidades Aedes Spp*

Los mosquitos del género *Aedes*, especie *aegypti* y *albopictus*, son vectores biológicos de flavivirus (Dengue y fiebre amarilla) y Alfavirus (Chikungunya). *Aedes aegypti* es originario de África de la región etiópica, *Aedes albopictus* es otra especie del subgénero *Stegomyia*, originaria de Asia y Oceanía. Presentan una distribución cosmopolita dentro de los límites de las latitudes 45 ° N y 35 ° S (Nelson, 1986). Se caracteriza por ser susceptible a temperaturas muy extremas y climas cálidos secos. La máxima altitud a la cual se le ha encontrado es a 2200 mts de altura.

La especie *Aedes aegypti* originario del continente africano es conocida por sus formas *queenslandensis* y *formosis*. Primeras especies en arribar al continente americano, presuntamente por viajes en barriles de agua de los barcos que hacían exploraciones y formaban parte del proceso de colonización europea (Nelson, 1986).



Las hembras hematófagas poseen hábitos de alimentación diurnos, con actividad peridoméstica, con gran afinidad a la alimentación sobre el hombre (antropofilia diurna). Las formas adultas pierden actividad por desecación o cuando se encuentran ante temperaturas debajo de 12-14 °C (Nelson, 1986).

El mosquito *Aedes* ovipone a nivel de la interfase agua/aire en colecciones de agua limpia naturales o artificiales, con bajo tenor orgánico y de sales disueltas, en el ámbito peridoméstico. Entre los criaderos más frecuentes se encuentran: charcos, tanques, neumáticos, diversos recipientes descartables preferentemente de color oscuro, botellas, floreros, piletas, hoyos, cavidades de árboles (Axilas de ananá, banano, bromelias, cáscaras de coco) y rocas (Nelson, 1986).

c) Características biológicas del mosquito Aedes Spp

Ciclo biológico

La mayor parte de cada postura (500 huevos por hembra) es de eclosión rápida. Un pequeño porcentaje constituye los huevos resistentes inactivos residuales, capaces de largas sobrevivencias. Inicialmente son de color blanco, luego negros con el desarrollo del embrión, que evoluciona en óptimas condiciones de temperatura y humedad en un lapso de 2 -3 días (Martínez, 1987).

Los huevos son capaces de resistir desecación y temperaturas extremas con sobrevivencias de siete meses a un año o más y eclosionan tras unos 4 días de humedad. Si las paredes del recipiente donde se oviponen son lisas los huevos se dispersan por la superficie del agua, o se adhieren a la superficie interna del recipiente, por encima del nivel del agua (Icaza, 2003)

Las larvas que emergen inician un ciclo de 4 estados larvarios (tres mudas), de un largo de 1 mm a 6-7 mm finales (Nelson, 1986). Durante el estado larvario se caracterizan por presentar en su octavo segmento abdominal un peine unilinar de 12 escamas oscuras y un diseño típico con espina larga y dientes laterales. Presentan un sifón respiratorio con forma de oliva corta que destaca por su color negro.



d) Morfología y Biología de la Larva

La forma larvaria del *Aedes* es similar a la de muchos otros mosquitos. Tiene cabeza ovoide, abdomen de 9 segmentos. En su segmento posterior anal presentan 4 branquias lobadas que les permite regular osmosis y al otro lado del segmento presentan un sifón respiratorio que les permite captar oxígeno atmosférico (Nelson, 1986). Su desarrollo se completa en condiciones favorables de nutrición y con temperaturas de 25 a 29 °C, en 5 a 7 días. Están dotadas de movimientos característicos verticales, entre fondo y superficie, se disponen en forma de ese (S) durante los mismos (Icaza, 2003).

Son incapaces de resistir temperaturas extremas, impidiendo su conversión al estadio pupal con temperaturas menores de 13 °C aproximadamente. Se alimentan del zooplancton y fitoplancton de los recipientes que habitan. Para confirmar que se tratan de larvas *Aedes* se requiere del uso de un microscopio para observar sus características más importantes que son dos espinas prominentes laterales en cada metatórax y la hilera recta de 7 a 12 escamas del peine, ubicadas en el octavo segmento abdominal, cada escama tiene una espina y dientes laterales (Nelson, 1986).

e) Morfología y biología de la pupa

Se trata de un estadio inter-metamorfotico del estadio larval al adulto. Pueden reaccionar a estímulos externos como vibraciones o cambios en la intensidad de luz a diferencia de las pupas de otros insectos. Presentan coloración oscura, aspecto de coma con 2 segmentos: cefalotórax y abdomen. Es móvil, no se alimenta. Con temperaturas entre 28-32 ° C completa su desarrollo hasta la emergencia del adulto en 1 a 3 días. Las variaciones extremas de temperatura pueden hacer que tarde un poco más este periodo (Icaza, 2003).

f) Morfología y biología del adulto

La forma adulta del mosquito *Aedes* se diferencian de la subfamilia anopheles por poseer palpos más cortos y adoptar una posición más horizontal sobre la superficie donde reposan, se diferencia de la mayoría de otros mosquitos de la misma familia en la terminación aguda de su abdomen y ausencia de seda espiraculares (Nelson, 1986).



El adulto emergente es un mosquito de color negro, que mide 5 mm y presenta diseños blanco-plateados formados por escamas claras que se disponen simulando la forma de una "lira", en el dorso del tórax, bandas blancas en las patas y escamas claras en la base de los segmentos 3°, 4° y 5 ° del abdomen. (Nelson, 1986) Presentan un anillado blanco y negro característico a nivel de tarsos, tibia y fémures de las patas. El macho tiene antenas más grandes (plumosas) y es menos robusto. Ambos sexos liban néctar y líquidos azucarados. La hembra necesita una ingesta de sangre para desarrollar los huevos y se la describe como astuta en la búsqueda de un huésped (Icaza, 2003).

El tórax está formado por tres segmentos fusionados: protórax, donde se insertan sus patas frontales; mesotórax donde se ubican las alas funcionales y el segundo par de patas y el metatórax con los balancines y patas posteriores. Cada segmento está cubierto por una placa dorsal o terguito y otra ventral o esternito, que se unen por una membrana denominada pleurito (Martínez, 1987).

Su abdomen es alargado cilíndricamente, lo forman diez segmentos, los primeros 7 son similares, excepto por el primero que es más angosto, están constituidos por una placa dorsal o terguito y una ventral o esternito. Los segmentos noveno y decimo están modificados para la reproducción y ovipostura, este último consta de dos pequeños cercos dorsales (Martínez, 1987). El orificio genital o atrio se encuentra entre el octavo y noveno esternito, constituyen los escleritos periatrales anexos al esternito y terguito del decimo segmento.

g) Vías de penetración del insecticida en el mosquito

La penetración de los insecticidas en los insectos puede ser por vía digestiva, a través de la quitina conocida como envenenamiento por contacto o a través de los espiráculos del sistema respiratorio como ocurre con el diclorvos o el temefos.

En el envenenamiento por contacto se requiere de un compuesto químico liposoluble al cual se le facilita el paso a través de la quitina del insecto hasta llegar al sitio activo como



ocurre en el caso de los insecticidas organoclorados como el DDT, organofosforados como malation, inhibidores de crecimiento, entre otros (Vega, G. R., 2011).

Por vía digestiva, el ejemplo con *Bacillus thuringiensis*, se absorbe en intestino y una vez las larvas ingieren los cristales, las toxinas se solubilizan y procesan por proteasas del intestino medio, generando un fragmento toxico, el cual se une a receptores específicos en células epiteliales, formando poros en la membrana plasmática, ocasionando lisis celular con la consiguiente muerte (Vega, G. R., 2011).

h) Mecanismos de acción de los insecticidas

Los Organofosforados y carbamatos realizan su acción toxica a través del bloqueo la acetilcolinesterasa (AchE). A través de este mecanismo se realiza un sobreestímulo por una vía indirecta de la vía parasimpática por medio de un exceso de acetilcolina actuando en receptores de membrana y en placa basal de las conexiones neuromusculares, impidiendo los impulsos propagados y sincrónicos en el movimiento del insecto. Una vez se han formado enlaces covalentes muy fuertes entre el insecticida y la enzima, se inhibe provocando la acumulación del sustrato (AchE) en la unión sináptica, interrumpiendo la transmisión normal de los impulsos nerviosos (Vega, G. R., 2011).

Los piretroides afectan a sistema nervioso central y periférico, se encargan de estimular las células nerviosas produciendo repetidas descargar y eventuales casos de parálisis, estos efectos se llevan a cabo en la membrana nerviosa y son causados por acción en los canales de sodio, a través de los poros por donde se permite la entrada a los axones para causar excitación (Vega, G. R., 2011).

*i) Medidas Preventivas para eliminación de Mosquito *Aedes Spp**

El *Aedes aegypti* prolifera principalmente en los alrededores de los domicilios. El problema de desorden ambiental asociado al dengue está constituido por factores que favorecen la presencia de mosquito hembras *Aedes* en los alrededores de nuestras viviendas en ciudades y pueblos; éste espécimen está muy bien adaptado al hábitat urbano, los adultos aprovecha



la vegetación como fuente de alimento y lugar húmedo de reposo, y además utilizan los recipientes que suelen acumular agua para depositar sus huevos y para desarrollo a forma larvaria. (OMS, 2009)

Los ambientes sombríos aseguran que el agua de los recipientes no sobrepase ciertas temperaturas que serian letales para las formas inmaduras ($\geq 40^{\circ}\text{C}$), por lo que la exposición al sol de verano reduce la formación de criaderos. No es este el caso en zonas o barrios donde los criaderos se forman en charcas dentro de los mismo hogares que no se exponen al sol, o bien en ‘cerros de chatarras’ acumuladas en los patios de las comunidades (UNICEF-Argentina, 2010).

Los mosquitos no vuelan muy lejos, se mantienen constantemente en un perímetro de 100 metros de lugar de donde se produjeron. La hembra es la encargada de la picadura ya que requiere de nutrientes, principalmente de proteínas, para dar origen a los huevos que aloja en su interior, se alimenta casi exclusivamente de humanos en horas diurnas tanto en interiores como en las afueras del hogar (OMS, 2009).

El prevenir la transmisión del dengue depende básicamente del control de los mosquitos vectores o el impedimento de contacto humano con el vector (OMS, 2009). Las actividades implementadas que se encuentran documentadas desde hace mucho tiempo, implican agresión contra los hábitats de las etapas inmaduras y adultas en viviendas y alrededores del hogar.

j) Métodos físicos para el control de vectores

Manejo Ambiental

El manejo ambiental según (OMS, 2009) busca la prevención y minimizar tanto la propagación de vectores, como la interacción humano-vector, mediante la destrucción, alteración, eliminación y reciclaje de recipientes poco útiles que sirve de mediadores de hábitats larvarios. Dichas acciones son el pilar fundamental para el control de vectores de dengue. La OMS aclara ciertas definiciones antes de abarcar las medidas específicas que hay que tomar.



Define Modificación ambiental como el control físico, mediante transformaciones a largo plazo que disminuyen los hábitats larvarios del vector, tales como un sistema de suministro de agua corriente (OMS, 2009).

Mejora en servicios y almacenamiento de agua potable.

Las mejoras y mantenimiento de infraestructuras urbanas y servicios aportan significativamente a la disminución de los hábitats del mosquito. Se prefiere el suministro de agua por tuberías a viviendas, a que se haga mediante pozos, depósitos de comunidad o recolección de techos u otros sistemas. Se debe contar con un sistema confiable para que no sea necesario el uso de recipientes de almacenamiento (barriles, tanques, albercas, etc.), que se convierten en criaderos del *Aedes* (OMS, 2009).

Contenedores a prueba de mosquitos para almacenar agua

Los recipientes deben estar equipados con tapas ajustadas o con filtros de malla firmemente colocados que permiten la recolección de los techos al mismo tiempo que mantienen fuera a los mosquitos. Las cubiertas removibles se deben reemplazar cada vez que se cambie el agua y debe estar en un buen estado para impedir el paso de mosquitos mientras se utilice (OMS, 2009).

Para cubrir tanques, barriles, baldes entre otros, que contienen agua para consumo y estos no poseen tapas se puede cubrir con una tela limpia o una tela mosquitera. Es determinante el cambio diario del agua de estos bebederos (UNICEF-Argentina, 2010).

Eliminación de desechos sólidos

Comprende los desechos biodegradables de viviendas, comunidades e industrias. Este control contribuye tanto a la protección de salud pública como para un adecuado control de vectores (OMS, 2009).

De manera representativa implica desechar todos los objetos inservibles capaces de acumular agua como: latas, neumáticos, macetas rotas, juguetes rotos, botellas de plástico, pedazos de zinc y basura que se encuentra alrededor de la vivienda (UNICEF-Argentina, 2010).



Prevención de la picadura del mosquito

Instalar cedazos, rejillas o telas metálicas en puertas y ventanas para impedir la entrada del mosquito a las viviendas, puede ser un buen inicio de prevención, sin embargo en nuestro medio se dificulta el acceso económico a esta técnica. Los mosquiteros de tela alrededor de camas, cunas, entre otros, son de uso muy común en nuestra población, y una muy buena técnica de protección para los más pequeños (UNICEF-Argentina, 2010).

Control Químico: Larvicida

A pesar de la amplia implementación en nuestro medio de químicos para combatir criaderos, su uso debe considerarse un método complementario al manejo ambiental y debe restringirse (excepto en emergencias) a recipientes que se dificulte su eliminación o manejo alternativo (OMS, 2009).

Este tipo de control es realizado por el personal de salud especializado y habilitado. Consiste en: Atacar directamente a las etapas larvarias, mediante la utilización de productos químicos con efecto larvicida. Se utilizan única y exclusivamente en depósitos y recipientes que dificultan la realización de control físico y representan un riesgo significativo de convertirse en criaderos. Entre ellos se mencionan las piletas, estanques, fuentes, barriles, basureros, entre otros (UNICEF-Argentina, 2010).

Una importante limitación para la aplicación de larvicidas en el sector urbano es el difícil acceso a hogares para asegurarse de la aplicación a hábitats de larvas como recipientes para agua, macetas y sus sujetadores (OMS, 2009).

Los hábitats que contienen larvas se deben tratar con químicos una vez que las medidas ambientales o demás técnicas de control físico hayan fracasado o estén imposibilitados por carencias económicas. Se cuenta con el tratamiento perifocal mediante fumigación con polvos o concentrados que destruye infestaciones larvarias en recipientes de agua NO potable y elimina mosquitos adultos que acuden a estos sitios subsecuentemente. Esta fumigación permite cubrir un radio de 60 cm que rodea al recipiente (OMS, 2009).



Control Químico: Adulticidas

Los Adulticidas se aplican en forma de tratamientos residuales de superficie o como tratamientos especiales.

Tratamiento Residual

Los insecticidas se aplican en fumigadores de compresión de control manual o eléctrico, se pueden utilizar para el tratamiento rápido de grandes acumulaciones de recipientes desechados (llantas). Se debe tener cuidado al aplicar en depósitos de agua potable (OMS, 2009).

Fumigadores Espaciales

Este procedimiento solo se recomienda para control de situaciones de emergencia para detener una epidemia en proceso o para prevención de una epidemia en fase temprana. Su objetivo es la destrucción en masas y de forma rápida de vectores adultos (OMS, 2009).

Repelentes

La utilización de repelentes es una buena alternativa preventiva, los más eficaces contienen (N, N-dietil-m-toluamida) o permetrina. Hay que instruir a la población en su uso, los repelentes con DEET (N.M-dietil-3-metilbenzamida) o Icaridina (ácido-1 piperadinecarboxílico, 2-2hidroxietil-1-metilpropilester) (OMS, 2009), se pueden aplicar directamente sobre la piel o la ropa, por el contrario la permetrina únicamente sobre la ropa y NO sobre la piel por ser altamente irritativa. No se debe aplicar repelente debajo de ropa, heridas o piel irritada. La duración de protección de repelentes con DEET va a depender de la temperatura, la cantidad de sudoración y la exposición al agua (UNICEF-Argentina, 2010).

k) Temefos

Generalidades

El temefos (Temefos: o, o-dimetilfosforotioato o-diéster con 4,4' tiodifenol) se trata de un plaguicida organofosforado no sistémico que actúa por contacto e ingestión, conocido comúnmente por una de sus formulas comerciales de mayor uso en las Américas, el Abate;



de gran uso en programas de salud pública para el control de larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Rap-al, 2006).

Mecanismo de Acción

El mecanismo de acción sobre la larva consiste en la interferencia de la transmisión de los impulsos nervioso por inhibición de la colinesterasa. Entre sus propiedades fisicoquímicas cabe destacar que es muy poco soluble en agua, se hidroliza con ácidos fuertes y bases. Según estudios en medios acuáticos presentan una relativa degradación rápida en un periodo de 15 a 17 días. Se descompone al ser calentada a temperaturas entre los 120 y 125 °C o al ser quemada, produciendo vapores tóxicos como oxido de fosforo y azufre (Rap-al, 2006).

Usos

Se puede utilizar el temefos de manera industrial o urbana. En el medio urbano comúnmente es utilizado para control de formas larvarias de diversos insectos comúnmente los voladores como moscas y mosquitos. Es de común uso en animales como arañas, alacranes, chinches, cucarachas, pulgas, hormigas, triatominos, etc.

Su aplicación puede efectuarse tanto en medios acuáticos como terrestres y aéreos. En el aspecto sanitario, es de común y especial uso para el control de larvas de mosquitos de *Aedes aegypti*, principalmente, por ser agente transmisor de diversas enfermedades vectoriales en el hemisferio occidental. Para eliminar las larvas de *Aedes aegypti* en fase de desarrollo, los depósitos de agua donde se aplica van desde distintos recipientes de uso domestico como jarras, cestos, piletas, fosas, barriles, canaletas; así como charcos, estancadas, lagos, lagunas y pantanos (Rap-al, 2006).

Resistencia

El uso del temefos se aumentó desde la década de 1950, a partir de la década de 1980 las investigaciones que cuestionaban su uso y eficacia en países norteamericanos y asiáticos, incrementaron. En los 90's a nivel de Latinoamérica se dispararon las investigaciones vinculadas a esta problemática que brindaran una explicación al aumento de fracaso en las medidas preventivas donde se hacía uso de este u otro tipo de insecticida de alto consumo.



Así en el siglo XXI las investigaciones han continuado con el fin de explicar precisamente a través de qué mecanismos el mosquito ejerce su resistencia. (Vega, G. R., 2011)

Entre los factores que más contribuyen al desarrollo de resistencia a los distintos tipos de agresores son 1) la frecuencia de aplicación 2) Tasa de Reproducción 3) Dosis y Persistencia del efecto del insecticida

Frecuencia de aplicación

La tasa de aumento de resistencia puede incrementar fácilmente ante la presión de selección frecuente de un mismo tipo de insecticida.

Tasas de reproducción

Cuando los insectos presentan altas tasas de reproducción y ciclos de vidas cortos pueden desarrollar resistencia a una velocidad mayor a comparación de las especies que tienen una menor tasa de reproducción, debido a que los genes de resistencia pueden propagarse rápidamente a toda la población (Vega, G. R., 2011)

Dosis y persistencia del efecto insecticida

La propiedad que presentan los insecticidas para persistir en el tiempo depende las propiedades fisicoquímicas de estos, su formulación y tasa de disipación en el medio ambiente, de forma que los insecticidas persistentes pueden proporcionar una presión de selección constante sobre las poblaciones de mosquitos. Si bien la eliminación del insecticida es lenta, puede existir una dosis subletal que va influyendo poco a poco en el desarrollo de la resistencia (Vega, G. R., 2011).

Mecanismos de resistencia

Existen 4 clases de mecanismos de resistencia según Miller 1988. Resistencia por comportamiento, por penetración disminuida, Resistencia metabólica y resistencia por modificación en el sitio químico de acción.



Resistencia por comportamiento

Este mecanismo se explica por la modificación del comportamiento del insecto, en donde se ve capacitado para evadir los efectos letales de los insecticidas, evitando el contacto directo con el depósito del insecticida (Vega, G. R., 2011).

Resistencia por penetración disminuida

Conocido como mecanismo físico, existen en el insecto modificaciones en la composición del exoesqueleto que inhibe o impide la penetración del insecticida, las propiedades del tegumento y características moleculares insecticidas afectan la velocidad de penetración del insecticida. En algunos organismos, este mecanismo se puede explicar por el hecho de presentar un alto contenido de proteínas, lípidos y un grado de esclerotización mayor que en otros insectos susceptibles. De tal manera que la mayor cantidad de lípidos puede llegar a ocasionar que la liberación de compuestos liposolubles sea retardado, y permite acceder a un mayor tiempo de detoxificación de los insecticidas (Vega, G. R., 2011).

Modificación en el sitio químico de acción

Es el segundo mecanismo de resistencia más común entre los insectos, ocurre cuando el insecticida no logra unirse a su sitio de acción ya sea porque hay disminución en la sensibilidad del sitio blanco o modificación de este (Vega, G. R., 2011).

• Reducción de sensibilidad de la acetilcolinesterasa (AChE)

La insensibilidad de la AChE ha sido responsable del desarrollo de resistencia a insecticidas en especies de *Culex* y *Anopheles*. Esta resistencia mediada por AChE está relacionada con cambios cualitativos y cuantitativos en la enzima y con mutaciones puntuales acompañadas por modificación de los parámetros cinéticos de la hidrólisis de acetilcolina. Tales mutaciones involucran sustituciones de aminoácidos en el sitio activo de la enzima (Vega, G. R., 2011).

• La resistencia “Knockdown” (kdr) – Canales de Sodio dependientes de voltaje

El blanco de acción de insecticidas organoclorados y piretroides son los canales de sodio dependientes de voltaje en el sistema nervioso. La resistencia ‘Knockdown’ (kdr) hacia los



piretroides es causada frecuentemente por mutaciones no sinónimas en la proteína transmembranal del canal de sodio dependiente de voltaje (para), la cual reduce la unión de los piretroides. El gen que codifica para el canal de sodio en insectos, se denomina “para” y fue identificado en *Drosophila spp.* La secuencia de aminoácidos de las subunidades alfa codificados por el gen para analizarlos en conjunto tiene una gran similitud. Cada uno de los genes consiste de cuatro dominios homólogos repetidos (I-IV) con seis segmentos transmembranales (S 1-6) en cada dominio (Vega, G. R., 2011).

- **Resistencia metabólica**

Este mecanismo comprende la acción de enzimas capaces de detoxificar los insecticidas, antes que puedan alcanzar su sitio de acción. Se divide en tres grupo enzimáticos y son: Oxidasas de función múltiple, Esterasas y Glutation S-Transferasas

Las Oxidasas de Función Múltiple o monooxigenasas del grupo P-450, son enzimas ubicadas en el retículo endoplasmático liso que pertenecen a una superfamilia de hemoproteínas, responsables del metabolismo oxidativo de componentes xenobióticos. Su función es realizar reacciones que aceleran la eliminación del organismo de gran número de compuesto xenobióticos, se pueden combinar con moléculas endógenas con características polares y formar productos de conjugación que se puedan eliminar fácilmente (Bisset J., 2002).

Los organofosforados presentan en su estructura química por esterases, las esterases son las enzimas encargadas de catalizar reacciones de hidrolisis de esterases carboxílicos, amidas y esterases de fosfato. En insectos del orden Díptera, dichas enzimas se codifican como un grupo de genes en un mismo cromosoma con la capacidad de presentar modificaciones que brindan la resistencia.

El grupo que corresponde las Glutation S Transferasas, presenta alta importancia como mecanismo de desintoxicación celular. Son enzimas encargadas de conjugar el glutati6n end6geno a compuestos electrofílicos con el fin de proteger moléculas como proteínas y ácidos nucleicos de reacciones covalentes con insecticidas que conllevan a alta toxicidad (Ranson, Claudianos, Orтели, Abgrall, & Sharakhovam, 2002). Este sistema es conocido por su resistencia a insecticidas organofosforados y de forma determinante ante el



organoclorado DDT el cual es transformado a DDE (Diclorodifenildicloetileno) (Ortelli F & Ranson, 2003).

- **Cepa Rockefeller**

Existe una cepa de referencia de *A. aegypti* susceptible a insecticidas, suministrada por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), San Juan, Puerto Rico. La cual ha sido utilizada de manera comparativa en los diversos estudios realizados a nivel de latinoamérica, que por su sensibilidad marcada es de gran utilidad al comparar con las distintas cepas extraídas en las comunidades que presentan exposición a todo tipo de insecticidas.



2. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1. Tipo de Estudio

Por su naturaleza, este estudio es de tipo experimental. De acuerdo a la ocurrencia de los hechos en el tiempo, el presente estudio es de corte transversal.

2.2. Área de Estudio

Se seleccionó muestras de la población de *Aedes aegypti* del Barrio “Bóer” correspondientes al Distrito II, Managua, en el periodo de febrero- marzo 2016

2.3. Universo

Fueron 6 manzanas del barrio “Bóer”, Managua en hogares con criaderos que contenían larvas del mosquito *Aedes aegypti*, las cuales estaban presentes (desarrolladas) de forma no intencional.

2.4. Muestra

Las muestras se originaron de las casas que presentaron criaderos de larvas de *Aedes aegypti* las cuales se cultivaron en condiciones de laboratorio supervisadas para observar su respuesta ante el agente administrado que posteriormente se trasladaron a un segundo criadero diseñado según estas vivieran o murieran.

2.5. Muestreo

El muestreo fue aleatorio simple de grupos o conglomerados, que incluye población del barrio Bóer, 6 Sectores, las casas fueron seleccionadas de forma intencional o por conveniencia ya que presentaban criaderos de larvas al momento de la inspección.

En el croquis del barrio se procedió a enumerar las manzanas y posteriormente en una bolsa de papel se introdujeron los números y escogimos seis números para cada una de las manzanas seleccionadas del barrio “Bóer”.



2.6. Criterios de selección

Los sitios fueron elegidos considerando criterios de selección como importancia epidemiológica, alta transmisión de dengue, fácil accesibilidad, situación de orden público manejable y reporte de altos índices aédicos de tal forma que fueran sitios de prioridad para la realización de medidas de control con el uso de insecticidas organofosforados.

2.7. Técnicas y Procedimientos

a. Recolección del Material Entomológico

Las viviendas fueron seleccionadas de forma aleatoria de cada una de las manzanas del barrio por cuadrante o sector, se inspeccionó criaderos potenciales de *Aedes aegypti* como tanques bajo techos y a la intemperie, canaletas, llantas empleadas como bebederos de agua para animales y floreros en los que se recolectaron larvas de los cuatro estadios y pupas, éstas fueron depositadas en frascos de 600 ml utilizando agua del mismo criadero y se transportaron al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN - Managua).

2.8. Obtención de la primera generación de Aedes aegypti en el laboratorio

Las larvas obtenidas en campo que resistieron la dosis establecida se trasladaron a bandejas plásticas de 30,5 x 20 x 10 cm con agua libre de cloro. Las larvas se alimentaron diariamente con comida para perro triturada hasta que alcanzaron el estadio de pupa. Posteriormente las pupas se separaron en platos petris llenos con agua declorada, dentro de una jaula-contenedora, hasta la emergencia del adulto; éstos se liberaron en jaulas de cría.

Los mosquitos liberados en la jaula, se les colocó una torunda de algodón con solución azucarada al 10 % y gasa humedecida para la alimentación de los mosquitos y mantenimiento de la humedad respectivamente, y las hembras se alimentaron cada tercer día con sangre humana en torundas de gasas. Para la obtención de los huevos, se colocó en la jaula un vaso desechable de 3,5 onzas con toallas de papel absorbente en su interior y un tercio de volumen de agua declorada.

NOTA: No se obtuvo la Generación F1 a pesar de las medidas recomendadas por lo que no se logró llevar a cabo la replicación del procedimiento en ellas.



2.9. Evaluación de la susceptibilidad de Aedes aegypti al insecticida

Temefos

Se siguió el protocolo descrito por la OMS/OPS (1980). Para establecer la línea de base, las larvas fueron sometidas a concentraciones seriadas entre 0.002 y 0.08 ppm del insecticida Abate (1%) grado técnico. De cada concentración a evaluar se realizó dos replicas y un control, cada una sobre aproximadamente 20 larvas. La mortalidad se registró a las 24 horas post-exposición. Las larvas que pasaron a estadio de pupa durante la prueba se trasladaron a la jaula-cría. La dosis diagnóstica determinadas para temefos por la OMS es 0.02 ppm. Esta dosis se utilizó para determinar el nivel de resistencia de la población de larvas de *Aedes aegypti* de la localidad de estudio.

2.10. Determinación de Grados de Resistencia

El insecticida que se empleó para los ensayos de larvas es el insecticida grado técnico temefos (O, O, O´O´-tetrametil – O, O´- tiodi p-fenilendifosforotionato). Se establecieron concentraciones de temefos 8000 ppm, 7000 ppm, 6000 ppm, 5000 ppm, 2000 ppm, 1000 ppm y 200 ppm, esta última fue la solución de trabajo inicial. El material biológico empleado en los ensayos correspondió a las larvas obtenidas directamente de los sectores bajo estudio.

Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología recomendada por la OMS (1980) para las 6 muestras de las poblaciones de estudio. Con el fin de determinar los grados de resistencia de cada población, se evaluaron en promedio de seis a ocho concentraciones del insecticida que registraron mortalidades entre el 2% y 98%. La concentración de referencia inicial evaluada fue la dosis diagnóstica de temefos reconocida internacionalmente: 0.012 ppm (mg/L) y recomendada por la OMS.

Para cada concentración de temefos evaluada por población, se realizaron de 1 a 2 ensayos, los cuales estuvieron constituidos por dos réplicas (cada una estuvo representada por un plato petri de 60 ml el cual contenía insecticida calculado por pesa analítica). A cada plato petri se le adicionó la concentración específica de temefos obtenida a través de pesa analítica. Luego se adicionaron en seco de 15 a 25 larvas de tercer estadio tardío a cuarto



estadío temprano. La lectura de mortalidad se realizó a las 24 horas post-exposición empleando el criterio de la OMS: se consideraron como muertas las larvas que al ser perturbadas no presentaron movimientos normales ni anormales de tal manera que si se encuentran en la superficie del agua, no eran capaces de sumergirse hasta el fondo del recipiente o de lo contrario, si estuviesen en el fondo no eran capaces de nadar hasta la superficie en un tiempo no mayor a un minuto.

Las larvas con un movimiento anormal al mínimo estímulo en un periodo menor a un minuto fueron clasificadas en un grupo especial sin sensibilidad ni resistencia específica.

Los datos del bioensayo se consignaron en un formato, donde se registraron las condiciones ambientales en las que se desarrolló la prueba como temperatura y humedad, y adicionalmente fecha de la prueba y concentración, entre otras.

Los grados de Resistencia cuantifican el nivel de resistencia de una población y se obtiene al dividir una dosis letal 50 o 90 de la cepa de barrio sobre la DL 50 o 90 de la cepa de referencia (Rockefeller). Si el Resultado de esta división resulta menor a 5 indica susceptibilidad, entre 5 y 10 moderada resistencia y mayor a 10 una alta resistencia.

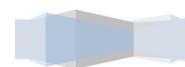
2.11. *Ensayos de la Eficacia del Temefos (Abate)*

a. *Diseño del Muestreo*

Se evaluó una cepa de campo procedente de un barrio de Managua (Barrio Bóer). La cepa de campo se obtuvo mediante búsqueda activa en floreros y contenedores de agua en los barrios antes mencionados así como de contenedores de agua, y todo aquello que pudiera ser considerado un criadero de *Aedes aegypti* en las diferentes localidades.

Las colonias se recolectaron a inicios de Febrero del año 2016 y se mantuvieron en el laboratorio de Microbiología, UNAN-Managua, bajo condiciones controladas de temperatura 26 +/- 2°C y 44% de humedad relativa. El insecticida temefos fue suministrado por el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la UNAN-Managua, garantizando la calidad, almacenamiento y procedencia del producto.

Los ensayos se realizaron siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1980). Se evaluaron nueve concentraciones que oscilaran entre 0,002 ppm y 0,08 ppm, las cuales ocasionaran entre el 2 y 98% de mortalidad, se utilizaron veinte larvas de



cuarto estadio temprano de cada cepa. Para la evaluación, los rangos de concentraciones oscilaron entre 0,002 ppm y 0,08 ppm. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 horas y los resultados se procesaron mediante el paquete estadístico Excel 2010; para obtener las concentraciones letales 50 y 90. Para evaluar la resistencia al temefos de las dos cepas silvestres de *Aedes aegypti* se calculó los factores de resistencia (FR)₅₀, por comparación de las concentraciones letales 50 de las cepas de campo con la cepa de referencia, mediante la siguiente fórmula:

$$FR_{50} = CL_{50} \text{ cepa de campo} / CL_{50} \text{ cepa susceptible (Rockefeller)}$$

Se implementó un diseño de tres factores: cepas de *Aedes aegypti*, recambio de agua, y tiempo de lectura de la mortalidad. El primer factor con dos niveles de cepas obtenidas en criaderos procedentes del barrio; el segundo factor con dos niveles sin y con recambio de agua y el tercer nivel con 12 factores correspondientes a la lectura de la mortalidad cada día, hasta la última semana.



Factor 1.
Cepa

Factor 2
Recambio

Factor 3
Tiempo de Lectura



2.12. Pruebas de Eficacia

Los ensayos biológicos para determinar la eficacia del temefos Abate® se realizaron bajo condiciones controladas de laboratorio; en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN – Managua, Nicaragua. El material biológico empleado en los ensayos correspondió a larvas seleccionadas de sectores del barrio Bóer. A las larvas que resistían determinada dosis se les realizaba recambio de agua y se les aumentaba la dosis de Temefos hasta superar las establecidas por la OMS.

A cada plato petri del tratamiento se le adicionó 0.01 gramo de temefos en gránulos extra al previo luego se realizaba la lectura de mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* entre tercer estadio tardío y cuarto temprano posterior a la adición del insecticida, a las 24 horas pos exposición.

Una vez se realizó la lectura, las larvas que fueron expuestas en cada vaso, se retiraron y eliminaron. Los datos se registraron en el formato diseñado para tal fin. Los procedimientos descritos para el tratamiento sin recambio, se realizó diariamente durante 3 semanas



agregando larvas diario durante este tiempo y siguiendo la metodología descrita para la evaluación a tiempo 0.

1.1. Evaluación de la Eficacia y Persistencia de Temefos 1 ppm (Abate)

Para medir la eficacia de este organofosforado se seleccionó los criaderos diseñados por los investigadores en el laboratorio de Microbiología ubicado en la UNAN - Managua, de las cuales la mitad fueron utilizados en la aplicación de Abate y la otra mitad fueron el control. La presencia y densidad de larvas y adultos de *Aedes aegypti* se estimará en estos criaderos durante cuatro semanas iniciales de muestreo (Semanas Pre-Tratamiento)

La densidad de larvas, pupas, pieles de pupas y adultos se seguirá muestreando de igual forma y bajo el mismo esquema empleado las semanas pre-tratamiento en las semanas posteriores a la aplicación de Abate con el fin de determinar la persistencia de este larvicida mediante la comparación de las medidas geométricas del No. Larvas/Depósito, No. Pupas/Depósito, No. Pieles Pupas/Depósito, No. de Mosquitos/Depósitos.

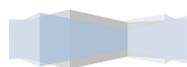
1.2. Enunciación de Variables

- **Objetivo 1: Establecer los grados de resistencia al temefos (GR50 y GR90) en las poblaciones de *Aedes aegypti* evaluadas en los criaderos diseñados en el laboratorio.**
 - Resistencia
 - Grado de Resistencia 50 (GR50)
 - Grado de Resistencia 90 (GR90)
 - Dosis Letal 50 (DL50)
 - Dosis Letal 90 (DL90)

- **Objetivo 2: Evaluar en condiciones de laboratorio la eficacia del temefos (Abate ®), con y sin recambio de agua, en larvas de *Aedes aegypti* que presenten grados de resistencia.**
 - Eficacia
 - No de Larvas/Criadero



- No de larvas que evoluciona a pupas/Criadero
 - No. de Pieles de Pupas/Criadero
 - No. de Depósitos Positivos postexposición
-
- **Objetivo 3: Determinar la susceptibilidad de la cepa en estudio mediante la dosis diagnóstica según los criterios de la OMS**
 - Dosis diagnóstica
 - No. de larvas vivas
 - No. de larvas muertas



1.3. Operacionalización de las Variables

Establecer los grados de resistencia al temefos (GR50 y GR90) en las poblaciones de *Aedes aegypti* evaluadas en los criaderos diseñados en el laboratorio.

Variables	Concepto Operacional	Indicador	Valores	Tipo/Escala
Resistencia	Propiedad que tienen las larvas del mosquito <i>Aedes spp.</i> , para tolerar el Abate	No. de Larvas Vivas	✓ GR50	Cuantitativa
			✓ GR90	
			✓ DL50	
			✓ DL90	
Grado de Resistencia 50	Mitad de larvas que no mueren con la aplicación del abate	No. de Larvas	✓ GR50	Cuantitativa
Grado de Resistencia 90	Porcentaje de Larvas que no mueren con la aplicación del abate	No de Larvas	✓ GR90	Cuantitativa
Dosis Letal 50	Dosis de Abate que resulta mortal para la mitad de larvas de prueba.	No de Larvas	✓ DL50	Cuantitativa
Dosis Letal 90	Dosis de Abate que resulta mortal para el 90% de larvas de prueba.	No. de Larvas	✓ DL90	Cuantitativa



Evaluar en condiciones de laboratorio la eficacia del temefos (Abate ®), con y sin recambio de agua, en larvas de *Aedes aegypti* que presenten grados de resistencia superiores a 10.

Eficacia	Capacidad de alcanzar el efecto que se espera o se desea tras la aplicación de abate en los criaderos	No. de Larvas Vivas	✓ No. de Larvas/Depósito ✓ No. de Pupas/Depósito ✓ No. de Pielas de Pupas/Depósito ✓ No. de Depósitos Positivos	Cuantitativa
No. de Larvas/Depósito	Cantidad de larvas presentes en los criaderos posterior a la aplicación de abate	No. de Larvas/Depósito	✓ No. de Larvas Depósito	Cuantitativa
No. de Pupas Depósito	Cantidad de Pupas presentes en los criaderos posterior a la aplicación de abate	No. de Pupas/Depósito	✓ No. de Pupas/Depósito	Cuantitativa
No. de Pielas de Pupas/Depósito	Cantidad de Pielas de Pupas presentes en los criaderos posterior a la aplicación de abate	No. de Pielas de Pupas/Depósito	✓ No. de Pielas de Pupas/Depósito	Cuantitativa
No. de depósitos positivos	Cantidad de criaderos con pupas o larvas posterior a la aplicación de abate	No. de Depósitos Positivos	✓ No. de Depósitos Positivos	Cuantitativa

Determinar la susceptibilidad de la cepa en estudio mediante la dosis diagnostica según los criterios de la OMS

Dosis diagnóstica	Muerte de más de 20% de larvas con dosis diagnostica de 0.02 ppm	No. de larvas vivas No. de larvas muertas	✓ No. de larvas vivas ✓ No. de larvas muertas	Cuantitativo

1.4. Cruce de Variables

- 1 Porcentaje de Mortalidad (No. De larvas vivas /muertas)
- 2 Dosis Letal 50/90 para cepa en estudio / Rockefeller
- 3 Grado de Resistencia de cepa de estudio / cepa de Referencia
- 4 Eficacia Abate / larvas vivas asociadas a recambio (u otra forma estadal)
- 5 Dosis diagnostica / Mortalidad Cepa en estudio
- 6 Concentraciones letales relacionados a grados de resistencia
- 7 Eficacia con/sin recambio Rockefeller vs cepa en estudio
- 8 Mortalidad con el tiempo de recambio o sin recambio
- 9 Relación eficacia cepas resistentes vs cepa Rockefeller
- 10 Mortalidad con Recambio y sin recambio

1.5. Procesamiento de la Información

Para procesar los datos se construyo una base de datos en el paquete estadístico SSPS versión 19 donde se introdujeron los datos dosis diagnostica, grados de resistencia, eficacia con y sin recambio y susceptibilidad.

1.6. Plan de Tabulación y Análisis

Se realizaran dos tipos de análisis:

- 1) Descriptivo: se obtendrán datos de frecuencias y porcentajes



- 2) Determinar las diferencias en la mortalidad tomando la cepa, recambio y tiempo, se empleará un análisis de varianza de factores y se calculará la estadística descriptiva la cual incluye promedio, desviación estándar, valores mínimos y máximos observados, intervalo de confianza al 95 % y coeficiente de variación.

1.7. Consideraciones Éticas

No hay involucración de seres humanos, sin embargo se dispondrá de las medidas preventivas básicas para evitar la propagación masiva del vector. Por medio de consentimiento verbal se dispondrá de acceso a criaderos de hogares en barrios bajo estudio.



3. RESULTADOS

Se establecieron los grados de resistencia al insecticida temefos en las poblaciones de *Aedes aegypti* evaluadas en los criaderos diseñados en el laboratorio para lo cual fue necesario diseñar la siguiente tabla

Tabla 1. Mortalidad de Larvas de *Aedes aegypti* según dosis diagnóstica empleadas en condiciones de laboratorio.

Dosis Diagnóstica (Concentración)	Réplicas	No. Barrio "Bóer"	Mortalidad	Evoluciones		Afectación del Movimiento
				Pupas	Adultos	
0.0026	2	26	88.4% (23 Larvas)	3.8% (1Pupa)	0%	7.6% (2 Larvas)
0.003	2	30	0%	5% (1 Pupa)	0%	0%
0.02	3	29	0%	20.6% (6 Pupas)	17.2% (5 Adultos)	0%
0.03	2	20	50% (10 Larvas)	0%	0%	10% (2 Larvas)
0.04	2	20	60% (12 Larvas)	0%	0%	20% (4 Larvas)
0.05	2	20	60% (12 Larvas)	0%	0%	30% (6 Larvas)
0.06	2	18	38.8% (7 Larvas)	0%	0%	0%
0.07	2	18	77.7% (14 Larvas)	0%	0%	0%
0.08	2	20	100% (20 Larvas)	0%	0%	0%

Fuente: Ficha de Recolección de la Información

Todas las replicas se realizaron bajo una humedad de 44% y temperatura de 24.1°C

Se realizaron dos replicas por cada dosis diagnóstica iniciando con el intervalo de dosis recomendado por la OMS, para la cual se obtiene una mortalidad para la dosis mínima y dosis máxima de 88.4% y 0% respectivamente.

Además se observó que durante la exposición a estas concentraciones algunas larvas les daba tiempo de evolucionar a pupas, y; las pupas que ya estaban expuestas al abate lograban evolucionar a adultos sin dificultad encontrando conversión de larvas con la dosis

mínima y dosis máxima de 3.8% y 20.6% para la evolución a pupa respectivamente, y 17.2% para la evolución de pupa a mosquito.

Con las dosis diagnóstica por encima de la recomendada por la OMS se observa que de 20 larvas que se encontraban en los platos petris, el 50% de ellas fallecía al exponerse a dosis de 0.03 ppm y que 10% de las mismas presentaban alteración en el movimiento. Por otra parte, a medida que se incrementaban las concentraciones se registró mortalidades de 60% y 20% de afectación del movimiento para las larvas expuestas a 0.04 ppm de abate; 60% de mortalidad y 30% de afectación del movimiento para aquellas expuestas a dosis de 0.05 ppm de abate; 38.8% de mortalidad sin afectación del movimiento para aquellas expuestas a dosis de 0.06 ppm de abate; 77.7% de mortalidad sin afectación del movimiento para aquellas expuestas a concentraciones de 0.07 ppm de abate y finalmente mortalidad del 100% a la dosis diagnóstica de 0.08 ppm de abate.

Por lo que ante lo expuesto anteriormente se construyó el siguiente cuadro para evidenciar las dosis letales 50 y 90 de abate para las larvas desarrolladas en condiciones de laboratorio:

Tabla 2. Dosis Letales 50 y 90 (DL50 y DL90) encontradas para las larvas de *Aedes aegypti* durante el estudio.

Dosis Letales	Barrio "Bóer"	Grado de Resistencia (Dosis Diagnóstica/Recomendada por la OMS)
DL50	0.07	3.5
DL90	0.08	4

Fuente: Ficha de Recolección de la Información

En la cual se observa que las Dosis Letales 50 y 90 encontradas son 0.07 y 0.08 ppm de abate respectivamente, determinando a partir de estas el grado de resistencia que en nuestro caso se realizó directamente con la dosis recomendada por la OMS ya que no fue posible

conseguir la Cepa Rockefeller, encontrando el grado de resistencia en 3.5 y 4 respectivamente.

Al momento de observar la mortalidad según las horas postaplicación de abate se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 3. Seguimiento semanal de las larvas del mosquito *Aedes aegypti* según dosis diagnóstica del larvicida temefos y registro de mortalidad.

Volumen	Dosis Diagnóstica (Temefos)	No. Larvas previa aplicación de Temefos	Larvas después de 24-72 horas de tratamiento				
			N	Mortalidad	1ra. Semana	2da. Semana	3ra. Semana
60 ml	0.0026	26	03	88.4%	03	00	00
60 ml	0.003	30	30	0%	29	00	00
60 ml	0.02	29	29	0%	13	00	00
60 ml	0.03	20	10	50%	10	00	00
60 ml	0.04	20	08	60%	08	00	00
60 ml	0.05	20	08	60%	08	00	00
60 ml	0.06	18	11	38.8%	11	00	00
60 ml	0.07	18	04	77.7%	04	00	00
60 ml	0.08	20	00	100%	00	00	00

Fuente: Ficha de Recolección de la Información

En la Tabla 3 es posible observar la persistencia de las larvas en agua tratada con diferentes dosis del abate (Temefos), las cuales fueron observadas durante tres semanas. Sin embargo, solo lograban sobrevivir en forma larvaria una semana ya que a pesar de estar expuestas a estas dosis de abate lograban evolucionar a estadio de pupa y adultos, tal como se observa en la tabla 4.



Tabla 4. Evolución de las larvas de *Aedes aegypti* a pupas y adultos durante las semanas de seguimiento.

Dosis Diagnostica de Temefos	No. Larvas Postaplicación de Temefos	Semanas de Tratamiento									
		1ra. Semana			2da. Semana			3ra. Semana			
		L	P	A	L	P	A	L	P	A	
0.0026	03	03	00	00	00	03	00	00	00	00	03
0.003	30	30	00	00	00	11	00	00	00	00	11
0.02	29	29	00	00	00	1	00	00	00	00	1
0.03	10	10	00	00	00	10	00	00	00	00	10
0.04	08	08	00	00	00	08	00	00	00	00	8
0.05	08	08	00	00	00	05	00	00	00	00	5
0.06	11	11	00	00	00	10	00	00	00	00	10
0.07	04	04	00	00	00	00	00	00	00	00	00
0.08	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00

Fuente: Ficha de Recolección de la Información

Nota: Algunas larvas murieron posterior a las 72 horas, sin embargo como no es objetivo del presente estudio registrar la mortalidad posterior a este tiempo no se registra en las tablas.

En la tabla 4, se observa como la misma cantidad de larvas que fueron expuestas a una dosis determinada del larvicida temefos logran evolucionar al estadio de pupa, sin embargo no todas logran realizarlo, ya que algunas de ellas registran mortalidad después de las 72 horas; es por eso, que se observa diferencia en cuanto a la cantidad de larvas durante la primera semana y al llegar a la segunda y tercera semana la cantidad de pupas y adultos en los criaderos es nula.



4. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

En el período de estudio las larvas de mosquito desarrolladas bajo condiciones de laboratorio correspondieron a la especie *Aedes aegypti*, las cuales fueron observadas bajo estereoscopio para determinar las características morfológicas de cada una, así como el estadio larvario. Dicha observación fue reafirmada en el momento que algunas de ellas lograban evolucionar hacia el estadio final de adulto, en donde las diferencias entre los diferentes mosquitos son más marcadas (Nelson, 1986). Se determinó la mediana de larvas por plato petri, la cual fue de 20 larvas por cada recipiente (**Tabla No. 1**).

Se realizó el estudio con 10 platos petris, ya que el total de larvas que se logró desarrollar en el laboratorio corresponde a 344 larvas, a las cuales no se les realizó recambio de agua, ya que aquellas a las cuales se les realizó fallecían a pesar de estar expuestas a dosis bajas de abate o sin abate en algunos casos, por lo cual consideramos que ellas crean su propio medio durante la fase de huevo que les permite sobrevivir en el agua sin recambio y evolucionar hasta adultos. Por lo anterior, los experimentos realizados con recambio fueron descartados en este estudio.

El tratamiento con las dosis iniciales de temefos no redujo en 24 horas la cantidad de larvas en los criaderos, sin embargo cuando llevamos la concentración a 0.08 ppm la presencia de larvas se redujo en su totalidad a 0 larvas por depósito ($p < 0,05$), resultando con esta dosis diagnóstica en un porcentaje de mortalidad de 100% en las primeras 12 horas. Sin embargo, con las dosis recomendadas por la OMS y las dosis empleadas en el estudio no se observó la presencia de larvas de *Aedes aegypti* en los platos petris postratamiento, a pesar de que contenían cada uno de ellos 60 ml de agua tratada con abate, del sitio de recolección, durante las tres semanas de evaluación, para garantizar de esta forma el medio creado por las mismas (**Tabla No. 2**).

En cuanto al porcentaje de mortalidad de larvas en los ensayos de laboratorio con las muestras de agua procedentes de los recipientes positivos de los hogares del barrio seleccionado, los cuales fueron tratados con temefos a dosis comprendidas entre 0.001-



0.08 ppm, se encontró que fue superior a medida que se aumentaban las dosis durante la evaluación, siendo mayor el porcentaje de mortalidad en la tercera semana ($p < 0,05$). Sin embargo, es necesario recalcar que durante la primera semana se registró una mortalidad marcada con la dosis mínima recomendada por la OMS, lo cual consideramos puede deberse a un bajo aporte de nutrientes en este primer experimento.

Se evidenció la eficacia del control larvicida sobre el *Aedes aegypti* con el temefos en su formulación granulada al 1% con un depósito aproximado de 0.08 ppm en las evaluaciones realizadas en las larvas desarrolladas en condiciones de laboratorio durante las tres semanas de evaluación, lo cual es similar a la situación observada en el estudio realizado en Lima-Perú, en donde aplicaron aproximadamente 1 ppm en los depósitos caseros y observaron que no había presencia de larvas ni aparición de las mismas durante las semanas de seguimiento en este estudio (Palomino, M., 2006)

Es necesario destacar que durante los primeros ensayos experimentales con el temefos al 1%, se observó que con la dosis mínima la mortalidad de larvas era mayor en comparación cuando se inició el aumento de las dosis diagnósticas, lo cual puede ser explicado por alguna relación con las características del agua (pH, presencia de iones, fierro) que pueden interferir en la acción del temefos, el lugar donde se encontraban ubicados los recipientes (Dentro del Laboratorio), así como el nivel de infestación que existe en la localidad donde se realizó el estudio, situación que pudo influir en los resultados iniciales con las menores dosis diagnósticas (Palomino, M., 2006)

En las pruebas de laboratorio la efectividad del temefos fue relativa durante las primeras dos semanas, para luego aumentar gradualmente hasta llegar a una mortalidad del 100% en la tercera semana, aspecto que probablemente se explique por el o los factores ya mencionados anteriormente.

De acuerdo a los criterios establecidos por Mazzari y Georghiou para interpretar la resistencia en términos de RR50, se asume que RR 50 inferiores a 5 representan sensibilidad a insecticidas, valores superiores a 5 pero inferiores a 10 suponen una



condición de resistencia incipiente y valores superiores a 10 se relacionan con una resistencia manifiesta. El hecho de haber encontrado susceptibilidad al temefos puede indicar que la forma en que se da la aplicación actual del insecticida es adecuada para el control larval de *Aedes aegypti* en localidades como el Barrio “Bóer” y “Julio Buitrago”. De hecho en el estudio de Bisset y colaboradores se pudo determinar que los formulados comerciales que actualmente se están aplicando son altamente efectivos. Dichos investigadores demostraron que mediante la aplicación de una concentración inicial del 1 ppm y con recambios diarios de agua se logró un 100 % de mortalidad larval hasta los días 11 y 12, lo que denota una adecuada residualidad del químico. Por esta razón, se considera que el temefos sigue siendo una herramienta primordial y efectiva en el control de *Aedes aegypti* en Nicaragua (Bisset Lazcano, 2014).



5. CONCLUSIONES

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio podemos afirmar que:

- La susceptibilidad del 100% de las poblaciones evaluadas al larvicida temefos, sugiere la condición de susceptibilidad generalizada en las poblaciones de *Aedes aegypti* a este larvicida. Por lo tanto este larvicida puede seguir utilizándose como medida de control en caso de brotes o epidemias de dengue acorde a los lineamientos nacionales del Ministerio de Salud de Nicaragua.
- Una única aplicación de abate a la dosis de 0.08 ppm mostró la reducción del 100% de las formas larvarias del mosquito *Aedes aegypti* desarrolladas en condiciones de laboratorio y su efecto duró tres semanas.
- La verificación para vigilancia debe de mantenerse como una opción en nuestro país, ya que si bien es cierto con las dosis diagnóstica de 0.08 ppm fue posible la mortalidad del 100% de las larvas, pero esta dosis ya supera la recomendada por la OMS (1981) y es posible que las formas larvarias de *Aedes aegypti* logren desarrollar resistencia ante la presión de selección, ya que la abatización representa una de las principales formas de prevención del desarrollo del vector en este país.
- Es necesario realizar monitoreo a todas las poblaciones *Aedes aegypti* en el país para implementar estrategias preventivas y métodos alternativos de control pertinentes a cada departamento y municipio; y disminuir la presión de selección a la que están sometidas las larvas bajo la aplicación de este larvicida.



6. RECOMENDACIONES

Al MINSA

- Introducir en los programas de control un constante monitoreo del desarrollo de resistencia. Los resultados de esta investigación demostraron que el control de *Aedes aegypti* de la localidad estudiada, en Managua puede realizarse de forma efectiva, utilizando el larvicida en uso actual para el control vectorial.

A la UNAN (Facultad de Ciencias Medicas)

- Promover el desarrollo de futuras investigaciones que brinden seguimiento y ejecuten otros ámbitos de detección de resistencia del mosquito *Aedes aegypti* en sus distintas formas morfológicas. Un mayor abordaje del comportamiento de susceptibilidad del *Aedes aegypti* nos permitirá un mejor control de su reproducción y diseminación de enfermedades.

A la UNAN (Programa de Practicas Medicas Comunitarias)

- Implementar la adquisición de las formas morfológicas de mosquito *Aedes aegypti* en los estudios de Diagnostico Comunitario, con el fin de brindar dichas muestras para futuras investigaciones.



7. LISTA DE REFERENCIAS

- Bisset, J. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Trópica*, 54(3), 202-219.
- Bisset Lazcano C. (2014). Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Argentina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2014;66(3):360-369, 66(3), 360-369.
- CDC, C. (2001). *Dengue fever information for travelers*. Recuperado el 2 de Marzo de 2014, de <http://www.cdc.gov/travel/dengfvr.htm>
- Harwood, R., & James, M. (1987). *Entomología médica y veterinaria* (Primera Edición). Mexico: LIMUSA.
- Icaza, J. (Abril de 2003). El Mosquito *Aedes aegypti* y el Dengue en México. Ciudad de México, México. Obtenido de <http://www.proteccionambiental.com.ar/%5CpdfPlagas%5CLIBRO-J-THIRIO1.pdf>
- Martínez, F. (1987). *Los Mosquitos de Mexico (Diptera:Culicidae) Taxonomia, Distribucion Geográfica y su importancia en salud publica*. Mexico: UNAM.
- Méndez, J. F., Rivas, M. L., Najera, M. R., Inette, M. G., Canto, S. B., & Sabido, F. (1996). *Proyecto de prevencion y control de dengue 1995-1996. Taller sobre avances recientes en el control de Aedes aegypti basado en la comunidad: Mexico y Honduras*. Merida, Yucatan.
- Palomino M. S, (2006). Evaluación del efecto residual del temefos en larvas de *Aedes aegypti* en Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 23(3).
- Castro M., N. Q. (2007). Evaluación de la eficacia y persistencia de temefos (Abate®) en condiciones de campo para el control de *Aedes aegypti*, vector del dengue en Colombia. *Revista Icosan*.
- Mesa A. Despaigne, T. G. (14 de Enero de 2013). Residualidad del temefos en depósitos domésticos y su efectividad en el control de larvas de *Aedes aegypti* en Honduras. *MEDISAN*, 17(6), 934.



Calderón-Arguedas O., D. A. (2014). Perfil de resistencia a insecticidas en una cepa de *Aedes aegypti* (Linnaeus) de la región Caribe de Costa Rica. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(3), 351-359.

Nelson, M. J. (1986). *Aedes aegypti*. Biología y ecología. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud.

Organización Mundial de la Salud. (2009). *Dengue, Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control*. 73-90.

Rizzo Nidia, R. G.-S. (2012). Dengue vector management using insecticide treated materials and targeted interventions on productive breeding-sites in Guatemala. *Rizzo et al. BMC Public Health*, 12:931.

Maestre Ronald S, (2009). Susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to temefos in Atlántico-Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 35 (2); 35(2), 202-205.

United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF) Argentina. (Noviembre de 2010). Participación social en la prevención del dengue, Guía para el promotor. Buenos Aires, Argentina.

Vega, G. R. (2011). *Determinación de los Grados de Resistencia al Insecticida Temefos en Poblaciones de Aedes aegypti LINNAEUS1762 (Diptera, Culicidae) y su Implicación en la Eficacia del Insecticida en los Departamentos de Cauca, La Guajira, Cundinamarca y el Atlántico*. Colombia: bdigital. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/5347/1/gabrielareyvega.2011.pdf>

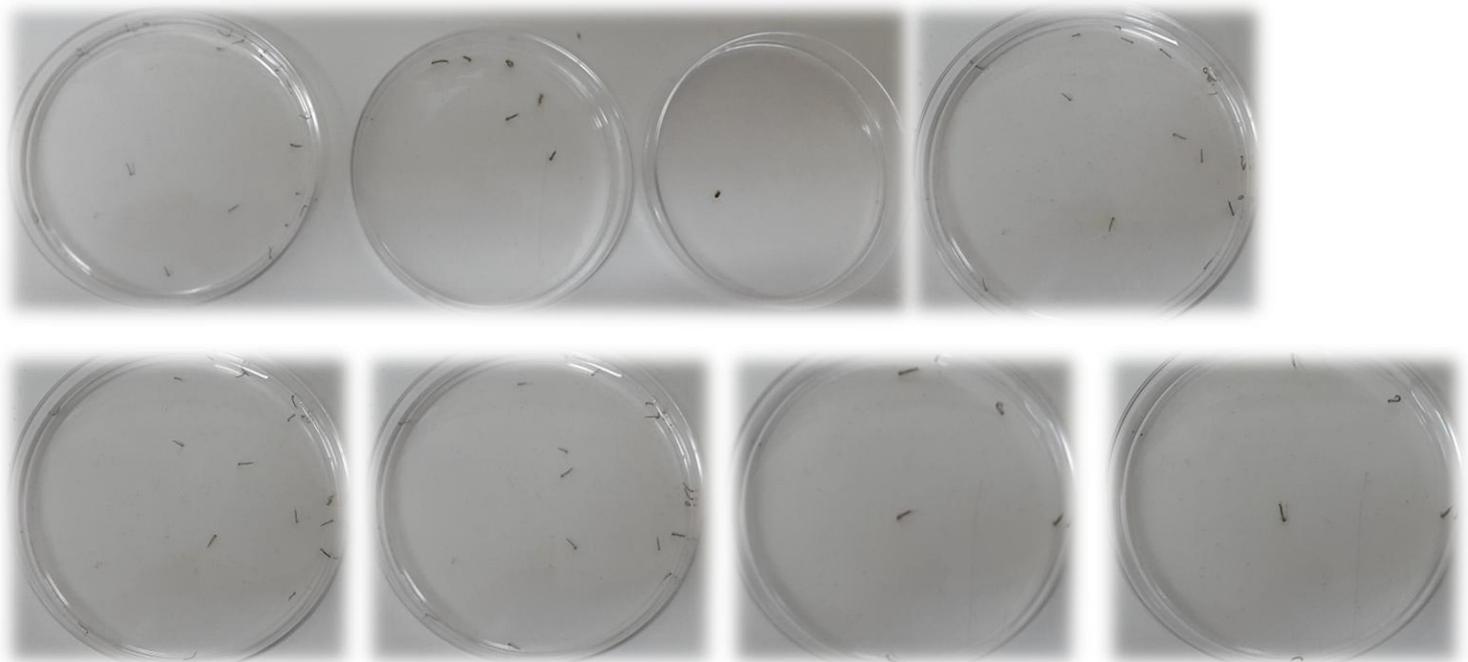


8. ANEXOS

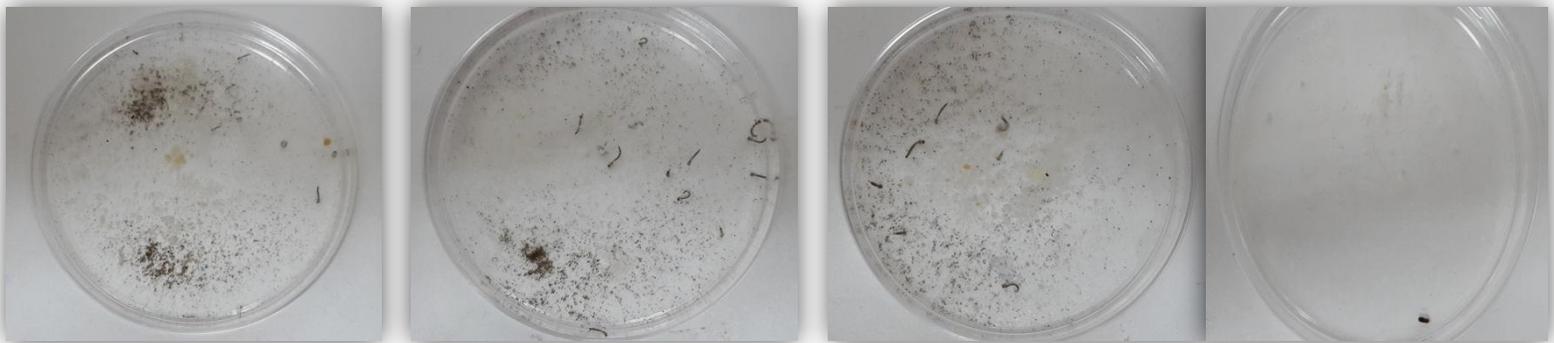
Imagen: 1- Recipiente con Larvas Salvajes y alimentación de las mismas con concentrado canino



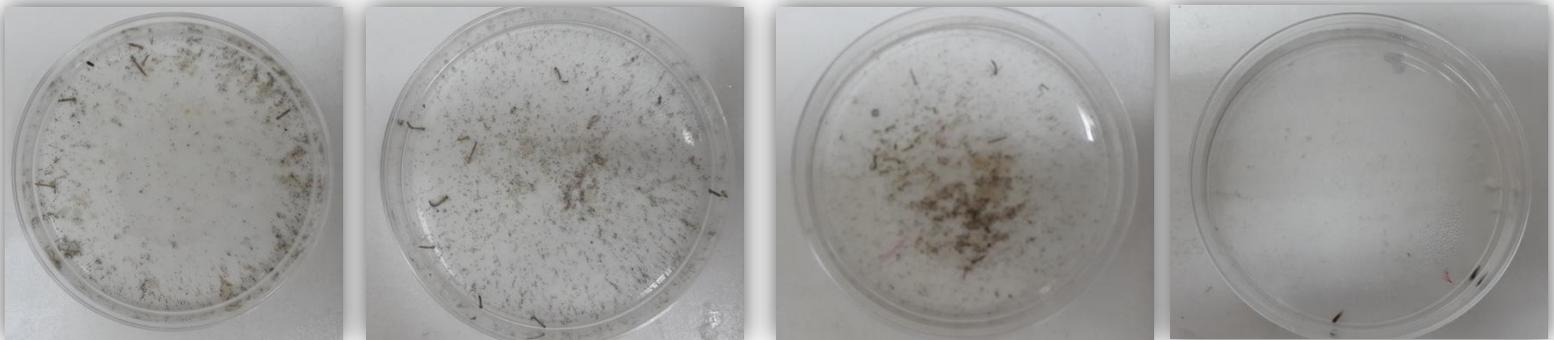
Experimento #1: Aplicación de Temefos (Dosis 0.0026 ppm)



Experimento #2: Preaplicación de Temefos (Dosis 0.003 ppm)



Experimento #2: Postaplicación de Temefos (Registro a las 24 horas)



Experimento "3: Preaplicación de Temefos (Dosis 0.02 ppm)



Imagen #2: Traspaso de las larvas contenidas en el recipiente de recolección de material entomológico a bandeja de aluminio para desarrollo de formas larvianas de larvas del mosquito *Aedes aegypti*.



Experimento #3: Postaplicación de Temefos (Registro a las 24 horas)



Imagen #3: Medición de Temefos en Pesa Analítica

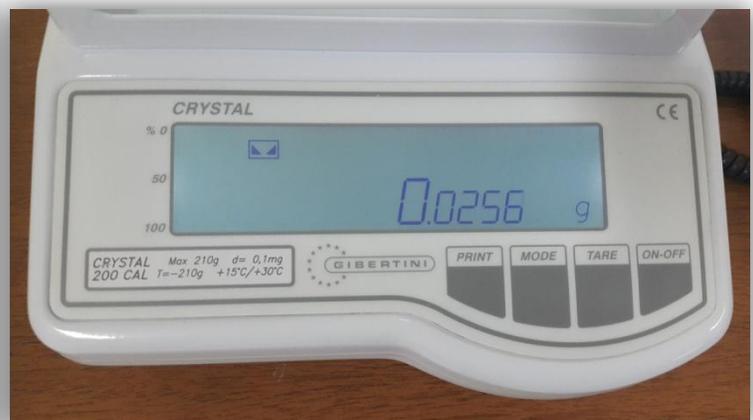


Imagen #5: Mosquitos Oviponiendo en Jaula Diseñada para el desarrollo de formas larvarias-adulto-



Imagen #6: Evolución de Larvas Estadio 4 y aislamiento de pupas.



Imagen #7: Alteración en los Movimientos de las Larvas Estadio 3 y 4, a la dosis que se aprecia en el marcador de la pesa analítica en la imagen de la derecha.

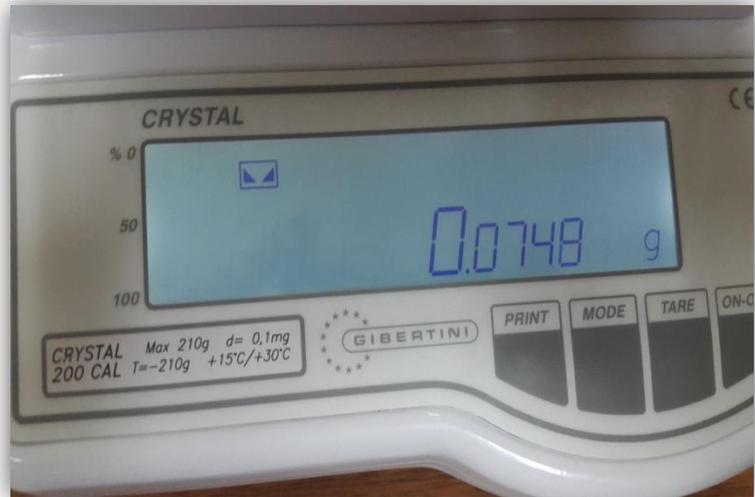
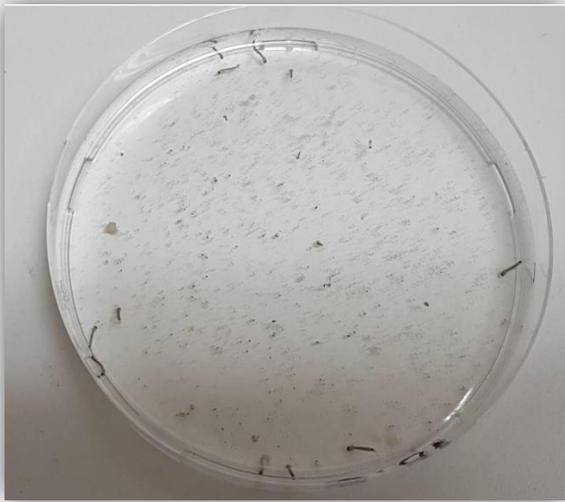


Imagen #8. Larvas sin movimiento posterior a la aplicación de Temefos a la dosis 0.0748 ppm





FICHA TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN



Evaluación de la eficacia de Temefos (Abate®) en condiciones de laboratorio y su utilidad en el control de larvas de *Aedes aegypti*, vector del Dengue y Chikungunya en el barrio “Bóer” Managua, Nicaragua en el período Febrero-Marzo, 2016

Dosis Diagnóstica (Concentración)	# Réplicas	Volumen	# Larvas	Postaplicación			Evolución	Afectación del Movimiento		Dosis Letales		
				Mortalidad				Si	No	DL50	DL90	
				24	48	72	Pupas	Adultos				

