

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RESPUESTA CONDUCTUAL DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)
FRENTE A ADULTICIDAS PIRETROIDES DE USO FRECUENTE
EN SALUD PÚBLICA.**

Por

BIÓL. YURI OLIVIER AYALA SULCA

TESIS

**Como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN
CIENCIAS con especialidad en Entomología Médica.**

Octubre, 2005

**RESPUESTA CONDUCTUAL DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) FRENTE A
ADULTICIDAS PIRETROIDES DE USO FRECUENTE EN SALUD PÚBLICA.**

Comité de Tesis

Dr. Ildefonso FERNANDEZ SALAS
Director de Tesis

Dra. Adriana E. FLORES SUÁREZ
Secretario

Dr. Roberto MERCADO HERNÁNDEZ
Vocal

**RESPUESTA CONDUCTUAL DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) FRENTE A
ADULTICIDAS PIRETROIDES DE USO FRECUENTE EN SALUD PÚBLICA.**

Miembros del Comité Académico de Maestría

Dra. María Guadalupe ALANIS GUZMAN

Dra. Licet VILLAREAL TREVIÑO

Dra. Graciela GARCÍA DÍAZ

Dr. Lucio GALAVIZ SILVA

Dr. Rahim FOROUGHBACKHK

Dr. Benito PEREYRA ALFEREZ

Dra. María Julia VERDE STAR
Subdirector de Estudios de Postgrado

DEDICATORIA

“Oirá el sabio, y aumentará su saber, y el entendido adquirirá consejo (Prov. 1:5). Reten el consejo no lo dejes; guárdalo, porque eso es tu vida (Prov. 4:13). El temor de Dios es el principio de la sabiduría, y el conocimiento del Santísimo es la inteligencia (Prov. 9:10). (Proverbios bíblicos).”

Dedico con especial cariño este trabajo, a mi madre Julia Sulca Vda. de Ayala, ejemplo de cariño y sacrificio permanente por sus hijos y su familia, sin cuyo carácter y perseverancia hubiere sido muy difícil alcanzar las metas que he logrado en la vida. A mis queridos hermanos Iván, Eduardo, Edwin, Alcina, Sandro, Zaira y Zenia, gracias hermanos míos por todas sus muestras de cariño, paciencia y amor permanente, creyeron en mí y creo que no les he defraudado. Con especial recuerdo a mi hermano Jaime Boris (†).

A mi novia Magda Bautista Martínez, por su amor, cariño, paciencia y comprensión permanente a lo largo de este año pese a estar separados por la distancia, tu apoyo fue importante para lograr las metas presentes.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, por alojarme en sus aulas a lo largo de mi permanencia en este bello y generoso país

Al CONACYT, por el apoyo económico y financiamiento de la presente investigación, dentro del proyecto: “Implementación de una ELISA de bloqueo y RT-PCR multiespecies para el diagnóstico serológico y molecular del Virus del Oeste del Nilo en programas de vigilancia epidemiológica. FOMIX NL 2003-C-00112553.

Especial reconocimiento a mi Maestro y Director de Tesis Dr. Ildefonso Fernández Salas, por apoyarme con una beca de estudios, por las muestras de amistad y generosidad, guardo sus consejos y estoy en deuda con usted.

A Rosa María Sánchez Casas, cariñosamente Rossi, por todo su apoyo, generosa comprensión y amistad, sin cuyo apoyo hubiere sido difícil alcanzar las metas presentes.

A mis maestros que contribuyeron en mi formación profesional. Reconocimiento especial al Dr. Roberto Mercado Hernández y la Dra. Adriana E. Flores Suárez, por sus consejos y apoyo en la redacción, análisis estadístico de los resultados e interpretación.

A mí querida madre, hermanos, cuñados y sobrinos, por todo su apoyo, cariño y comprensión a lo largo de estos dos años, y por compartir sus vidas conmigo.

A mis compañeros de generación: Quetzali Siller, Aldo Ortega, Amanda Cavazos, Carolina Álvarez y Pedro Mis, por compartir su amistad y vida académica en estos dos años. Especial reconocimiento a Luís Ibarra, sin cuyo apoyo, disponibilidad, comprensión no hubiere sido posible culminar con la investigación. A mis amigos del Laboratorio de Entomología Médica: Darwin y Armando Elizondo, Saúl Lozano, Karla Saavedra, Guadalupe Reyes, Artemio Barragán, Nidya Rodrigez y Haydee Loaiza.

A mis colegas y amigos de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en Ayacucho-Perú, por su generoso apoyo al haber asumido mi carga académica durante estos años de ausencia. Especial agradecimiento a Fidel R. Mujica Lengua, con quien nos une una sincera amistad de muchos años.

Agradezco a la familia Bautista Martínez, en Perú, en las personas de Sr. Santiago, Sra. Elcira, Marisol, William, Magda y Yuber. Gracias por su amistad y preocupación permanente en el logro de mis objetivos. A todos los amigos tanto de Perú como México, con quienes compartimos momentos muy gratos e inolvidables.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
1. RESUME Y ABSTRACT	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. HIPÓTESIS	5
4. OBJETIVOS.....	6
4.1. Objetivo general.....	6
4.2. Objetivos particulares.....	6
5. ANTECEDENTES	7
5.1. Generalidades.....	7
5.2. Susceptibilidad y resistencia a insecticidas en poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> (L)	10
5.3. Irritación, repelencia y toxicidad a insecticidas en poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> (L).....	17
5.4. Piretroides de uso frecuente en el control de vectores.	29
5.5. <i>Aedes aegypti</i> (L) en México	35
6. MÉTODOS.....	37
6.1 Cámara de ensayo de análisis de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) así como toxicidad.....	37
6.2. Mosquitos.....	38
6.3. Pruebas de respuesta conductual frente a piretroides y concentraciones de exposición	40
6.4. Tiempo y secuencia de las pruebas, condiciones de ensayo y limpieza del sistema (cámara de respuesta conductual)	41
6.5. Ensayos de irritación por contacto	41
6.6. Análisis de repelencia espacial.....	43

6.7. Análisis de toxicidad.....	46
6.8. Análisis de datos	48
7. RESULTADOS	50
7.1. Irritación por contacto	50
7.1.1. DDT	50
7.1.2. Permetrina.....	51
7.1.3. Bifentrina	51
7.2. Repelencia espacial	52
7.2.1. DDT	52
7.2.2. Permetrina.....	54
7.2.3. Bifentrina	54
7.3. Toxicidad.....	55
7.3.1. DDT	55
7.3.2. Permetrina.....	56
7.3.3. Bifentrina	58
8. DISCUSIÓN.....	63
8.1. DDT	64
8.2. Permetrina	68
8.3. Bifentrina.....	70
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
10. LITERATURA CITADA.....	74
11. APÉNDICE	82

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I Respuestas de hembras de <i>Aedes aegypti</i> (L) ¹ en el análisis de irritación por contacto a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.....	53
II Respuestas de hembras de <i>Aedes aegypti</i> (L) ¹ en el análisis de repelencia espacial a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.....	60
III Derribe (KD) y mortalidad (MORT) de hembras de <i>Aedes aegypti</i> (L) ¹ en el análisis de toxicidad a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina	61
IV Análisis bifactorial de respuestas de derribe (KD) y mortalidad (MORT) en pruebas de toxicidad de hembras de <i>Aedes aegypti</i> (L) frente a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina	62
V Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de irritación por contacto	82
VI Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de repelencia espacial.....	83
VIII Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de toxicidad	84

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Una mejora a la técnica del sistema de estudio de comportamiento de éxito repelencia (Chareonviriyaphap <i>et al.</i> , 2002).....	25
2. Sistema de diseño modular HITSS para evaluar respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) y toxicidad. (Grieco <i>et al.</i> , 2005).....	28
3. Componentes del sistema de diseño modular HITSS para evaluar respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) y toxicidad.	37
4. Bandeja de organización conteniendo los tubos provistos de insectos para las pruebas de respuesta conductual.....	39
5. Preparación de las redes de tratamiento aplicando las formulaciones de insecticidas en las dosis a evaluar (tamaño de la red: 275 cm ²).	40
6. Ensamblado del equipo para la prueba de irritación por contacto.....	42
7. Prueba de irritación por contacto (obsérvese la cubierta de paño oscuro que cubre los puertos de visión en la tapilla y el cilindro claro).	43
8. Ensamblado de los componentes del sistema de evaluación de repelencia espacial.	44
9. Sistema ensamblado para la prueba de repelencia espacial.....	44
10. Transferencia de mosquitos al cilindro claro del sistema de repelencia espacial.	45
11. Ensamblado del sistema HITSS para la prueba de toxicidad.....	47
12. Vasos de recuperación con los insectos sometidos a la prueba de toxicidad (las torundas de algodón contienen azúcar al 10%).....	48

1. RESUMEN

El *Aedes aegypti* (L), vector primario del dengue y fiebre amarilla, exhibe resistencia a varios insecticidas, situación que impone muchos problemas en los programas de control del vector en varios países. Un sistema modular y novedoso de prueba para la investigación total y rápida de los insecticidas químicos fue utilizado en la presente investigación. El sistema HITSS tiene un diseño modular que permite examinar dos respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) así como toxicidad. Actualmente, con excepción de las pruebas de respuesta penetrante, no hay sistema estándar para la investigación de los nuevos productos químicos que afectan el comportamiento del mosquito adulto. Las respuestas de *Ae. aegypti* (L) a las varias concentraciones de los insecticidas tópicos, DDT, permetrina y bifentrina, fueron evaluadas. En la concentración 2.5 nmol/cm² (4.3 ± 2.4 para el DDT y 8.0 ± 1.4 para la permetrina; $p < 0.05$), el DDT y la permetrina son los insecticidas que tienen mayor efecto irritante; bifentrina requiere dosis 20 veces más alta para lograr efectos similares. En repelencia espacial, los tres insecticidas evaluados producen respuestas similares en todas las concentraciones (para DDT: 7(7) a 14(8); permetrina: 9(7) a 15(9) y bifentrina 19(8) a 27(11)). Permetrina y bifentrina a concentraciones >0.025 nmol/cm², producen efectos KD superiores a 34%, con una mortalidad $>19\%$, el DDT requiere concentraciones 10 veces más alta para lograr efectos similares.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* (L), primary vector of dengue and yellow fever, exhibits resistance to several insecticides, situation that imposes many problems in the control programs of the vector in several countries. A modular and novel system of test for the total and fast investigation of chemical insecticides was used in the present research. System HITSS has a modular design that allows to examine two behavioral aspects (irritation of contact and space repellency) as well as toxicity. Currently, with exception of the insecticide physiological testing, there is no standard system to assess the new chemical agents that affect the behavior of the adult mosquito. The behavioral responses of *Ae. aegypti* (L) to the several concentrations of topical insecticides, DDT, permethrin and bifenthrin, were evaluated. In concentration 2.5 nmol/cm² (4.3 ± 2.4 for DDT y 8.0 ± 1.4 for permethrin; $p < 0.05$), the DDT and the permethrin were the insecticides with greater irritant effect; bifenthrin requires higher doses, 20 times, to obtain similar effects. In space repellency, the three evaluated insecticides produce similar results in all the concentrations (for DDT: 7(7) a 14(8); permethrin: 9(7) a 15(9) and bifenthrin 19(8) a 27(11)). Permethrin and bifenthrin to concentrations 0,025 nmol/cm², produced effects KD higher this to 34%, with a mortality 19%, while whit DDT, was necessary to applied more than 10 times to obtain similar effects.

2. INTRODUCCIÓN

Se han recomendado muchas medidas de control químico contra vectores de enfermedades, algunas de las que han tenido mayor impacto son por ejemplo las pruebas de nebulización, Ultra Bajo Volumen (UBV) y el uso de pabellones impregnados con insecticidas que son medidas efectivas, seguras y prácticas (Gratz, 1991; Lindsay *et al.*, 1991; Sampath *et al.*, 1998). Todos los métodos de protección personal y control de vectores utilizando insecticidas, están basados en la capacidad irritante, repelente y tóxica de estos productos, por lo que se han propuestos algunas técnicas de estudio que evalúen éstas características y son muchas las investigaciones que se han desarrollado en relación con la ecología vectorial. Medir exactamente las respuestas de comportamiento de los mosquitos frente a los insecticidas utilizando varios tipos de sistemas de la prueba del éxito repelencia está entre las numerosas tentativas que han sido desarrolladas (Roberts y Andre, 1994; Rutledge *et al.*, 1999). Sin embargo, ningún sistema ha sido totalmente aceptado como un método estandarizado de prueba y análisis de respuestas de repelencia (Roberts *et al.*, 1994; Evans, 1993; Chareonviriyaphap *et al.*, 1997). Los estudios de éxito repelencia han sido usados desde 1962, las investigaciones fueron desarrolladas en un principio sobre numerosos vectores de malaria usando versiones modificadas de las cajas de éxito repelencia originales de la OMS. Últimamente Chareonviriyaphap, *et al.* (2004) usando un sistema de cámara de escape experimental, proveyó de información en ambos casos (contacto de irritabilidad y de repelencia no

contacto) para pruebas de respuesta de comportamiento en *Anopheles albimanus* bajo condiciones de laboratorio y campo. Grieco *et al.*, (2005), describió y desarrolló un novedoso sistema modular de ensayo para la investigación total y rápida de los compuestos químicos que permite evaluar la acción repelente espacial, irritante de contacto y toxicidad de un insecticida contra mosquitos adultos, este dispositivo designado como el Sistema de Investigación de Alto-rendimiento de Procesamiento (HITSS), es el que fue utilizado en la presente investigación. Actualmente, con excepción de la respuesta penetrante, no hay sistema de prueba estándar para la investigación de los nuevos productos químicos que afectan el comportamiento del mosquito adulto. Idealmente, el sistema utilizado permitirá alto rendimiento de procesamiento (la capacidad de realizar réplicas múltiples con varios tratamientos en periodos cortos), tener un área superficial de tratamiento pequeño para reducir al mínimo la cantidad de producto químico requerido a probar, sea decontaminado fácilmente, no requerir los dispositivos mecánicos (e.g., túnel de viento), y proporcionar resultados constantes dentro de los tratamientos; por lo que nos planteamos como objetivo general de la presente investigación, evaluar la respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L), frente a adulticidas piretroides de uso frecuente en salud pública. La toxicidad e irritación detectada en las pruebas biológicas de contacto y actividad espacial de repelencia en el nuevo sistema, son resultados reproducibles que proveen una línea de base para determinar la concentración efectiva-residual de los insecticidas químicos de uso frecuente en salud pública (en nuestro caso permetrina (i.a.) y bifentrina (i.a.) en comparación con el DDT), sean los adecuados en los programas de control vectorial. El posible efecto repelente de los insecticidas sobre los mosquitos ha sido sugerido como un importante factor en los programas de control de *Ae. aegypti* (L).

3. HIPÓTESIS

Utilizando el Sistema de Análisis de Alto-rendimiento de Procesamiento HITSS se evaluará la respuesta conductual (respuestas de irritación por contacto, actividad de repelencia espacial y toxicidad), de hembras de *Ae. aegypti* (L) frente a cuatro diferentes concentraciones de adulticidas (DDT, permetrina y bifentrina). Componente básico de la ecología vectorial, ideal para determinar la concentración adecuada de insecticidas de uso frecuente en los programas de control y vigilancia entomológica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L), frente a adulticidas piretroides de uso frecuente en salud pública.

4.2. Objetivos particulares

1. Determinar la repuesta de irritación por contacto de *Ae. aegypti* (L) frente a los insecticidas permetrina y bifentrina, comparados con el DDT en las dosis de 0.025, 2.5, 25 y 250 nmoles/cm², utilizando el Sistema Modular de Investigación de Alto-rendimiento de Procesamiento (HITSS).
2. Evaluar la repelencia espacial de *Ae. aegypti* (L) al ser sometido a las dosis propuestas de los adulticidas de uso frecuente en salud pública.
3. Establecer la toxicidad de los productos químicos al desarrollar las pruebas con las hembras adultas de *Ae. aegypti* (L).

4. ANTECEDENTES

5.1. Generalidades

Cremlyn en 1985, reportado por Lagunes y Villanueva (1994), manifiesta que la idea de combatir a los insectos-plaga con productos químicos no es del todo nueva; por ejemplo, el azufre se utilizó desde el año 1000 a.C.; Plinio, en el año 79 d.C., recomendaba usar el arsénico como insecticida y en el siglo XVI los chinos ya aplicaban compuestos de arsénico con este propósito. En el siglo XVII se descubrió la nicotina, obtenida de las hojas del tabaco utilizado para controlar el *Conotrachelus nenuphar* y de la chinche de encaje *Corythuca sp.* Posteriormente, en 1705 Hamberg propuso el uso de cloruro de mercurio como preservador de la madera. Cremlyn en 1973 (en Lagunes y Villanueva, 1994), atribuyó estos descubrimientos a la observación, junto con la prueba de y error, sin que falten ciertos elementos de superstición; en el siglo XVIII todos los desastres para los que el hombre no encontraba explicación, se culpaba a las fuerzas demoníacas de los estragos causados a la agricultura por los insectos.

Hacia 1850 se introdujeron dos insecticidas naturales importantes: la rotenona, obtenida de las raíces de una planta del género *Derris*, así como el piretro, procedente de las cabezuelas de la flor de una especie de crisantemo. En el siglo pasado, empezaron a usarse otros materiales inorgánicos para combatir plagas insectiles (Lagunes y Villanueva, 1994). En 1867, el uso de nuevos compuestos arsenicales condujo a la introducción del arsénico de cobre impuro (verde de París) utilizado para controlar *L.*

decemlineata en el Estado de Minesota, EUA. Muchos venenos fueron empleados para el control de insectos y otras plagas, uno de estos fue el cianuro usado como fumigante en forma de cianuro de hidrogeno gaseoso en edificios para el control de la chinche común *Cimex sp.* En 1892 se uso el arseniato de plomo para el control de la palomilla gitana *Porthretria dispar* (Lagunes y Villanueva, 1994; Ware, 2000).

En el año de 1900, el verde de Paris era usado extensamente como insecticida, lo que provocó la introducción de la primera legislación para regular el uso de insecticidas en EUA. En 1912, W. C. Piver descubrió el arseniato de calcio como sustituto del verde de Paris y el arseniato de plomo; el arseniato de calcio fue acogido rápidamente porque resulto efectivo para controlar el picudo algodonero *Anthonomus grandis* (Cremlin, 1985, reportando en Laguna y Villanueva, 1994). A inicios de la década de los años veinte, en la búsqueda de insecticidas menos peligrosos, se dieron a conocer compuestos orgánicos como el alquitrán, los aceites de petróleo y el dinitro-o-cresol, este último, reemplazó posteriormente al aceite de alquitrán para el control de huevecillos de áfidos. El desarrollo de los plaguicidas orgánicos a partir de la segunda guerra mundial, creó una revolución en el control de plagas, comparable a la de los antibióticos en el control de las enfermedades infecciosas (Lagune y Villanueva, 1994).

El inicio de la verdadera era moderna de los plaguicidas comienza en los años treinta, con la introducción de los compuestos orgánicos, entre los cuales se desarrollaron los insecticidas derivados del tiocianato de alquilo (1930), la salicilanilida (1931), el p-diclorobenceno, el naftaleno y la tiodifenilalanina. (Cremlym , 1985 citado en Lagune y Villanueva, 1994)

Insecticidas por contacto, efectivos y de larga duración se desarrollaron durante la segunda guerra mundial. En ese conflicto, se encontró que el DDT era especialmente

eficaz contra piojos del cuerpo humano, mosquitos y varias moscas, y se le dio el crédito de controlar brotes de malaria, tifo y disentería (Harwood y James, 1993). Para 1955, la producción de plaguicidas organosintéticos en EUA había alcanzado 227 millones de Kg. y para 1961 había llegado a los 318 millones de Kg. Los primeros insecticidas por contacto residual fueron los órganoclorados desarrollados a partir de los cuarentas. Muchos de ellos, por ejemplo el DDT, BHC, heptacloro, aldrin y dieldrin fueron utilizados ampliamente como emulsificaciones en agua o polvos humectables dispersados por el suelo o formando cubiertas sobre las semillas. Durante tres a cuatro décadas, estos insecticidas proporcionaron un control de larga duración a bajo costo contra los insectos. Por su persistencia en el medio ambiente, bioacumulación en las cadenas alimenticias y las evidencias carcinogénicas, se dejaron de utilizar en la mayor parte del planeta. A principios de los cincuenta se sintetizaron los compuestos organofosforados como el paratión, malatión, TEPP y demeton, entre otros. Para los sesenta aparecen los carbamatos con efecto de contacto y residual. A partir de los setenta, se comenzaron a utilizar los piretroides (Lagunes y Villanueva, 1994). La investigación de compuestos arsenicales dio lugar al empleo del arseniato de cobre para combatir un tipo de escarabajo en EE.UU., y la extensión de su empleo promovió la primera legislación conocida sobre pesticidas en el año 1900. El dicloro difenil tricloroetano (DDT), sintetizado en 1874, demostró su potencia insecticida en 1939 y comenzó a ser utilizado como tal en 1942. El hexaclorociclohexano (HCH), sintetizado en 1825, se usó como gas de guerra en la 1ª Guerra Mundial y como insecticida en 1942. A partir de la 2ª mitad del siglo XX se acelera la síntesis de productos organofosforados (dimefox en 1949, malation en 1950) y de carbamatos (carbaryl en 1956, aldicarb en 1965) (Ferrer, 2004).

5.2. Susceptibilidad y resistencia a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (L)

Aedes aegypti (L), el vector primario del dengue y fiebre amarilla, exhibe resistencia a varios insecticidas, situación que impone muchos problemas dentro de los programas de control del vector en muchos países. Los primeros estudios de la susceptibilidad de *Ae. aegypti* (L) a los insecticidas en el hemisferio occidental detectaron algunos casos de resistencia a insecticidas organofosforados en Puerto Rico y algunos otros países en América (Fox, 1961; Mouchet, 1967). En la revisión principal basada en la resistencia del vector a los insecticidas en una escala global, *Ae. aegypti* (L) ha adquirido resistencia a los organofosforados habiéndose extendido ya en toda América esta característica (WHO 1992). Estudios sobre el uso indiscriminado de insecticidas han propuesto que estos pueden producir efectos notables en la biología del vector provocando cambios de comportamiento y en las funciones vitales (Georghiou y Taylor, 1977).

La expansión del dengue en América ha evolucionado durante los 30 últimos años, el crecimiento acelerado y la diversificación urbana de las ciudades en nuevos complejos habitacionales, industriales y agrícolas en sus márgenes, ha favorecido el incremento de una gran cantidad de criaderos artificiales que se traducen en un aumento de la población de *Ae. aegypti* (L) y en un peligro constante para la aparición de brotes de dengue (Flores *et al.*, 1991).

En los 50's la Organización Panamericana de Salud (OPS) coordinó una campaña hemisférica para la erradicación del *Ae. aegypti* (L), la cual se logró a principios de los 60's. No obstante, la ausencia y suspensión de las campañas, reincidió

la infestación del mosquito al punto de alcanzar proporciones similares a las existentes antes de las mismas (Clark, 1992).

Lofgren en 1970, comenta que después del descubrimiento de la actividad insecticida del DDT en 1942, entomólogos y químicos realizaron esfuerzos concertados para encontrar un insecticida altamente efectivo. Sus esfuerzos resultaron en el descubrimiento de miles de compuestos químicos efectivos para el control de insectos, pero estos avances trajeron consigo, la resistencia a los químicos por parte de los mosquitos, el envenenamiento del medio ambiente y de los organismos, etc. sin embargo, estos problemas a conducido a una reevaluación en los métodos de control y la concertación de esfuerzos en el desarrollo de un mas eficiente y seguro manejo de insecticidas.

Gratz (1991), manifiesta que un control efectivo de adultos vectores es aquel que podría interrumpir la transmisión del dengue, si es dirigido en un periodo de tiempo limitado, en un área urbana endémica o localidad donde esta ocurriendo una mayor transmisión. Si el área no es suficientemente cubierta, las operaciones de control podrían tener que repetirse contra los mosquitos emigrantes o los que emergen en el área tratada. En la lucha vectorial, una de las principales dificultades que se enfrenta es el desarrollo de la resistencia a los insecticidas de uso frecuente en salud publica por parte de los vectores de enfermedades, entendiéndose a esta resistencia como la respuesta atenuada de una población de especies animales o vegetales, a un plaguicida o a un agente enemigo, como consecuencia de su aplicación. Las plagas heredan la resistencia, transfiriendo de esta forma, a sus descendientes, la capacidad de resistir a un plaguicida. En ciertos casos, cuando se trata de una población de una plaga con aplicaciones reiteradas de un solo químico, esa población adquiere también resistencia a otros

químicos análogos. Esta es la resistencia cruzada. Este fenómeno obedece al hecho de que todos los insecticidas semejantes o estrechamente afines tienen la misma forma de acción y es por ello que el mecanismo de defensa del insecto resistente, es eficaz también contra el nuevo insecticida. El que una plaga consiga resistir a dos o más plaguicidas con diferentes clases o formas de acción, es lo que se llama resistencia múltiple (Sánchez, 2000).

La resistencia fue descubierta en 1908, en USA, al no poderse controlar, con una mezcla sulfocálcica, las cochinillas de los árboles frutales. En los 20 años siguientes, otras cinco o seis plagas adquirieron resistencia a los plaguicidas. Después en 1945, comenzó a extenderse ampliamente el empleo de DDT juntamente con otros plaguicidas nuevos. No pasó mucho tiempo sin que apareciesen casos de resistencia, cuyo número aumentó rápidamente. En 1966, se informó que unas 180 especies de plagas resistían a uno o más insecticidas. En 1968, el número de especies de plagas se había elevado a 228 y el incremento continúa. Podría pensarse que si un insecticida no se usa ya contra una plaga resistente, ésta pudiera volver a ser susceptible al insecticida en cuestión, después de algunos años. Así ha ocurrido en algunos casos, pero la población de insectos logró de nuevo rápidamente una gran resistencia después de solo uno o dos tratamientos (Sánchez, 2000).

En 1975 la OMS reportó que una población de 256 millones de personas vivían en áreas donde la resistencia a DDT y/o los BHC (Bifenil Poli Clorinados) mermaron los esfuerzos para el control de la malaria. (Esto no incluyó a la región de África, en donde ocurren el 90% de los casos de malaria y donde ya se había registrado resistencia de *Anopheles gambiae* al DDT, el principal vector de malaria). El DDT fue introducido para el control de mosquitos en 1946. En 1947 se registró el primer caso de resistencia a

DDT en *Ae. taeniorhynchus* y *Ae. sollicitans*. Desde entonces, más de 100 especies de mosquitos han sido reportadas como resistentes a uno o más insecticidas, y más del 50% son anofelinos. Los insecticidas utilizados en las campañas anti-malaria han incluido a los -BHC, organofosforados, carbamatos y piretroides. Otros grupos de insecticidas tales como las benzifenil-ureas y *Bti* (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) tienen un uso limitado en mosquitos. La tendencia en el manejo de la resistencia es el cambio en el tipo de insecticida (Flores *et al.*, 2001).

En poblaciones de *Ae. aegypti* (L) de Brasil, Puerto Rico, Venezuela, Panamá y Cuba se ha encontrado resistencia a insecticidas organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Bisset *et al.*, 2002; Bisset *et al.*, 2003; Campos y Andrade, 2001).

La resistencia a piretroides esta basada en la presencia del gen Kdr que produce insensibilidad en el sitio de anclaje del insecticida en el canal de sodio (Bregues *et al.*, 2003); en otros estudios realizados en *Culex quinquefasciatus* Say indican que la intervención de las esterasas en la resistencia cruzada a piretroides a través de estudios con sinergistas, ya habiéndose registrado previamente este último mecanismo en áfidos (Bisset *et al.*, 1996).

Se han desarrollado numerosos trabajos a fin de determinar el grado de resistencia y control en poblaciones de *Ae.aegypti* (L) tanto en laboratorio como en campo. Ya en 1947 se registró el primer caso de resistencia a DDT en *Ae. taeniorhynchus* Wiedemann y *Ae. sollicitans* Walker (Brown, 1986). Fox (1972), determinó el grado de resistencia al malathion en adultos de estos insectos en una cepa Arrecife, en la ciudad de Puerto Rico, en concentraciones del producto de 0.8, 1.6 y 3.2% hasta una generación F12 exponiéndolos hasta por una hora, registrando los

resultados a las 24 hrs. Los resultados obtenidos fueron de 34% de mortalidad en padres y 3% de mortalidad en la F12 a la concentración de 0.8%; en la concentración 1.6% los padres presentaron 72% y la F12 14% de mortalidad; en la concentración más alta se encontró 100% de mortalidad en padres y 57% en la F12. Al probarse con malathion 0.4% a diferentes tiempos (60, 120, 180 y 240 min.) en los padres, se observó una mortalidad de 11, 65, 78 y 91% respectivamente (Fox, 1973).

Yan *et al.*, (1992) determinaron la susceptibilidad a diferentes insecticidas y la resistencia al DDT en una población de *Ae. Albopictus* (Say) en china. Realizaron la colecta de 12 cepas de un distrito urbano que desarrollo altos niveles de resistencia la DDT, además de colectar dos cepas susceptibles de una zona rural, entre otros resultados demostraron que el DDT penetraba al cuerpo del mosquito en diferente manera a la común, siendo esto una posibilidad que puede influir en los niveles de resistencia en algunas cepas, mas sin embargo, parece improbable que este sea el principal mecanismo de resistencia al DDT.

Sames IV *et al.*, (1996), en trabajos desarrollados en Valle de Río Grande, Texas y México, determinaron la susceptibilidad de *Ae. Aegypti* (L) y *Ae. albopictus* (Say) a insecticidas como el malathion, resmetrina y permetrina, utilizando hembras de campo y una cepa susceptible de *Ae. aegypti* (L) de la University of Texas Medical Branco (UTMB) y una cepa susceptible de *Ae. albopictus* (Say) de Texas A & M University (TAMU). De los resultados obtenidos se demostró que *Ae. aegypti* (L) de Texas es cuatro veces más tolerante al malathion que la cepa de la UTMB, en tanto que la de México es 4.75 veces más tolerantes. *Ae. albopictus* (Say) provenientes de Texas y México, fueron 5.38 y 5.92 veces respectivamente, mas tolerantes al producto evaluado en comparación con la TAMU. Al utilizarse chlorpyrifos *Ae. aegypti* (L) de Texas fue

cuatro veces más tolerante que la cepa de la UTMB y *Ae. albopictus* (Say) de la misma localidad fue una vez mas tolerante que la cepa de la TAMU. Para resmethrina se observó que *Ae. aegypti* (L) proveniente de Texas fue 1.33 veces más tolerante que la cepa de la UTMB y *Ae. albopictus* (Say) fue 0.50 veces más tolerante que la cepa TAMU y con la permetrina *Ae. albopictus* (Say) fue una vez más tolerante que la cepa TAMU.

Chávez *et al.*, (2005) en estudios llevados a cabo para determinar la resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Ae. aegypti* en Perú, determinaron que los porcentajes de mortalidad hallados en sus evaluaciones indican resistencia para la población Sullana con 70% de mortalidad y susceptibilidad para la población El Porvenir con un porcentaje de mortalidad de 98% a una concentración de deltametrina 0,025%. Atribuyeron que la resistencia a deltametrina presentada en la población de mosquitos de Sullana, seria el resultado de la presión de selección causada por el uso de aspersiones de deltametrina en viviendas. Además atribuyeron que otra causa probable en forma indirecta seria el uso de los insecticidas para el control de *Anopheles albimanus* Wiedmann, principal vector de la malaria en el norte del Perú, presentando está especie en la actualidad resistencia a alfacipermetrina, lambdacialotrina, ciflutrina y deltametrina. Los resultados obtenidos en este trabajo indican la necesidad de realizar monitoreos para determinar los niveles de resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* (L) y así hacer un buen uso de los insecticidas en el control de este vector.

La alta resistencia a DDT y otros insecticidas organoclorados llevó en un inicio al uso de insecticidas organofosforados. Dentro de los insecticidas organofosforados más utilizados en los programas de control de *Ae. aegypti* (L) está el temefos, fention y fenitrotion como larvicidas y malathion como adulticida. A pesar de que malathion ha

sido utilizado en la región del Caribe por más de 25 años, solo moderados niveles de resistencia han sido reportados a este insecticida en poblaciones de *Ae. aegypti* (L). El extensivo uso de malathion en los programas de control de éste insecto ha provocado el desarrollo de resistencia en *Culex quinquefasciatus*, pero no en *Ae. aegypti* (L), no solo en Cuba, sino también en otros países de América Latina. Es de destacar que durante el proceso de selección se desarrolló un fenómeno de resistencia cruzada a piretroides, principalmente a deltametrina. Este mismo fenómeno también se reportó al seleccionar de una cepa de *Culex quinquefasciatus* de Cuba con malathion. Existen reportes sobre resistencia a piretroides en *Ae. aegypti* (L) de Puerto Rico, República Dominicana y Venezuela. Esta resistencia ha sido asociada con resistencia cruzada a DDT. En este trabajo se encontró un incremento en la frecuencia del mecanismo de GST, que parece estar asociado con el incremento de la resistencia cruzada a piretroides, aunque otros mecanismos también pueden estar actuando. Hemingway y otros encontraron que la resistencia a piretroides en cepas de *Ae. aegypti* (L) de Puerto Rico era debido a un incremento en sitios alterados que provocaban insensibilidad nerviosa (gen Kdr), más que a mecanismos metabólicos (Rodríguez *et al.*, 2003)

Ponce (2003), en estudios de susceptibilidad y mecanismos de resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* (L) a insecticidas de mayor uso y alternativos en el estado de Nuevo León-México, determinaron que los mosquitos son más tolerantes al insecticida propoxur, seguido de malathion. Por su parte en las pruebas de susceptibilidad realizadas para piretroides determinó que las poblaciones son menos susceptibles a la bifentrina y más susceptibles a la deltametrina, lambdacialotrina y permetrina respectivamente. Los resultados encontrados en pruebas bioquímicas a nivel de larva, indican que con excepción del mecanismo GTS todos los demás se encuentran presentes aunque no de

manera significativa ya que las frecuencias de resistencia no sobrepasaron el 4% de la población. En los adultos encontraron cuatro de los mecanismos de resistencia buscados con excepción de β esterazas y al igual que en larvas el mecanismo GTS, sin embargo a pesar de presentar mayores frecuencias de resistencia que los estadios inmaduros, considero estas frecuencias bajas, ya que no sobrepasaron en el 50% de la población. Por ultimo determinaron mediante la técnica de PCR se determino que las poblaciones de Monterrey, Guadalupe y Escobedo no presentan el gen Kdr, el cual confiere resistencia a insecticidas DDT y piretroides; por tanto concluyeron que los vectores del dengue en el área metropolitana de Monterrey presentan resistencia baja a los insecticidas de uso histórico, común y alternativo en el noreste de México.

5.3. Irritación, repelencia y toxicidad a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (L)

Dos diferentes tipos de respuestas de comportamiento de evitación por los mosquitos se reconocen generalmente: irritación y repelencia (Davidson, 1953; Roberts y Andre, 1994; Rutledge *et al.*, 1999). La irritabilidad ocurre cuando los insectos hacen realmente el contacto físico con residuos químicos antes de mostrar una respuesta de estímulo-mediada, mientras que el repelencia se define como el estímulo que actúa a una distancia diferente, sin contacto físico real a una superficie de insecticida-tratada, disuadiendo en el insecto incorporado en las áreas tratadas o de otra manera interrumpiendo patrones normales del comportamiento.

El comportamiento y los hábitos de los vectores son componentes importantes de la transmisión de enfermedades. El comportamiento de los mosquitos en general y los efectos de los insecticidas en alterar las actividades del comportamiento normal son

críticos en la comprensión de las actividades de vigilancia llevadas a cabo en el control de los vectores de enfermedades (Mattingly, 1962; De Zulueta, 1962; WHO, 1975; Spark *et al.*, 1989; Klowden, 1996).

La respuesta de comportamiento de los mosquitos a los varios productos químicos, en particular al DDT, ha sido reconocida por décadas (Kennedy, 1946; Muirhead-Thomson, 1960; Roberts, 1993).

El fenómeno del excito-repelencia, especialmente de irritación, ha generado interés y controversia en términos de la medida, de la interpretación y de la significancia en el control de los vectores y/o de la enfermedad (Muirhead-Thomson, 1960; De Zulueta, 1962; Roberts y Andre, 1994).

Algunos especialistas consideran la repelencia como razón del éxito del DDT y otros productos químicos usados como los aerosoles residuales que demostraron esta característica por ser un obstáculo importante para el vector en el control de la malaria (Bang, 1985; Bruce-Chwatt, 1970). Sin embargo, otros han abogado por un reexamen serio de la repelencia a la luz del comportamiento y de los hechos históricos y del poco éxito en el control del vector (Roberts y Andre, 1994). Roberts *et al.* (2000) examinó recientemente el uso del DDT en el control de la malaria y con tal evidencia que obligó a demostrar que el efecto combinado de repelencia y de irritación ejercieran acción dominante en los mosquitos (comparados a la acción real de la mortalidad) en la reducción del contacto humano-vector en interiores de casas rociadas. Los mismos autores han proporcionado un marco matemático para entender cómo las acciones repelente, irritante y tóxica de los productos químicos pudieron funcionar para controlar malaria. Sin embargo, mucho queda por hacer para validar y resolver este problema.

El efecto de la irritabilidad y repelencia de los insecticidas en mosquitos es afectado generalmente por una variedad de factores ambientales y biológicos reales que intervienen en las condiciones de la prueba, muchos de estos factores están probablemente en juego bajo condiciones naturales. Éstos incluyen el tipo y formulación del insecticida, especie del mosquito y origen de éstos (laboratorio o de campo), condiciones alimenticias y fisiológicas de los mosquitos en época de la prueba, número de los mosquitos usados en los ensayos (efecto de hacinamiento), época de la prueba y los factores ambientales tales como temperatura e iluminación (Kennedy, 1946; Cullen and De Zulueta 1962; Brown, 1964; Busvine, 1964; Kaschef, 1969; Bondareva *et al.*, 1986; Drobozina *et al.*, 1984; Chareonviriyaphap *et al.*, 1997). Una comprensión más clara de las condiciones de prueba que pueden afectar el comportamiento de repelencia es necesaria.

Sungvornnyothin *et al.* (2001), en estudios sobre efectos del estado alimenticio y fisiológico en el comportamiento de evitación de *Anopheles minimus* (Diptera: Culicidae) al DDT, deltametrina y lambdacialotrina, proporciona información importante en cómo diversas condiciones alimenticias y fisiológicas de los mosquitos pueden influenciar las respuestas de comportamiento a los insecticidas. Las pruebas de éxito-repelencia fueron conducidas a fin de comparar las respuestas de comportamiento de *An. minimus* bajo diversos estados alimenticios y fisiológicos basados en el consumo del azúcar (para la energía) y alimentación y digestión de la sangre (sobre todo para el desarrollo ovárico). Todas las observaciones respecto a respuestas de comportamiento de alimentados con azúcar, alimentados con sangre-temprana y alimentados con sangre-tarde fueron hechos bajo condiciones controladas de laboratorio en *An. minimus* frente al DDT, deltametrina y lambdacialotrina. La luz y la temperatura fueron mantenidas en

los niveles similares para que todos los ensayos evitándose así la confusión de los resultados de la prueba. Por ejemplo, es conocido que el DDT genera respuestas fototóxicas en los mosquitos expuestos, que alternamente pudiera influenciar las comparaciones de la prueba (Kennedy, 1946; Rozendaal *et al.*, 1989). Las respuestas de escape y las mortalidades de escape y no-escape de los mosquitos hembras sometidos a diversas condiciones fueron registradas en los intervalos de un minuto por 30 minutos en los compartimientos con tratamiento y en el control y analizados cuidadosamente. Los resultados demostraron que las respuestas de comportamiento de *An. minimus* a los insecticidas varían según las condiciones alimenticias y fisiológicas de mosquitos a la hora de la prueba. En general, los mosquitos no alimentados (hambrientos) produjeron un mayor efecto irritable-repelente que los otros estados alimenticios para los 3 insecticidas. En ensayos del contacto, generalmente hubo marcada reducción de escape entre los dos grupos de mosquitos alimentados con sangre y del grupo SF comparados con el UF para los 3 compuestos. Varios informes han demostrado que la irritabilidad está presionada a una reciente alimentación sanguínea (Roberts *et al.*, 1984). Mosquitos alimentados con sangre han demostrado menos irritabilidad que las hembras no alimentadas que pueden dar lugar a respuestas retrasadas de evitación. La actividad reducida de repelencia a volar y escapar en hembras recientemente alimentadas con sangre puede ser consecuencia de una carga física evidente debido a tomar una gran cantidad de comida sanguínea (Roberts *et al.*, 1984). La respuesta reducida de escape en especímenes SF (alimentados) es más difícil de entender pero se puede relacionar a una reducción en la detección sensorial de los pelos receptores de los segmentos tarsales según lo descrito por Soliman y Cutkomp (1963) Documentaron los efectos represivos mensurables producidos por el DDT en los quimiorreceptores antenales del mosquito y

en los pelos sensoriales de los segmentos tarsales. Según Sungvornyothin *et al.* (2001) el residuo de azúcar en los segmentos tarsales después de una reciente alimentación puede explicar una cierta pérdida de detección sensorial en los especímenes que fueron evaluados. La alimentación con azúcar se ha utilizado para reducir perceptiblemente la mortalidad comparada con los mosquitos no alimentados y puede posiblemente ser un resultado del residuo del azúcar que crea una barrera física débil más bien que tolerancia creciente al insecticida.

Sungvornyothin *et al.* (2001) propone que en todas las poblaciones en prueba, un índice grandemente disminuido de escape fue observado en los compartimientos que no permitían el contacto físico con las superficies tratadas comparado cuando estaban con las pruebas de contacto. Sin embargo, los números que se escapaban de las condiciones de la prueba sin contacto seguían siendo perceptiblemente mayores que los controles apareados que indicaban un efecto repelente verdadero. Interesantemente, este fenómeno no fue observado en los especímenes UF (sin alimentar) probados contra el DDT y se cree que las condiciones de prueba pudieron haber influenciado estas observaciones.

Busvine (1964) reportado por Sungvornyothin *et al.* (2001), indica que el grado de irritabilidad varía dependiendo del tipo de insecticida usado. El porcentaje y patrón de escape de las poblaciones en ensayo durante la prueba sin contacto eran marcadamente dependientes de los diferentes productos químicos evaluados. Los especímenes sin alimentar de la prueba demostraron una repelencia mas baja al DDT y una respuesta mucho más fuerte a lambdacialotrina. En este estudio, lambdacialotrina demostró un efecto repelente más rápido que deltametrina o el DDT evidenciado por los valores más bajos de ET_{50} y ET_{75} , y la mayoría de los especímenes que escapaban rápidamente a la exposición del insecticida sobrevivieron. Evans (1993) sugirió que la

irritación del DDT sobre *Anopheles gambiae* es ligeramente mayor que el del lambdacialotrina y que los mosquitos huyeron a menudo de las superficies tratadas antes de escoger reposar encima de una dosis mortal. Sungvornyothin *et al.* (2001) en similares estudios, demostró que lambdacialotrina tiene menor efecto irritante entre los productos químicos probados, incluyendo otros piretroides sintéticos. Esta investigación da parámetros importantes para seleccionar los insecticidas adecuados dentro de los programas de control vectorial evitando el posible gasto inadecuado de fondos. Este estudio ayuda a entender como el estado alimenticio y fisiológico de *An. minimus*, y probablemente cualquier otra especie de mosquito, juega un papel significativo en la evitación de comportamiento a insecticidas residuales. La importancia de estos resultados va más allá de una mera curiosidad biológica. Es innegable que la irritación y la repelencia producidas en la presencia de un insecticida pueden tener un impacto dramático en la eficacia del control químico sobre los mosquitos vectores, así afectando profundamente la transmisión local de enfermedades. Propone que las investigaciones de éxito repelencia propuesta en su estudio de efecto nutricional y fisiológico en el comportamiento de *An. minimus*, debe convertirse en una parte integral del gravamen total de la capacidad de un insecticida de controlar la transmisión de una enfermedad. En conclusión, *An. minimus* demostró marcada irritación a la exposición del DDT, deltametrina y lambdacialotrina comparando con los controles apareados y en los ensayos sin contacto usando el mismo producto químico, sin importar el estado de nutricional/fisiológico de las poblaciones en prueba. Asimismo, el grado de repelencia fue menos evidente que el de irritación, pero permaneció en la mayoría de casos una respuesta significativa de evitación comparada con los controles. Sin embargo, este estudio prueba que el comportamiento de la evitación es influenciado perceptiblemente

por las condiciones alimenticias y fisiológicas del mosquito que debe ser considerada en la interpretación de las respuestas de evitación a los insecticidas (Sungvornyothin *et al.*, 2001).

El control para la reducción de la población de vectores es complementada satisfactoriamente por las medidas de control personal, de contacto vector-hospedero y actividades ambientales que se desarrollen, las medidas de control que se apliquen en las viviendas así como por el tipo de construcción que tienen las viviendas (ej. carrizos, bambú u otro tipo de materiales de superficie cerosa) limitan la penetración del insecticidas a sitios de reposo o que su residualidad se vea alterado por las características superficiales de éstos.

Se han recomendado muchas medidas de control químico para insectos vectores, algunas de las que han tenido mayor impacto son por ejemplo las pruebas de nebulización y Ultra Bajo Volumen (UBV), que son medidas efectivas, seguras y prácticas. El UBV, aplicado en dosis adecuadas puede ser una medida efectiva en control de *Aedes* en áreas urbanas y periurbanas (Gratz, 1991). Entre las alternativas de protección personal de las últimas dos décadas, se encuentra el uso de pabellones impregnados con insecticidas, en donde su utilización en áreas palúdicas del África, ha permitido una disminución en la densidad del mosquito transmisor de la malaria (Lindsay *et al.*, 1991; Sampath *et al.*, 1998). Saavedra (2004), evaluó el efecto de distintas concentraciones de permetrina en laboratorio y casas habitación, así como la influencia del tipo de material de los pabellones impregnados en el control de *Ae. aegypti* (L), en el estado de Nuevo León-México, demostró que concentraciones de permetrina de 1.0, 0.5, y 0.25% (i.a.), fueron suficientemente tóxicas para ocasionar el derribe de los mosquitos en tiempos menores de 5 minutos post-exposición, así mismo

ocasionaron la mortalidad del 100% de los mosquitos, durante las ocho semanas post-impregnación de las telas. El tipo de tela recomendable fue de nylon con orificios de un milímetro de diámetro.

Todos los métodos de protección personal y control de vectores utilizando insecticidas, están basados en la capacidad irritante, repelente y toxica de estos productos. Se han propuestos algunas técnicas de estudio a fin de evaluar estas características que pueden desarrollar los insecticidas y son muchas las investigaciones que se han desarrollado en relación con la ecología vectorial.

Han habido tentativas numerosas de medir exactamente las respuestas del comportamiento de mosquitos a los insecticidas usando varios tipos de sistemas de la prueba del éxito repelencia (Roberts y Andre, 1994; Rutledge *et al.*, 1999) Sin embargo, ningún sistema de prueba ha sido totalmente aceptado como un método estandarizado de prueba y análisis de respuestas de repelencia (Roberts *et al.*, 1994; Evans, 1993). Chareonviriyaphap *et al.*, (1997) usando un sistema de cámara de escape experimental (Roberts *et al.*, 1997), proveyó de información en ambos casos (contacto de irritabilidad y de repelencia no contacto) para la prueba de respuesta de comportamiento en *An. albimanus* bajo condiciones de laboratorio y campo. Desafortunadamente este sistema de prueba prototipo no fue práctico ya que requería demasiado tiempo para colocar las papeletas de prueba alrededor de las paredes; para superar este problema una cámara de prueba de repelencia éxito desarmable fue desarrollada por Chareonviriyaphap y Aum-Aong 2000. Este sistema de prueba evaluó la respuesta del comportamiento de una colonia de *An. minimus* de laboratorio y una población de campo al DDT, deltametrina y labdacialotrina (Chareonviriyaphap *et al.*, 2001). También la cámara del sistema podía ser desarmada para transporte y los resultados fueron reproducibles, este sistema de

prueba requería mucho tiempo para montar. Por otra parte, los sostenedores de las papeletas de prueba fueron afectados por los tornillos de ensamblaje que penetraban el compartimiento interno, complicando el montaje de la prueba. Para superar estos problemas técnicos, una versión mejorada del diseño del compartimiento de la prueba del éxito repelencia fue desarrollada según lo descrito en el artículo publicado por el mismo autor en el año 2002, cuyas características y diseño se muestran en la Fig. 1 (Chareonviriyaphap, *et al.*, 2002).

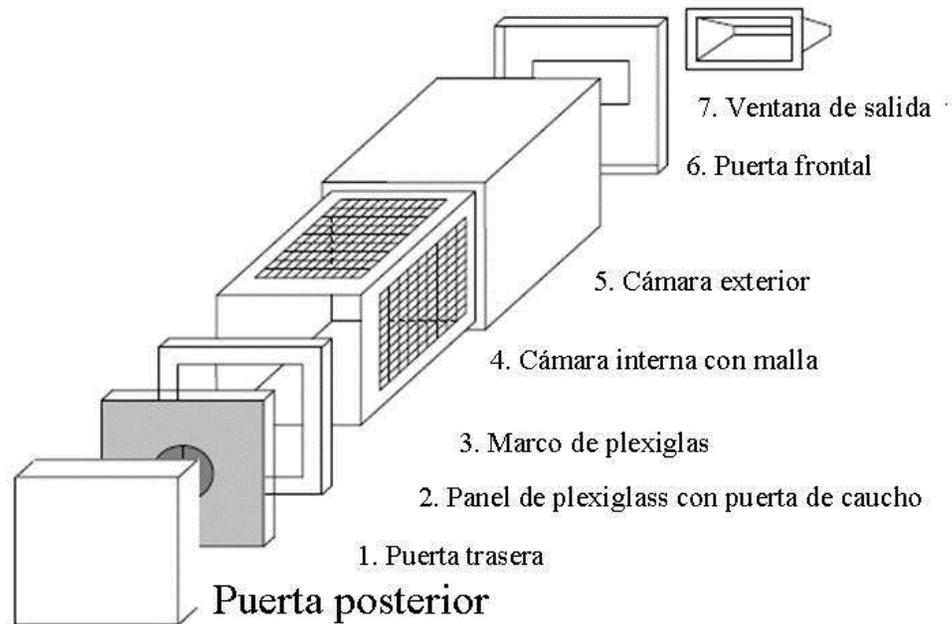


Figura 1. Una mejora a la técnica del sistema de estudio de comportamiento de éxito repelencia (Chareonviriyaphap *et al.*, 2002).

Los estudios de éxito repelencia han sido usados desde 1962 (Coluzzi, 1962; Shalaby, 1966; WHO, 1970; WHO, 1975). Las investigaciones han sido llevadas a cabo sobre numerosos vectores de malaria usando versiones modificadas de las cajas de éxito

repelencia originales de la OMS (Bondareva *et al.*, 1986; Ree y Loong, 1989; Pell *et al.*, 1989). Chareonviriyaphap *et al.* (2002) plantea una mejora al sistema de evaluación de la respuesta de éxito repelencia a insecticidas por los mosquitos. Esta versión reciente del sistema de prueba se ha utilizado para medir las respuestas del comportamiento de las colonias de laboratorio de *An. minimus* y *An. dirus* expuestas a papeletas impregnadas con DDT 2 g/m² y 20 mg/m² de deltamethrina. Los resultados demostraron que las hembras de *An. minimus* y *An. dirus* demostraron una respuesta dramática de escape al DDT y deltamethrina comparado con los mosquitos expuestos a los compartimientos de control sin tratamiento. Una respuesta más rápida en tiempo de escape para ambos insecticidas fue observada con la comparación de *An. minimus* y *An. dirus*. Los resultados revelaron que la mayoría de los especímenes escaparon del compartimiento de la prueba sin adquirir una dosis mortal en 24-h de post-exposición. El DDT y el deltamethrina demostraron un grado pequeño de repelencia sin contacto en ambas especies.

Chareonviriyaphap *et al.* (2004), en estudios comparativos de la prueba éxito repelencia a deltametrina (0.02 g i.a/m²) en vectores de la malaria: *An. minimus*, *An. dirus*, *An. swadinwongporni* y *An. maculatus*, en Tailandia, usado residualmente al interior de las viviendas. Evaluaron los tiempos de escape de las hembras de estos mosquitos durante 30 minutos expuestos a papeletas tratadas con deltametrina en contacto y no contacto comparando con las no tratadas. Se observó que la colonia de *An. minimus* fue una colonia resistente, seguido por *An. swadiwongporni* y *An. maculatus*. El escape de respuesta mas lento se observo en la colonia de *An. dirus*. Todas las colonias de *Anopheles* mostraron marcada irritabilidad a la deltametrina comparado pareadamente con el control y con las pruebas de repelencia contacto y no contacto,

tanto en las colonias criadas en condiciones controladas de laboratorio y las colectadas en campo. El comportamiento de evitación parece ser un comportamiento natural de los mosquitos, según lo indicado por las respuestas generales de la evitación detectadas en las 4 especies, sin importar el estado de la susceptibilidad a deltametrina, edad, o estado alimenticio y fisiológico. Los análisis de éxito repelencia del tipo descrito en este estudio deben convertirse en una parte integral del gravamen total de la capacidad de un insecticida de controlar la transmisión de la enfermedad en cualquier área específica (Chareonviriyaphap *et al.*, 2004).

Un novedoso sistema modular y de ensayo para la investigación total y rápida de los compuestos químico que permite evaluar la acción repelente espacial, irritación de contacto y toxicidad del producto contra mosquitos adultos fue descrita y desarrollada por Grieco *et al.*, 2005, cuyo esquema se muestra en la Fig. 2.

El Sistema HITSS tiene un diseño modular que permita la evaluación de dos respuestas de comportamiento (irritación del contacto y repelencia espacial) así como toxicidad. Los componentes principales del HITSS se ilustran y se numeran en la Fig. 02. El número y el montaje requeridos de los componentes varían dependiendo del tipo de análisis que se desarrollará. Actualmente, con excepción de la respuesta penetrante, no hay sistema de prueba estándar para la investigación de los nuevos productos químicos que afectan el comportamiento del mosquito adulto. Idealmente, este sistema permitiría alto rendimiento de procesamiento (la capacidad de realizar réplicas múltiples con varios tratamientos en periodos cortos), tener un área superficial de tratamiento pequeño para reducir al mínimo la cantidad de producto químico requerido a probar, sea decontaminado fácilmente, no requerir los dispositivos mecánicos (e.g., túnel de viento), y proporciona resultados constantes dentro de los tratamientos. Este sistema

precisamente es el que se utilizó en la presente investigación, cuyas características y detalles de su operación son expuestos mas adelante en el rubro de métodos.

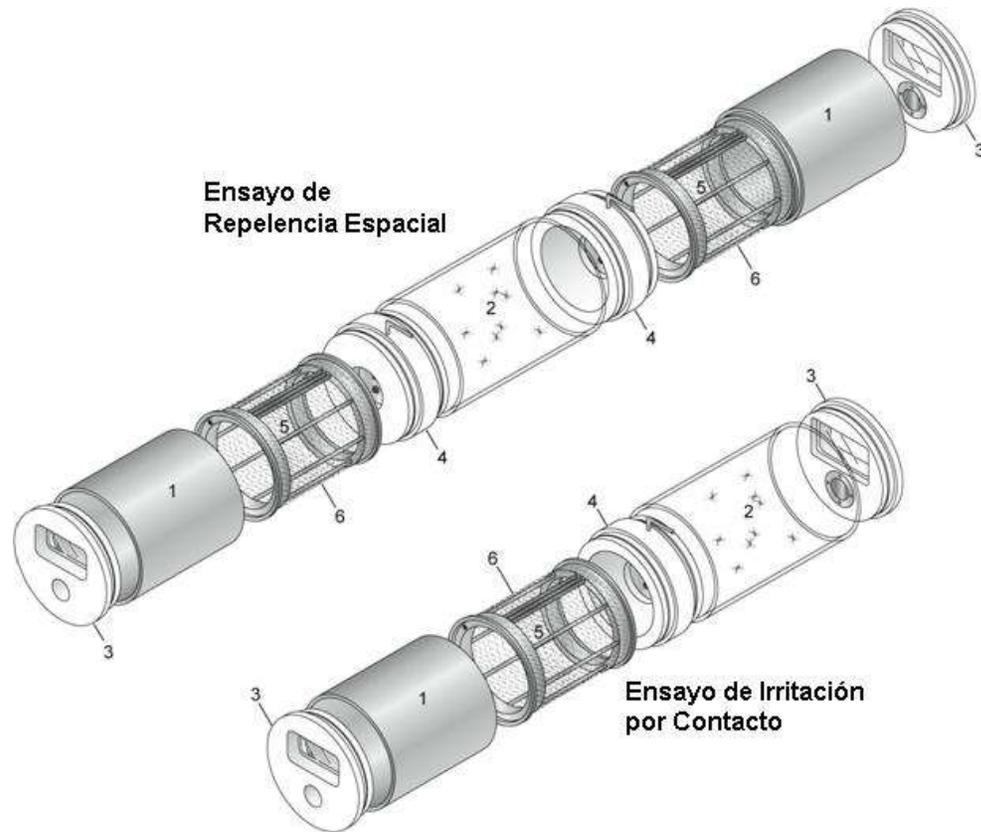


Figura 2. Sistema de diseño modular HITSS para evaluar respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) y toxicidad. (Grieco *et al.*, 2005)

En este sistema propuesto por Grieco *et al.*, 2005 fue evaluado las respuestas de *Aedes aegypti* a las varias concentraciones de tres repelentes tópicos, Deet, Bayrepel, y SS220, fueron evaluados. Las concentraciones del tratamiento fueron de 25 nmoles/cm² de SS220, los mosquitos exhibieron respuesta repelente espacial (escape) e irritación de contacto (movimiento lejos de la fuente química) significativas. En contraste, una concentración del tratamiento de 250 nmole/cm² del deet y Bayrepel dieron lugar a

respuestas que no eran estadísticamente significativas o apenas de moderada significancia. La irritación detectada en las pruebas biológicas en el novedoso sistema de contacto y actividad espacial de repelencia son resultados reproducibles, y proveen una línea de base para determinar la concentración mínima efectividad para otros productos químicos. El tamaño del sistema es compacto, de fácil decontaminación y requiere solamente una cantidad mínima de compuesto químico.

Generalmente se reconocen dos tipos diferentes de respuestas conductuales en mosquitos; la irritación y la repelencia (Davidson, 1953; Roberts y Andre, 1994; Rutledge *et al.*, 1999). La irritabilidad ocurre cuando los insectos verdaderamente hacen contacto físico con residuos químicos provocando antes una respuesta inmediata al estímulo. Mientras que la repelencia es definida como un estímulo a distancia diferente, sin contacto físico con una superficie rociada con insecticida, deteniendo insectos de las áreas tratadas o de otra manera cambiando los patrones normales de comportamiento.

El posible efecto repelente de los insecticidas sobre *Aedinos* ha sido sugerido como un importante factor en los programas de control de *Ae. aegypti* (L) debido a su naturaleza endofílica y antropofílica, que lo hace un blanco ideal para la aplicación de insecticidas domésticos (Surtees, 1967).

5.4. Piretroides de uso frecuente en el control de vectores.

Los piretroides son insecticidas de los más utilizados en los programas de control de vectores y en el ámbito doméstico donde han substituido casi totalmente al resto. Estos insecticidas sintéticos actúan por contacto, fueron formulados basados en las piretrinas naturales obtenidas del crisantemo. Se han sintetizado gran cantidad de

piretroides a lo largo de la segunda mitad del siglo XX. En la actualidad se encuentran en más de 2.000 preparaciones comerciales (Gibly y Sullivan, 2001).

Las piretrinas naturales están representadas por 6 compuestos: cinerinas I y II, jasmolinas I y II, y piretrinas I y II. Los piretroides se clasifican en dos grupos: los de tipo 1 como la permetrina no contienen el grupo ciano; los de tipo 2 (cipermetrina, deltametrina, fenvalerato) presentan éste grupo. El fenvalerato actúa como insecticida de contacto y la cipermetrina y deltametrina como insecticidas de contacto e ingestión. La bifentrina, es un piretroide no alfa ciano, sintetizado por FMC Corp. en 1984, tiene actividad lipofílica por lo que prefiere los aceites y tejidos grasos de los insectos, no es soluble en agua y permanece adherido a las moléculas del suelo. Este insecticida actúa por contacto, ingestión o inhalación en los insectos (Ferrer, 2004).

Las propiedades que hacen que los piretroides, sean ampliamente aceptados y considerados como insecticidas efectivos, son: a) producción de un rápido derribe (Knockdown), b) alta toxicidad contra un amplio espectro de insectos, c) ligera toxicidad contra mamíferos, d) residualidad hasta seis meses, e) fotoestable, f) biodegradable y no bioacumulable, Tienen una baja absorción cutánea, su baja toxicidad en mamíferos depende probablemente de su activa metabolización por hidrólisis, algunos como la permetrina, son débiles inductores enzimáticos, y g) efecto repelente contra ciertos insectos (Lagunes y Villanueva, 1994; Ferrer, 2004).

Los piretroides del tipo 1, sin grupo ciano, causan descargas repetitivas en las fibras y terminales nerviosos, conduciendo a hiperexcitación. Las de tipo 2, con grupo ciano en el carbono alfa producen despolarización y bloqueo de la membrana nerviosa que conduce a la parálisis e inhiben la acción del GABA en su receptor. Su efecto fundamental se debe a una modificación en el canal del Na^+ de la membrana nerviosa.

Parece que los piretroides interactúan con el mecanismo de apertura de forma análoga al DDT (Nahasashi *et al.*, 1992). En animales de experimentación producen ataxia, falta de coordinación, hiperexcitación, convulsiones y parálisis. Predominan unos u otros fenómenos según el tipo de molécula. En humanos es raro que se alcance la dosis tóxica, en especial con los de tipo 1. Los del tipo 2, más peligrosos, han producido parestesias, náuseas, vómitos, fasciculaciones, convulsiones, coma y edema de pulmón. Su toxicidad aguda se potencia si se asocia a O-P que bloquea su hidrólisis. Se han descrito alteraciones cutáneas en los trabajadores, aunque su seguridad parece ser alta en la exposición profesional. Pueden producir reacciones alérgicas sistémicas y dermatitis de contacto (Lauwerys, 1990).

Los informes de la creciente resistencia fisiológica y de las preocupaciones percibidas en la salud referentes al uso de los insecticidas han dado lugar a una reducción extensa y a un retiro completo del DDT y de otros compuestos organoclorados y organofosforados para el uso en la salud pública. En un período de tiempo corto, los productos químicos piretroides han adquirido mayor importancia en el control del vectores por todo el mundo (WHO, 1995), a pesar de la divulgación creciente de la resistencia a esta clase general de compuestos (Malcolm, 1988).

Ha sido sugerido que el espectro de respuesta de un insecto a los piretroides depende de la dosis del insecticida. Altas concentraciones de estos químicos repelen insectos evitando el contacto, o sirven como irritantes de contacto. Con dosis decrecientes, los piretroides actúan como insecticidas de contacto, agentes de derribe e inhibidores de alimentación con varios otros efectos atribuidos a menores dosis sub-letales (Lindsay, 1991). Mas aun, estudios han demostrado que el comportamiento de los mosquitos puede ser afectado por el ingrediente inerte del formulado del insecticida, se

ha atribuido que la repelencia producida en mosquitos se debe a estos componentes emulsionables, más que al insecticida por si mismo (Lindsay, 1991).

Los piretroides son actualmente el único grupo de insecticidas aprobados por la Organización Mundial de la Salud para tratar mosquiteros, en virtud de su alto poder insecticida a dosis muy bajas y su inocuidad para los humanos. Los piretroides utilizados para tratar mosquiteros han sido evaluados y aprobados por el Esquema de Evaluación de Insecticidas de la Organización Mundial de la Salud (WHOPES), la cual cada año revisa todas las pautas de seguridad y toxicidad de los insecticidas en uso. Al respecto, cabe precisar el significado de los términos toxicidad y riesgo, ya que no son sinónimos. La toxicidad es la potencia como veneno inherente a un compuesto bajo condiciones experimentales, mientras que el riesgo se refiere a la posibilidad de envenenamiento cuando un químico es utilizado o aplicado. La toxicidad de los piretroides se debe a su afinidad por, y efecto intrínseco sobre receptores en los canales de sodio, esenciales en la conducción nerviosa. Los piretroides son altamente lipofílicos por lo que pasan con facilidad a través de las membranas celulares y son absorbidos a través de la piel, por inhalación e ingestión. Sin embargo, su rápido metabolismo reduce considerablemente la magnitud de la toxicidad. Los insecticidas piretroides además tienen un potente efecto repelente, demostrándose en estudios de campo que dentro de una casa si hay un mosquitero tratado con insecticida, se registra una marcada reducción en el número de mosquitos que pican a las demás personas que duermen sin mosquitero (Lines *et al.*, 1987).

El trabajo de revisión de Zaim *et al* (2000) señala que en estudios a largo plazo sobre insecticidas piretroides utilizados para tratar mosquiteros, no se han detectado efectos teratogénicos, carcinogénicos o mutagénicos en animales experimentales. Por

otra parte, la volatilidad de los piretroides es baja y, a las bajas dosis que se utilizan para tratar mosquiteros, el riesgo de toxicidad por inhalación por parte de los usuarios es remoto. Por otra parte, es importante enfatizar que hasta el presente y después de 60 años de uso de insecticidas en salud pública no se ha demostrado que éstos tengan efectos letales en humanos (Curtis, 1994; Curtis y Lines, 1999 reportado por Rubio-Palis, 2003).

Los insecticidas químicos que fueron utilizados en las pruebas experimentales de irritabilidad por contacto, repelencia espacial y toxicidad fueron los siguientes: **a) Permetina:** piretroide no alfa ciano, es neurotóxico y débil inductor enzimático; tiene capacidad de penetrar y paralizar el sistema nervioso, presenta menos resistencias y un menor riesgo de toxicidad por su menor absorción sistémica (inferior al 2%). La permetrina, aún en bajas concentraciones, actúa como un agente tóxico para los insectos. Cuando el artrópodo entra en contacto con la permetrina, ésta se distribuye por su sistema nervioso provocándole parálisis y muerte por fallo respiratorio. La permetrina en alta concentración (65%) posee un efecto repelente que produce al insecto una sensación muy irritante cuando ésta entra en contacto con sus extremidades. De este modo que los insectos se alejan de la zona de alta concentración (repelencia) y posteriormente mueren por la acción insecticida de la permetrina (eliminación). La permetrina es un piretrinoide semisintético obtenido a partir de piretrinas naturales como precursores que normalmente presentan una gran inestabilidad, mientras que en el caso de la permetrina la estabilidad es mayor. La permetrina posee una baja toxicidad, tanto comparativa como absoluta, una baja absorción cutánea y, al mismo tiempo, se caracteriza por una elevada acción como plaguicida de amplio espectro antiparasitario, no habiendo desarrollado, por el momento, resistencia alguna. Su penetración en los artrópodos tiene lugar a través

de la cutícula, sistema digestivo y sistema respiratorio, provocando su parálisis y muerte. En estudios comparativos con otros insecticidas se ha constatado que la permetrina necesita menores concentraciones que los demás para producir un mismo efecto plaguicida. **b) Bifentrina:** Los piretroides son actualmente el único grupo de insecticidas aprobados por la Organización Mundial de la Salud para tratar mosquiteros, en virtud de su alto poder insecticida a dosis muy bajas y su inocuidad para los humanos. **c) DDT:** Este insecticida fue utilizado en la presente investigación solo con fines de comparación; el DDT (insecticida organoclorado), probablemente es el más conocido y más notorio producto químico del siglo XX. También es fascinante, y continua siendo reconocido como el insecticida más útil jamás desarrollado. Más de 4 mil millones de libras de DDT fueron usadas en el mundo, comenzando en 1940, y en los EEUU finalizando esencialmente en 1973, cuando la Agencia para la Protección Ambiental de los EEUU le canceló todos los usos. Los demás países del Primer Mundo rápidamente siguieron el ejemplo. DDT aún es usado con efectividad para control de malaria en varios países del tercer mundo. En 1948, el Dr. Paul Muller, un entomólogo suizo, recibió el premio Nobel en Medicina por su descubrimiento del DDT como producto para salvar vidas (1939) por ser un insecticida útil para el control de malaria, fiebre amarilla y muchas otras enfermedades transmitidas por insectos. El modo de acción del DDT nunca se ha establecido claramente, pero de una manera compleja destruye el delicado balance de los iones sodio y potasio dentro de los axones de las neuronas de una manera tal que impide la transmisión normal de los impulsos nerviosos, tanto en insectos como en mamíferos. Aparentemente el DDT actúa sobre los canales de sodio y causa una "fuga" de los iones de sodio. Eventualmente las neuronas afectadas disparan impulsos de manera espontánea, haciendo que los músculos se contraigan -

"contracciones del DDT "-seguidas por convulsiones y la muerte. El DDT tiene una correlación de temperatura negativa, cuanto más baja sea la temperatura que hay alrededor más tóxico se vuelve para los insectos (Ware y Whitacre, 2004).

5.5. *Aedes aegypti* (L) en México

Este insecto se encuentra distribuido en la región tropical y subtropical del mundo entre los 45°N y 35°S (Carpenter y La Casse, 1974). Aunque su origen es incierto es considerado endémico de África y que probablemente fue introducido al continente americano durante el periodo de las conquista. Es un mosquito cosmopolita, que se cría en el hábitat humano, teniendo preferencia alimentaría antropofílica y endofílica. Este insecto tiene comprobada actividad en la transmisión del dengue y fiebre amarilla en México (campañas de control entre 1901-1903). En 1920 se calculó que el mosquito se encontraba distribuido en 59.2% del territorio mexicano, intensificándose las campañas de control con miras a su erradicación, que fue declarada como tal en 1963. Para el 68 hubo una reinfestación en la frontera Norte y en el 77 en la frontera Sur. Actualmente este insecto se encuentra prácticamente distribuido en todo el país (Ibáñez y Gómez, 1995). En el estado de Nuevo León, Elizondo-Quiroga (2002), reporta a este insecto distribuido en la región de la Llanura Costera del Golfo y en la Sierra Madre Oriental, donde predomina el clima seco estepario caliente (BSh), pero también el semicalido ((A)C) y el templado subhúmedo (Bw), encontrándose principalmente en contenedores y llantas. Los municipios del estado de Nuevo León en los que fueron colectados *Ae. aegypti*, de acuerdo a lo reportado por Elizondo-Quiroga (2002), corresponden a Sabinas Hidalgo, Vallecillo, Doctor Coss, General Bravo, Los Ramones, China, Salinas Victoria, Hidalgo, Ciénega de Flores, General Zuazua, Doctor

González, Pesquería, Juárez, Santiago, Allende, Monterrey, Garza García, Escobedo,
Guadalupe, San Nicolás de los Garza y Apodaca.

6. MÉTODOS

6.1 Cámara de ensayo de análisis de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) así como toxicidad.

Para las pruebas de respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L) frente a los insecticidas evaluados, se hizo uso de la cámara de ensayo HITSS, propuesto por Grieco *et al.*, (2005) (Figs. 2 y 3)

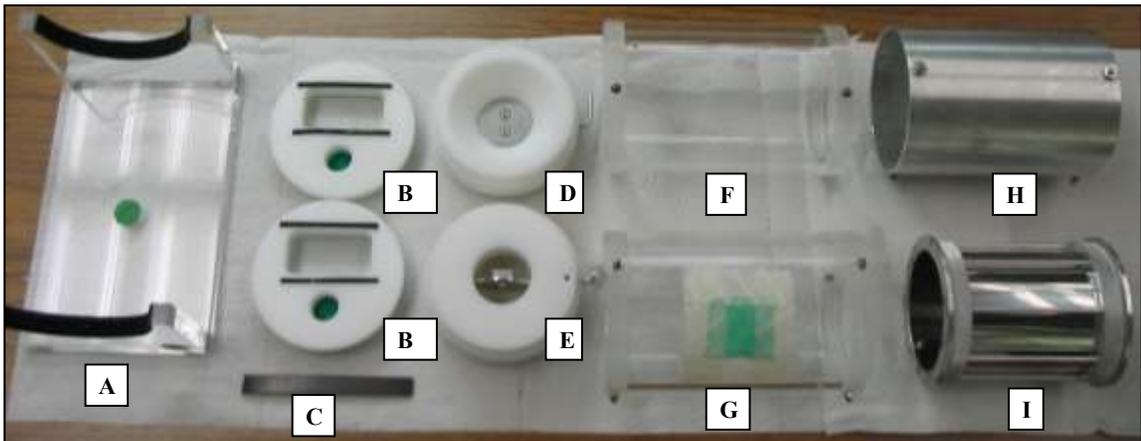


Figura 3. Componentes del sistema de diseño modular HITSS para evaluar respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial) y toxicidad. (A) Horquilla de soporte; (B1/B2) Tapillas con filtro de visión provisto de cinta adherente; (C) Tira de imán tiene de la función de fijar la red en el cilindro de tratamiento; (D) Unión de forma cónica con tapilla tipo mariposa en posición cerrada; (E) Unión de forma plana con tapilla tipo mariposa abierta; (F) Compartimiento claro usado en el análisis de irritación por contacto (ningún agujero en el centro); (G) Compartimiento claro usado en el análisis de repelencia espacial (con agujero en el centro); (H) Cilindro exterior de metal del compartimiento de la prueba; (I) Cilindro interior de metal del compartimiento de la prueba.

El Sistema de Investigación de Alto-rendimiento de Procesamiento (HITSS) (cámara de ensayo de respuesta conductual), tiene un diseño modular que permitió examinar dos respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial), así como la toxicidad. Los componentes principales del HITSS se ilustran y se numeran en las Figs. 2 y 3. El número y el montaje requeridos de los componentes variaron dependiendo del tipo de análisis que se realizó.

6.2. Mosquitos

Los mosquitos utilizados en la presente investigación, procedieron del área metropolitana de Monterrey, N.L., colectados entre los municipios de San Nicolás de los Garza (coordenadas N: 25° 48' 01.2"; W: 100° 16' 34") y Escobedo (coordenadas N: 25° 48' 48.2"; W: 100° 24' 13.8"). Las larvas fueron colectadas en campo utilizando dipers y duyas de acuerdo a los métodos descrito por Fay y Eliason, (1966); Reiter *et al.*, (1991); Da Graca *et al.*, (2000); Ordóñez *et al.*, (2001); Vargas, (2002); las cuales fueron trasladadas en bolsas whirl-pak acondicionados en termos de plástico provistos de agua y protegidos para evitar daños que perjudiquen su vialidad, hasta el laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Una vez en el laboratorio, las larvas fueron colocadas en bandejas de plástico de color blanco de 30 x 20 x 5 cm. conteniendo volumen adecuado de agua exenta de cloro, y acondicionados en el insectario del laboratorio de Entomología Médica, a una temperatura de 27°C, 70% H.R. y un fotoperiodo de 12:12 (D:N). Las larvas I, II, III y IV fueron alimentadas con alimento para peces tropicales tipo hojuelas hasta alcanzar el estado de pupa. Los adultos que emergieron de las pupas fueron sexados; las hembras fueron acondicionadas en jaulas comunes de 30.5 x 30.5 x 30.5

cm. proporcionándoles una solución de azúcar al 10% hasta un máximo de 48-h antes de someterlas a las pruebas de respuesta conductual. En este periodo fueron separados en grupos de 15 y 10 hembras en vasos de plástico desechable de 200-mL. Se dispuso para la prueba de irritabilidad por contacto un total de 720 insectos hembras, separados en grupos de 10 insectos por concentración para los tres insecticidas evaluados y 80 insectos para las pruebas control haciendo un total de 800 hembras. La prueba de repelencia espacial fue realizado con un total de 1620 hembras separados en 15 insectos por grupo/concentración a evaluar para los tres insecticidas. Finalmente, para la prueba de toxicidad fue hecha con 1080 hembras separados en grupos de 15 insectos para los tres insecticidas y 120 insectos para las pruebas de control haciendo un total de 1200 insectos hembras; En toda la investigación se utilizó un total de 3600 insectos. Solo las hembras fueron utilizadas en las pruebas experimentales, considerando su importancia en la transmisión de las enfermedades (Fig. 4)



Figura 4. Bandeja de organización conteniendo los tubos provistos de insectos para las pruebas de respuesta conductual.

6.3. Pruebas de respuesta conductual frente a piretroides y concentraciones de exposición

Las soluciones de tratamiento fueron formuladas a una concentración de 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm² para el DDT, permetrina y bifentrina utilizando como diluyente acetona, todas las formulaciones fueran hechas a partir de los ingredientes activos (i.a) y las concentraciones fueron seleccionados basados en el estudio publicado por Grieco *et al.*, (2005). Estas formulaciones fueron aplicadas uniformemente en las redes de tratamiento del sistema HITSS (cámara de respuesta conductual), cuyo tamaño de las redes fue de 275 cm² (Fig. 5), utilizando un volumen de 3.0-mL., aplicados con una micropipeta, 15 minutos antes de su uso en las pruebas. Redes adicionales fueron tratadas con acetona (3.0-mL.) que sirvió como blanco (control) en las pruebas. Una vez que las redes fueron instaladas en los cilindros de tratamiento, las evaluaciones fueron llevadas a cabo durante todo el día. Nuevas redes fueron preparadas para cada prueba con un nuevo insecticida así como para los controles. Las redes de tratamiento fueron preparadas al inicio de cada día de prueba.



Figura 5. Preparación de las redes de tratamiento aplicando las formulaciones de insecticidas en las dosis a evaluar (tamaño de la red: 275 cm²).

6.4. Tiempo y secuencia de las pruebas, condiciones de ensayo y limpieza del sistema (cámara de respuesta conductual)

Los análisis fueron desarrollados dentro de la 1-7 h de haberse tratado las redes con los insecticidas, principalmente entre 8:00 a.m. y 4:00 p.m. En general, los análisis de irritación de contacto y repelencia espacial fueron hechos ocupando todo un día para cada prueba y para cada insecticida. La toxicidad fue analizada durante las horas que duró las pruebas para cada uno de los insecticidas y los controles evaluados, generalmente ocupó dos días para cada insecticida. La temperatura del laboratorio durante las pruebas fue mantenida en promedio de 22°C (con un rango de 23-25°C) y una HR en promedio del 47% (rango de 40-60%). Los análisis en lo posible fueron hechos al interior de una cámara de extracción de aire. La limpieza del sistema fue hecha entre los cambios de los productos químicos a evaluarse con un intervalo de un día entre cada prueba. La limpieza implicó el lavado con acetona de todas las partes del sistema que entró en contacto con las redes tratadas con insecticidas y el lavado con una solución de detergente neutro biodegradable el resto de las partes del sistema. Antes de la reutilización de la cámara de respuesta conductual (HITSS), para cada prueba se permitió el secado de las piezas lavadas con detergente y la ventilación de la acetona por lo menos durante toda la noche.

6.5. Ensayos de irritación por contacto

Para estas pruebas, el equipo HITSS fue instalado de la siguiente manera: El cilindro transparente del equipo y el cilindro del tratamiento fueron conectados a través de una unión que cuenta con una cara plana, y la otra que se estrecha en forma cónica orientada al cilindro de tratamiento. La válvula de mariposa en la sección de unión fue

girada a la posición de cerrado. Una tapilla con un filtro de visión fue colocada en el extremo abierto del cilindro de tratamiento así como en el extremo del cilindro claro, el cilindro claro y los filtros de visión fueron cubiertos con un paño oscuro para evitar que la luz ejerza presión fototáctica sobre los mosquitos en la cámara. El tambor de tratamiento provisto con la red impregnada con el insecticida o el producto control (acetona), fue insertado en el cilindro de tratamiento. Luego todo el equipo ensamblado fue puesto sobre un soporte (los detalles del ensamblado se muestran en las Figs.6 y 7). Diez mosquitos fueron transferidos al equipo HITSS por el orificio de la tapilla que se encuentra en el extremo de tratamiento y 30 seg. después fue abierta la válvula de mariposa en el punto de unión entre el cilindro claro y el de tratamiento. Después de 10 minutos, la válvula fue cerrada y se llevó a cabo de inmediato el conteo del número de mosquitos en el extremo transparente (número de escapados) y en el extremo del tratamiento, también se contaron los insectos que estuvieron derribados (knockdown) tanto en el extremo claro como en el extremo del tratamiento (postrados de lado y no capaces de levantarse después de haberse sacudido ligeramente la cámara).

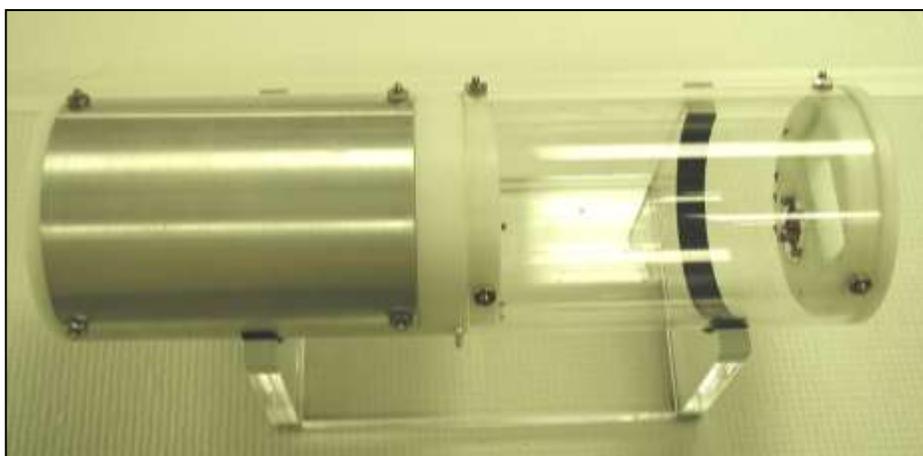


Figura 6. Ensamblado del equipo para la prueba de irritación por contacto



Figura 7. Prueba de irritación por contacto (obsérvese la cubierta de paño oscuro que cubre los puertos de visión en la tapilla y el cilindro claro).

Para todos los ensayos con los insecticidas evaluados se llevaron a cabo en forma simultánea pruebas de control. Para las pruebas de control las redes de tratamiento estuvieron impregnadas con acetona. La proporción de ensayos de tratamiento a control fue de 1:1. Para las siguientes repeticiones, los mosquitos tratados fueron extraídos del sistema de ensayo usando un aspirador mecánico. Seis repeticiones fueron hechas para cada formulado de insecticida.

6.6. Análisis de repelencia espacial

Para el análisis de esta prueba, el sistema ensamblado para la prueba de irritación de contacto fue ligeramente modificado. La tapilla del extremo del cilindro claro fue reemplazado por una unión provista de una válvula de mariposa el cual fue ensamblada a un cilindro de tratamiento conteniendo por dentro el tambor metálico provisto de la red impregnada con insecticida. El otro cilindro de tratamiento fue ensamblado al cilindro claro en forma similar que la otra, en este caso el tambor de tratamiento estuvo provisto

de una red de control. Los compartimientos tratado y de control fueron conectados el uno al otro por medio del cilindro claro formando así el sistema completo de análisis de repelencia espacial, el cual fue colocado sobre los soportes tipo orquilla (los componentes y el ensamblado del sistema se muestran en las Figs.8 y 9).

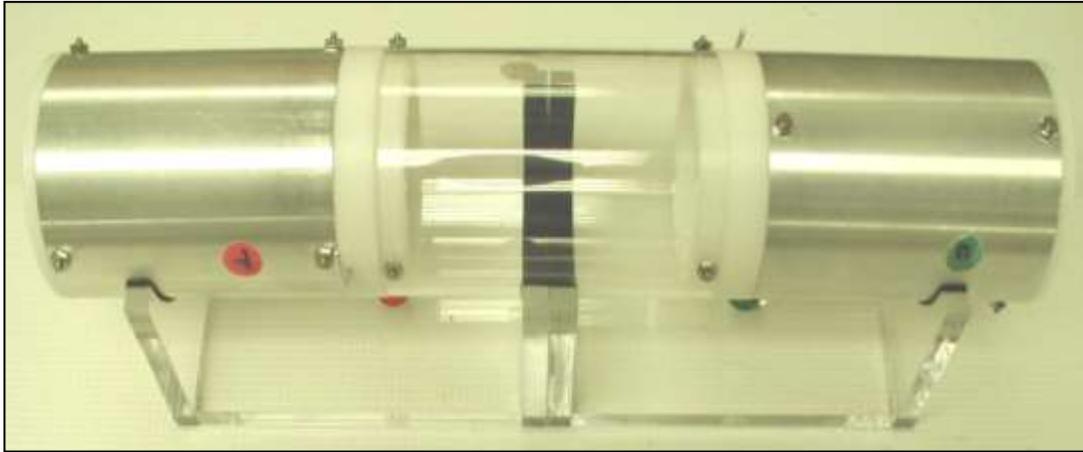


Figura 8. Ensamblado de los componentes del sistema de evaluación de repelencia espacial.

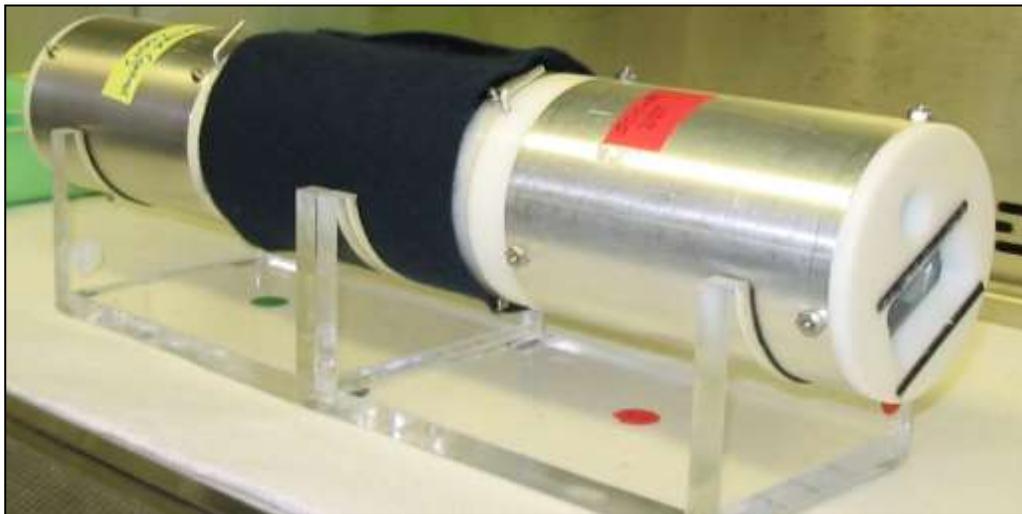


Figura 9. Sistema ensamblado para la prueba de repelencia espacial.

Las válvulas de mariposa en las secciones de unión fueron cerradas. Quince mosquitos fueron transferidos al compartimiento (central) claro (Fig.10), y un paño oscuro cubrió totalmente este cilindro. Los puertos de visión en las tapillas de los extremos de los cilindros de control y tratamiento no fueron cubiertos con un paño oscuro para permitir el paso de la luz en los extremos del sistema el cual sirvió como atrayente para los mosquitos *Ae. aegypti* (L). Una vez ensamblados los cilindros conteniendo el tambor con las red de tratamiento y control y después de un período de aclimatación de 30 seg. las válvulas de mariposa fueron abiertas simultáneamente.



Figura 10. Transferencia de mosquitos al cilindro claro del sistema de repelencia espacial.

Después de 10 minutos, las válvulas de mariposa fueron cerradas sincrónicamente y se hizo el conteo del número de mosquitos en cada compartimiento. También se registró el número de hembras que fueron derribadas (knockdown) en ambas cámaras. Los mosquitos fueron extraídos de la cámara de respuesta conductual HITSS usando un aspirador mecánico, preparándose el equipo para las siguientes repeticiones. Entre las réplicas, el sistema ensamblado fue desmontado parcialmente quitando el cilindro transparente del sistema (el cilindro claro separado de los compartimientos de

tratamiento y de control) para evitar el contacto con cualquiera de los productos químicos o facilitar el volatilizado de éstos. Para cada una de las pruebas con los insecticidas a evaluar como para los controles se llevaron a cabo 9 repeticiones.

El índice de actividad espacial (SAI), basado en el índice de la actividad de oviposición (OAI) de Kramer y de Mulla (1979), fue utilizado para evaluar la respuesta de los mosquitos hembras al análisis de repelencia espacial. Los cálculos del SAI para cada replica experimental se hizo utilizando la siguiente formula:

$$\text{SAI} = (N_c - N_t) / (N_c + N_t)$$

Donde:

N_c = Número de hembras en el compartimiento de control del Dispositivo de Análisis de Repelencia Espacial (HITSS)

N_t = Número de hembras en el compartimiento tratado del dispositivo HITSS

El SAI es una medida de la proporción de hembras que ingresan en el compartimiento del control y el compartimiento tratado, después de corregir la proporción de hembras en el compartimiento de control. El SAI varía a partir de -1 a 1, con 0 que no indica ninguna respuesta. Según el artículo original, Kramer y Mulla (1979) sugieren que los compuestos con un OAI arriba de +0.3 se considera como atrayente, mientras que con -0.3 y debajo de ésta se considera como repulsivo.

6.7. Análisis de toxicidad

El ensamblado del equipo HITSS para este análisis fue similar al utilizado en el análisis de irritación por contacto, excepto por el cilindro claro y su tapilla del extremo

(Fig.11). La cubierta de paño oscura no fue utilizada en este análisis. Después de preparar el compartimiento y montada la unidad de prueba, 15 mosquitos fueron transferidos a ésta sección serrándose esta unidad a nivel de la horquilla tipo mariposa. Después de 1-h, el número de mosquitos (knockdown) caídos fue registrado (derribados inmóviles y móviles) para luego ser transferidos a un vaso plástico de recuperación. Estos mosquitos fueron alimentados proporcionándoles una torunda de algodón empapada con azúcar al 10% y fueron devueltos al insectario (Fig.12). La mortalidad en cada una de las dosis/insecticida fue registrada después de 24-h. Como para el análisis de irritación por contacto y para todos los demás ensayos, un análisis de control en el cual el tratamiento fue una red impregnada con el diluyente (acetona) sirvió como blanco. La proporción de ensayos de tratamiento a control fue de 1:1. Seis réplicas fueron hechas en cada tratamiento y por dosis de insecticida.

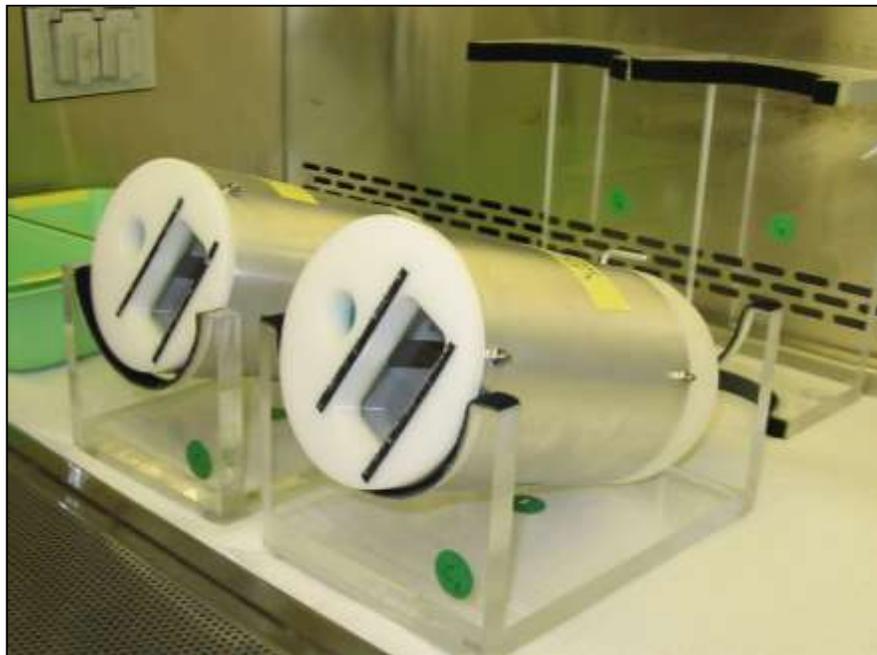


Figura 11. Ensamblado del sistema HITSS para la prueba de toxicidad.



Figura 12. Vasos de recuperación con los insectos sometidos a la prueba de toxicidad (las torundas de algodón contienen azúcar al 10%).

6.8. Análisis de datos

Los datos obtenidos en las pruebas de irritación por contacto fueron examinados mediante la prueba estadística para dos muestras de Wilcoxon usando el paquete estadístico SPSS 10, a fin de determinar la diferencia entre el número de insectos que escaparon del tratamiento y del control. Los datos del análisis de repelencia espacial fueron evaluados a través de una prueba no paramétrica de forma lineal para determinar si el SAI (índice de actividad espacial) para cada tratamiento es en forma perceptiblemente diferente de cero. Para los datos de la toxicidad, los valores porcentuales de los derribados y de la mortalidad fueron corregidos usando la fórmula de Abbott (Abbott, 1925) y transformados los valores hallados a la raíz cuadrada del arcoseno para el análisis de varianza (ANOVA). Para cada insecticida químico, el derribe como la mortalidad en cada tratamiento fue comparado y analizado usando la

prueba estadística de Tukey (HSD) con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Además se reportaron las medias de \pm DE (desviación estándar) de los datos transformados.

7. RESULTADOS

7.1. Irritación por contacto

Al analizar los resultados de irritación por contacto, el comportamiento general de los insectos sometidos a los insecticidas (DDT, permetrina y bifentrina), fue que el escape de los mosquitos del compartimiento con tratamiento al cilindro transparente del sistema fue mayor conforme aumentaron las concentraciones del insecticida.

7.1.1. DDT

En este caso, el número de insectos fugados se observó a partir de la concentración de 0.025 nmol/cm^2 con un promedio y desviación estándar ($\bar{X} \pm \text{DE}$) de 4.3 ± 2.4 insectos del total de 10 hembras sometidas a prueba, pero cuando la concentración se incrementó en 10 veces, o por encima de ella (2.5 , 25 y 250 nmol/cm^2), el promedio de hembras fugadas es de 5.0 ± 1.6 , 5.5 ± 0.6 y 5.8 ± 0.8 , respectivamente. La prueba no paramétrica de Wilcoxon demostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control y el tratamiento para estas concentraciones, mientras que para la concentración de 0.025 nmol/cm^2 no existe tal diferencia. Se aprecia que a concentraciones $> 2.5 \text{ nmol/cm}^2$, el DDT ejerce un efecto irritante significativo en los insectos (Tabla I); por lo que, una dosis de 2.5 nmol/cm^2 bastaría para producir efecto de fuga a más del 50% de los vectores estudiados.

7.1.2. Permetrina

Cuando se examinó el efecto irritante de la permetrina en las dosis propuestas, se observó que las hembras de *Ae. aegypti* (L) tuvieron drástica respuesta de fuga en todas las concentraciones. De los 10 mosquitos sometidos a prueba el promedio y desviación estándar de los fugados ($\bar{X} \pm DE$), fue de 7.0 ± 3.0 , 8.0 ± 1.4 , 5.8 ± 2.4 , 7.3 ± 1.0 para las dosis de 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm² respectivamente. La prueba no paramétrica de Wilcoxon, demostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control y tratamiento para la concentración de 2.5 nmol/cm² en el efecto irritante, no existiendo tal diferencia en las otras concentraciones (Tabla I), considerando por tanto, la concentración de 2.5 nmol/cm² como la más adecuada y suficiente para repeler más del 50% de la población de *Ae. aegypti* (L).

7.1.3. Bifentrina

En bifentrina, el efecto irritante es observado claramente en todas las concentraciones evaluadas (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²); en promedio, el número de insectos fugados del cilindro de tratamiento al cilindro transparente fue de: 7.3 ± 1.0 , 8.5 ± 1.4 , 9 ± 1.7 , 8.7 ± 1.0 y 8.5 ± 0.8 , para cada concentración respectivamente. La prueba no paramétrica de Wilcoxon demostró, que en la concentración de 250 nmol/cm² existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control y tratamiento, para el efecto irritante (Tabla I), mientras que para las otras concentraciones (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²), no existe tal diferencia. Es decir, que la bifentrina requiere una dosis 20 veces más alta para lograr efectos similares que las conseguidas por el DDT y la permetrina, a una dosis de 2.5 nmol/cm². Por tanto, este insecticida es el que tiene menor efecto irritante en comparación a los otros insecticidas evaluados.

De este análisis podemos desprender, el DDT y la permetrina, son los insecticidas que significativamente tienen mayor efecto irritante para las hembras de *Ae. aegypti* (L), a una concentración de 2.5 nmol/cm² ($\bar{X} \pm DE$: 4.3 \pm 2.4 para el DDT y 8.0 \pm 1.4 para la permetrina; $p < 0.05$). En tanto que, la bifentrina requiere de una dosis 20 veces más alta (250 nmol/cm²) para lograr efectos similares a los obtenidos por los otros insecticidas ($\bar{X} \pm DE$: 8.5 \pm 0.8; $p < 0.05$).

7.2. Repelencia espacial

El porcentaje promedio de respuesta de repelencia espacial en las hembras de *Ae. aegypti* (L), fue uniforme en cada una de las concentraciones probadas, para cada uno de los insecticidas evaluados (DDT, permetrina y bifentrina).

7.2.1. DDT

El efecto repelente porcentual del DDT osciló entre los 7 y 14% para las dosis evaluadas. La proporción en cada una de las concentraciones (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²), tuvieron una media (% \bar{X}) y desviación estándar (DE) de 14(7), 14(8), 12(10) y 7(7), respectivamente. Al evaluar el índice de actividad espacial de repelencia (SAI), para cada una de las concentraciones, la media (\bar{X}) y desviación estándar (DE) reporta valores superiores de -0.05(0.41) a 0.14(0.65), que son diferentes de cero (0), lo que indica que todas concentraciones produjeron respuesta repelente en los mosquitos. Estadísticamente al analizar el porcentaje de la media de respuesta y la media del SAI, no existe diferencia significativa en el efecto repelente en las concentraciones probadas ($p < 0.05$) (Tabla II).

TABLA I

Respuestas de hembras de *Aedes aegypti* (L)¹ en el análisis de irritación por contacto a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina

Repelente	Concentración (nmol/cm ²)	Número de ensayos (No. Mosquitos)	No. Escapados (media ± DE)		P ²
			Control	Tratamiento	
DDT	0.025	6(60)	2.50 ± 0.55	4.33 ± 2.42	0.092
	2.5	6(60)	2.50 ± 0.55	5.00 ± 1.56	0.027
	25	6(60)	2.50 ± 0.55	5.50 ± 0.55	0.024
	250	6(60)	2.50 ± 0.55	5.83 ± 0.75	0.026
PERMETRINA	0.025	6(60)	5.17 ± 2.04	7.00 ± 3.03	0.207
	2.5	6(60)	5.17 ± 2.04	8.00 ± 1.41	0.042
	25	6(60)	5.17 ± 2.04	5.83 ± 2.40	0.577
	250	6(60)	8.00 ± 0.00	7.33 ± 1.03	0.157
BIFENTRINA	0.025	6(60)	8.50 ± 1.38	8.50 ± 1.38	0.891
	2.5	6(60)	8.50 ± 1.38	9.00 ± 1.67	0.461
	25	6(60)	8.50 ± 1.38	8.67 ± 1.03	1.000
	250	6(60)	10.0 ± 0.00	8.50 ± 0.84	0.034

¹ Insectos de 2 a 7 días de edad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de la alimentación con azúcar 24-h antes de la prueba.

² Son P-valores de la prueba de Wilcoxon para 2 diferentes muestras entre el número de escapados en el tratamiento con insecticida y el tratamiento con acetona (de control).

7.2.2. Permetrina

El comportamiento de repelencia de los mosquitos al insecticida, fue muy parecido al observado en el DDT. El promedio porcentual de hembras fugadas fue documentado en valores superiores de 9 y 15% del total de 15 hembras sometidas a prueba. El porcentaje de la media de respuesta y desviación estándar ($\% \bar{X}$, DE) fue de 14(10), 10(5), 9(7) y 15(9) para las concentraciones de 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm², respectivamente. La media y DE del SAI, en caso de la permetrina osciló entre los valores de -0.01(0.57) para la concentración 0.025 nmol/cm² a 0.27(0.50) en la concentración 25 nmol/cm², valores como en el caso anterior, diferentes de cero (0) que indica, efecto repelente del insecticida para todas las concentraciones. Al comparar el porcentaje de la media de respuesta y la media del SAI para cada una de las concentraciones, no existen diferencias significativas entre ellas, lo que confirma que todas las concentraciones desarrollan el mismo efecto repelente sobre los zancudos (Tabla II).

7.2.3. Bifentrina

En este caso los porcentajes de la media de respuesta, para el efecto repelente del insecticida, están entre los rangos de 19 a 27% de un total de 15 zancudos, valores relativamente superiores a los hallados en los otros insecticidas. El porcentaje de la media de respuesta y la DE, para las concentraciones 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm², son de 27(11), 19(8), 21(14) y 19(9) respectivamente. El porcentaje de la media del SAI y DE, que determina el efecto repelente del insecticida en cada dosis, demuestra que todas las concentraciones produjeron la misma respuesta en los insectos. Estas respuestas oscilan entre -0.28(0.36) para la dosis de 0.025 nmol/cm² hasta 0.14(0.48) para la dosis de 250 nmol/cm², valores que son diferentes de cero (0). Pese a que el promedio de

insectos repelidos, fue relativamente mayor a los hallados en los otros insecticidas, estadísticamente no se encuentran diferencias significativas entre las dosis, para la media porcentual de respuesta, comparado con la media del SAI en la bifentrina (Tabla II).

Se documenta por tanto que, todos los insecticidas evaluados (DDT, bifentrina y permetrina), producen respuestas repelentes en *Ae. aegypti* (L) en forma similar en todas las concentraciones probadas, con un promedio de 7 a 27% del total de 15 hembras evaluadas (% \bar{X} y DE para DDT: 7(7) a 14(8); permetrina: 9(7) a 15(9) y bifentrina 19(8) a 27(11). Estadísticamente no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) para el porcentaje de la media de respuesta y la media del SAI, en las concentraciones evaluadas.

7.3. Toxicidad

Respuesta moderada de derribe (knockdown) fue observado en los tres insecticidas (rango de 19 a 55%), a la concentración de 0.025 nmol/cm². En mortalidad, similar respuesta (rango de 25 a 40%), para la misma concentración, se produjo solo en permetrina y bifentrina.

7.3.1. DDT

Efecto de derribe (KD), fueron observados en promedio de 19 a 58% de un total de 15 hembras, a una hora de exposición al insecticida en las concentraciones evaluadas. El porcentaje de la media y desviación estándar (% $\bar{X} \pm DE$) para cada una de las concentraciones (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²) fue de 19 ± 5 , 40 ± 4 , 51 ± 4 y 58 ± 5 , respectivamente, encontrándose respuestas de derribe altamente significativas ($F = 74.438$, $p = 0.000$) en todas las concentraciones. La comparación de media de las concentraciones a través de la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$), muestra que las

dosis de 0.025(a), 2.5(b) y 25 nmol/cm²(c) son diferentes significativamente en el efecto de derribe de los insectos; a su vez, las concentración 25(c) y 250 nmol/cm²(c) comparten las mismas respuestas para el efecto evaluado, no mostrando diferencias significativas entre ellas (Tabla III).

En la mortalidad, de las 15 hembras sometidas a prueba, el promedio porcentual de las medias, oscila entre 4 a 28% luego de 24-h de finalizada la prueba. Las medias porcentuales y desviación estándar (% $\bar{X} \pm DE$) para las concentraciones (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²), son 4 ± 5 , 12 ± 8 , 19 ± 8 y 28 ± 7 respectivamente, valores que resultan ser altamente significativos para el efecto evaluado ($F = 74.438$, $p = 0.000$). La comparación de medias a través de la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$), en el efecto de las dosis, demuestran que las concentración 0.025 nmol/cm²(a) y 250 nmol/cm²(c), estadísticamente son diferentes significativamente para la mortalidad. En tanto, las concentraciones 0.025(a) y 2.5 nmol/cm²(ab), comparten similares efectos, al igual que la existente en las concentraciones 25(bc) y 250 nmol/cm²(c) (Tabla III)..

De este análisis se desprende, el DDT requiere de dosis > 25 nmol/cm² para lograr efectos de derribe (KD) altamente significativos (más de 51% de la población de *Ae. aegypti* (L)), con una mortalidad $>19\%$ ($F = 74.438$, $p = 0.000$). Diferencias significativas en la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), para el efecto KD, son halladas entre las concentraciones 0.025(a), 2.5(b) y 25 nmol/cm²(c). La mortalidad muestra diferencias significativas entre las concentraciones 0.025(a) y 250 nmol/cm²(c).

7.3.2. Permetrina

Respuestas de derribe (KD) y mortalidad, fueron observados en un promedio de 55 a 100% y de 25 a 100%, en un total de 15 hembras sometidas a prueba, respectivamente

El análisis de los datos, demuestran que la media porcentual y desviación estándar ($\% \bar{X} \pm DE$) para las respuestas de derribe (KD), por concentración (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²), son 55 ± 8 , 85 ± 8 , 95 ± 7 y 100 ± 00 , respectivamente. Valores que resultan ser altamente significativos para la respuesta analizada ($F = 49.648$, $p = 0.000$). Las medias porcentuales de las concentraciones, fueron examinadas mediante la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$), demostrando que las concentraciones 0.025(a), 2.5(b) y 250 nmol/cm²(c) muestran diferencias significativas para la respuesta analizada. En tanto que, cuando se comparan las dosis 2.5 nmol/cm²(b) y 25 nmol/cm²(bc) estas comparten respuestas significativas, al igual que la que existe entre las concentraciones 25 nmol/cm²(bc) y 250 nmol/cm²(c) (Tabla III).

La media porcentual y desviación estándar ($\% \bar{X} \pm DE$) de la mortalidad por concentración analizada (0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm²), es de 25 ± 6 , 61 ± 7 , 96 ± 3 , 100 ± 0 , respectivamente. Estadísticamente los datos hallados, resultan ser altamente significativos ($F = 49.648$, $p = 0.000$), para el efecto estudiado. La comparación de medias porcentuales de las concentraciones, a través de la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$), determina que, las concentraciones 0.025(a), 2.5(b) y 25 nmol/cm²(c), son diferentes significativamente en el efecto de mortalidad en los mosquitos; la concentración 25 nmol/cm²(c) y 250 nmol/cm²(c), no muestran tal diferencia para la respuesta estudiada (Tabla III).

En permetrina, concentraciones >0.025 nmol/cm², son suficientes para obtener resultados altamente significativos de derribe (KD) ($>55\%$) y mortalidad ($>25\%$), ($F = 49.648$, $p = 0.000$). La prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para el efecto de KD, demuestra diferencias significativas entre la concentración 0.025(a), 2.5(b) y 250 nmol/cm²(c). En

mortalidad, diferencias significativas se observan en las concentraciones 0.025(a), 2.5(b) y 25 nmol/cm²(c).

7.3.3. Bifentrina

El promedio porcentual de derribe (KD) para la bifentrina, oscila entre 34 a 91% de 15 hembras sometidas a prueba. En la mortalidad, los porcentajes están entre los rangos de 40 a 88%.

La media porcentual y desviación estándar ($\% \bar{X} \pm DE$), para la respuesta de derribe (KD), muestra los siguientes resultados: 34 ± 11 , 48 ± 14 , 74 ± 6 y 91 ± 3 , para las concentraciones 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm², respectivamente; valores que son altamente significativos ($F = 35.730$, $p = 0.000$). La comparación de medias para las dosis, a través de la prueba estadística de Tukey ($p \leq 0.05$), nos indica que, las concentraciones 0.025(a) y 2.5 nmol/cm²(a), son diferentes significativamente, en relación a las concentraciones 25(b) y 250 nmol/cm²(b), para las respuestas de derribe (KD), en la población de *Ae. aegypti* (L).

Cuando se analiza la mortalidad, el porcentaje de la media y desviación estándar ($\% \bar{X} \pm DE$), da como resultado los siguientes valores: 40 ± 7 , 53 ± 13 , 78 ± 9 y 88 ± 0 , resultados que son altamente significativos ($F = 35.730$, $p = 0.000$), para las dosis de 0.025, 2.5, 25 y 250 nmol/cm², respectivamente. La prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), muestra diferencias significativas para el efecto de las medias de las concentraciones 0.025(a) y 2.5 nmol/cm²(a) en comparación con las dosis 25(b) y 250 nmol/cm²(b).

De este análisis se deduce, la bifentrina requiere de concentraciones >0.025 nmol/cm² para obtener efectos KD en una población de *Ae. aegypti* (L), superiores a 34%; la mortalidad, bajo estas condiciones es $>40\%$, resultados que son altamente significativos ($F = 35.730$, $p = 0.000$). La prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), demuestra que no

existe diferencias significativas entre las medias porcentuales de KD y mortalidad, para las dosis de 0.025(a) y 2.5 nmol/cm²(a) en comparación con las dosis 25(b) y 250 nmol/cm²(b).

El análisis bifactorial de toxicidad mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$) para las respuestas de derribe (KD) a 4 diferentes concentraciones (0.025(a), 2.5(b), 25(c) y 250 nmol/cm²(d)) de DDT(a), permetrina(b) y bifentrina(c), demuestran que existen marcada diferencia significativa entre los insecticidas ($F = 189.298$, $p = 0.000$) y las dosis probadas ($F = 139.428$, $p = 0.000$), por lo que cada producto evaluado, estaría ejerciendo efecto diferente, directamente proporcional a las concentraciones ($F = 5.101$, $p = 0.000$). En la mortalidad (MORT), la prueba de Tukey ($p \leq 0.01$), indica que existen diferencias significativas altas entre los efectos causados por el DDT(a) y la permetrina(b), sin embargo dichas diferencias no existen cuando se comparan la bifentrina(b) y la permetrina(b) ($F = 216.409$, $p = 0.000$). En las dosis, las concentraciones 0.025(a), 2.5(b) y 25nmol/cm²(c), son diferentes en el efecto de mortalidad, con alta significancia estadística ($F = 77.812$, $p = 0.000$). La interacción entre los insecticidas y la concentración, demuestra que los productos evaluados y las dosis guardan estrecha relación en cuanto a los efectos alcanzados, no siendo diferentes estadísticamente ($F = 2.924$, $p = 0.011$) (Tabla IV).

TABLA II

Respuestas de hembras de *Aedes aegypti* (L)¹ en el análisis de repelencia espacial a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina

Repelente	Concentración (nmol/cm ²)	Número de ensayos (No. Mosquitos)	% Media de respuesta (DE)	Media SAI ² (DE)	SR ³	P > S
DDT	0.025	9(135)	14(07)	-0.05 (0.41)	0.4	0.683
	2.5	9(135)	14(08)	-0.11 (0.65)	-1.4	1.160
	25	9(135)	12(10)	-0.11 (0.79)	0.0	1.000
	250	9(135)	07(07)	0.14 (0.65)	1.0	0.303
PERMETRINA	0.025	9(137)	14(10)	-0.01 (0.57)	0.4	0.683
	2.5	9(137)	10(05)	-0.15 (0.52)	-0.4	0.683
	25	9(138)	09(07)	0.27 (0.50)	0.0	0.968
	250	9(138)	15(09)	-0.26 (0.45)	0.0	1.000
BIFENTRINA	0.025	9(135)	27(11)	-0.28 (0.36)	0.0	0.968
	2.5	9(135)	19(08)	0.01 (0.49)	0.4	0.683
	25	9(135)	21(14)	0.02 (0.63)	-0.7	0.495
	250	9(139)	19(09)	0.14 (0.48)	-1.4	0.160

¹ Insectos de 2 a 7 días de antigüedad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de alimentación de azúcar 24-h antes de la prueba.

² SAI, índice de la actividad espacial de repelencia. Vea el texto para los detalles.

³ SR, rango estadístico derivado del análisis mediante el programa SPSS 10

TABLA III

Derribe (KD) y mortalidad (MORT) de hembras de *Aedes aegypti* (L)¹ en el análisis de toxicidad a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina

Repelente	Concentración (nmol/cm ²)	Número de ensayos (No. Mosquitos)	1 h KD ² (% Media ± DE)	24 h MORT (% Media ± DE)	F ³	P ⁴
DDT	0.025	6(91)	19 ± 05a	04 ± 05a	74.438	0.000
	2.5	6(90)	40 ± 04b	12 ± 08ab		
	25	6(90)	51 ± 04c	19 ± 08bc		
	250	6(92)	58 ± 05c	28 ± 07c		
PERMETRINA	0.025	6(90)	55 ± 08a	25 ± 06a	49.648	0.000
	2.5	6(90)	85 ± 08b	61 ± 07b		
	25	6(91)	95 ± 07bc	96 ± 03c		
	250	6(89)	100 ± 00c	100 ± 00c		
BIFENTRINA	0.025	6(90)	34 ± 11a	40 ± 07a	35.730	0.000
	2.5	6(90)	48 ± 14a	53 ± 13a		
	25	6(90)	74 ± 06b	78 ± 09b		
	250	6(90)	91 ± 03b	88 ± 00b		

¹ Insectos de 2 a 7 días de antigüedad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de alimentación de azúcar 24-h antes de la prueba.

² El derribe (KD) y la mortalidad (MORT) en los controles fue menor del 1% en su totalidad. Los valores dentro de cada columna (del repelente) signados por la misma letra no diferenciaron significativamente ($p < 0.05$) entre las concentraciones del tratamiento

³ F es el resultado del Análisis de Varianza para la transformación del arcoseno de la $\sqrt{\%mortalidadcorregida}$.

⁴ Nivel de significancia ($p < 0.01$ altamente significativo).

TABLA IV

Análisis bifactorial de respuestas de derribe (KD) y mortalidad (MORT) en pruebas de toxicidad de hembras de *Aedes aegypti* (L) frente a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina

Tiempo	Variable	F	P	Prueba estadística de Tukey ¹			
				DDT	Permet.	Bifent.	0.025 2.5 25 250 ²
01h (KD)	INSECTICIDA	189.298	0.000	a	b	c	
	CONCENTRACION	139.428	0.000				a b c d
	INSECT./CONCT.	5.101	0.000				
24h (MORT)	INSECTICIDA	216.409	0.000	a	b	b	
	CONCENTRACION	77.812	0.000				a b c c
	INSECT./CONCT.	2.924	0.011				

¹ Para la prueba de Tukey, letras diferentes marcan diferencia significativa
² Concentraciones expresadas en nmol/cm²

8. DISCUSIÓN

Medir exactamente las respuestas de comportamiento de los mosquitos frente a los insecticidas utilizando varios tipos de sistemas de prueba de éxito repelencia está entre las numerosas tentativas que han sido desarrolladas, a fin de conocer en parte, aspectos generales de la ecología vectorial de *Ae. aegypti* (L). Sin embargo, ningún sistema ha sido totalmente aceptado como un método estandarizado de prueba y análisis de respuestas de repelencia, irritación y toxicidad. El sistema propuesto por Grieco *et al.*, 2005, conocido como sistema HITSS, fue el que se utilizó en la presente investigación, se caracteriza por su capacidad de realizar réplicas múltiples con varios tratamientos en periodos cortos, tener un área superficial de tratamiento pequeño para reducir al mínimo la cantidad de producto químico a probar, sea decontaminado fácilmente, no requerir los dispositivos mecánicos (e.g., túnel de viento), y proporcionar resultados constantes dentro de los tratamientos.

Son pocas las investigaciones que se han llevado a cabo sobre respuestas conductuales en insectos, la información generada, procede generalmente de pruebas de éxito repelencia o de redes de tratamiento (mosquiteros), que nos ayudaran a interpretar, en alguna forma, los resultados hallados en la presente investigación. Es innegable que la irritación y la repelencia producidas en la presencia de un insecticida pueden tener un impacto dramático en la eficacia del control químico sobre los mosquitos vectores, así

afectando profundamente la transmisión local de enfermedades (Sungvornyothin *et al.*, 2001).

8.1. DDT

En el DDT, **efectos irritantes** altamente significativos fueron encontrados a una concentración de 2.5 nmol/cm² ($\bar{X} \pm DE$: 4.3 \pm 2.4, $p < 0.05$), el número de hembras irritadas a esta concentración, son en promedio 4.3 de un total de 10 hembras sometidas a prueba. En **repelencia**, el DDT, produce en promedio, respuestas similares en todas las concentraciones evaluadas (\bar{X} y DE de 7(7) a 14(8), $p < 0.05$), estadísticamente no significativas para el promedio de repelidas El SAI reportó que todas las concentraciones produjeron respuesta repelente en el mosquito. Cuando se analizó la **toxicidad**, efectos KD y mortalidad, para dosis > 25 nmol/cm², dieron como resultado KD $>51\%$ y mortalidad $>19\%$ ($F = 74.438$, $p = 0.000$), resultados que son altamente significativos para los efectos estudiados.

Grieco *et al.* (2005), en trabajos similares llevados a cabo en hembras de *Ae. aegypti* (L), demostró, que el DDT desarrolló moderada irritabilidad a una concentración de 25 nmol/cm², con un porcentaje medio de irritados y DE de 33 \pm 3 ($p = 0.0022$), valores que resultan ser muy próximos a los logrados en la presente investigación, pero a una concentración 10 veces menor. En repelencia espacial, reportaron actividad altamente significativa a la dosis de 25 nmol/cm² ($\% \bar{X} = 31$, $DE = 1$, $p = 0.0005$), en este caso, los resultados difieren de los que reportamos. En la toxicidad, efectos de KD y mortalidad leve, fueron hallados a una concentración >2.5 nmol/cm² ($\bar{X} \pm DE$ en KD= 0 \pm 0; mortalidad= 5 \pm 3, $p < 0.05$). El KD estuvo en los rangos de 0 a 1%, la mortalidad

entre 5 a 15%, en dosis mayores de 2.5 nmol/cm^2 , muy parecidos a los que se reportan en nuestra investigación. Las diferencias halladas en el efecto de irritabilidad, repelencia y toxicidad en la respuesta de los mosquitos, puede ser explicada de la siguiente manera. Generalmente una variedad de factores ambientales y biológicos reales intervienen en las condiciones de la prueba, muchos de estos factores están probablemente en juego bajo condiciones naturales. Éstos incluyen el tipo y formulación del insecticida, especie del mosquito y origen de éstos (laboratorio o de campo), condiciones alimenticias y fisiológicas de los mosquitos en época de la prueba, número de los mosquitos usados en los ensayos (efecto de hacinamiento), época de la prueba y los factores ambientales tales como temperatura e iluminación (Kennedy, 1946; Cullen and De Zulueta 1962; Brown, 1964; Busvine, 1964; Kaschef, 1969; Bondareva *et al.*, 1986; Drobozina *et al.*, 1984; Chareonviriyaphap *et al.*, 1997). Por lo que una comprensión más clara de las condiciones de las pruebas que pueden afectar el comportamiento de irritación, repelencia y toxicidad, es necesaria tenerlas presente.

Chareonviriyaphap *et al.*, 2004, en trabajos de éxito repelencia llevados a cabo con la finalidad de medir las respuestas de comportamiento de las colonias de laboratorio de *An. minimus* y *An. dirus* expuestas a papeletas impregnadas con DDT 2 g/m^2 y 20 mg/m^2 de deltamethrina, demostraron que las hembras de *An. minimus* y *An. dirus*, tienen una respuesta dramática de escape al DDT y deltamethrina comparado con los mosquitos expuestos a los compartimientos de control. Una respuesta más rápida en tiempo de escape para ambos insecticidas fue observada con la comparación de *An. minimus* y *An. dirus*. Los resultados revelaron que la mayoría de los especímenes escaparon del compartimiento de la prueba sin adquirir una dosis mortal en 24-h de post-

exposición. El DDT y el deltametrina demostraron un grado pequeño de repelencia sin contacto en ambas especies

Es conocido que el DDT genera respuestas fototóxicas en los mosquitos expuestos, que puede influenciar las comparaciones de la prueba (Kennedy, 1946; Rozendaal *et al.*, 1989), por lo que se tuvo el mayor cuidado durante el desarrollo de los ensayos, controlar el ingreso de la luz en el sistema, la temperatura y el % H.R (20 a 24 °C; 50 a 60%H.R.), fueron mantenidas en niveles similares para todos los ensayos evitándose así la confusión de los resultados de la prueba. Varios informes han demostrado que la irritabilidad y repelencia está presionada a una reciente alimentación sanguínea (Roberts *et al.*, 1984). Mosquitos alimentados con sangre han demostrado menos irritabilidad y repelencia que las hembras no alimentadas que pueden dar lugar a respuestas retrasadas de evitación. La actividad reducida de repelencia a volar y escapar en hembras recientemente alimentadas con sangre puede ser consecuencia de una carga física evidente debido a tomar una gran cantidad de comida sanguínea (Roberts *et al.*, 1984). La respuesta reducida de escape en especímenes SF (alimentados) es más difícil de entender pero se puede relacionar a una reducción en la detección sensorial de los pelos receptores de los segmentos tarsales según lo descrito por Soliman y Cutkomp (1963).

Chareonviriyaphap *et al.*, 2004, documento los efectos represivos mensurables producidos por el DDT en los quimiorreceptores antenales del mosquito y en los pelos sensoriales de los segmentos tarsales. Según Sungvornyothin *et al.* (2001) el residuo de azúcar en los segmentos tarsales después de una reciente alimentación puede explicar una cierta pérdida de detección sensorial en los especímenes que fueron evaluados. La alimentación con azúcar se ha utilizado para reducir perceptiblemente la

mortalidad comparada con los mosquitos no alimentados y puede posiblemente ser un resultado del residuo del azúcar que crea una barrera física débil más bien que tolerancia creciente al insecticida.

La respuesta de comportamiento de los mosquitos a los varios productos químicos, en particular al DDT, ha sido reconocida por décadas (Kennedy, 1946; Muirhead-Thomson, 1960; Roberts, 1993). El fenómeno del excito-repelencia, especialmente de irritación, ha generado interés y controversia en términos de la medida, de la interpretación y de la significancia en el control de los vectores y/o de la enfermedad (Muirhead-Thomson, 1960; De Zulueta, 1962; Roberts y Andre, 1994). Algunos especialistas consideran la repelencia como razón del éxito del DDT y otros productos químicos usados como los aerosoles residuales que demostraron esta característica por ser un obstáculo importante para el vector en el control de la malaria (Bang, 1985; Bruce-Chwatt, 1970) Sin embargo, otros han abogado por un reexamen serio de la repelencia a la luz del comportamiento y de los hechos históricos y del poco éxito en el control del vector (Roberts y Andre, 1994). Roberts *et al.* (2000) examinó recientemente el uso del DDT en el control de la malaria y con tal evidencia que obligó a demostrar que el efecto combinado de repelencia y de irritación ejercieran acción dominante en los mosquitos (comparados a la acción real de la mortalidad) en la reducción del contacto humano-vector en interiores de casas rociadas. Los mismos autores han proporcionado un marco matemático para entender cómo las acciones repelente, irritante y tóxica de los productos químicos pudieron funcionar para controlar malaria. Sin embargo, mucho queda por hacer para validar y resolver este problema.

El posible efecto irritante, repelente y tóxico de los insecticidas sobre *Aedins* ha sido sugerido como un importante factor en los programas de control de *Ae. aegypti* (L)

debido a su naturaleza endofílica y antropofílica, que lo hace un blanco ideal para la aplicación de insecticidas domésticos (Surtees, 1967)

8.2. Permetrina

La permetrina, aún en bajas concentraciones, actúa como un agente irritante, repelente y tóxico para los insectos. Es uno de los insecticidas ampliamente utilizados y recomendados en programas de control de vectores, principalmente en redes impregnadas tipo bed net (WHO, 1995).

Este insecticida al igual que el DDT, son los que reportaron mayor **efecto irritante** para las hembras de *Ae. aegypti* (L), se demostró que concentraciones de 2.5 nmol/cm² ($\bar{X} \pm DE: 8 \pm 1.4, p < 0.05$), son suficientes para producir irritación en más de 8 insectos de un total de 10. En **repelencia**, al igual que los otros insecticidas evaluados, todas las concentraciones produjeron efecto repelente (% \bar{X} y DE: 9(7) a 15(9), $p < 0.05$), estadísticamente sin diferencias significativas entre ellas. La **toxicidad**, reportó efectos KD >55% y mortalidad >25% ($F = 49.648, p = 0.000$), resultados altamente significativos para concentraciones >0.025 nmol/cm².

Grieco, *et al.* (2005), al evaluar la permetrina, encontró valores moderadamente irritantes, a partir de la concentración >2.5 nmol/cm² (% $\bar{X} \pm DE: 56 \pm 9, p = 0.0022$), muy próximo a los valores hallados en nuestra investigación para la misma concentración. En repelencia espacial, todas las concentraciones estadísticamente no fueron diferentes en sus efectos (% \bar{X} y DE: 21(4) a 32(9), $p < 0.05$), pues todas ellas desarrollaron repelencia. Moderada toxicidad, reportaron a concentraciones >2.5 nmol/cm², con porcentajes medios de KD >53% y mortalidad >27%, resultados en

ambos casos, concordantes con los generados en nuestra investigación. De lo que puede deducirse que las poblaciones: *Ae. aegypti* (L) de Nuevo León y la procedente de Tailandia, producen respuestas fisiológicas muy similares entre ellas.

Estudios recientes llevados a cabo por Flore *et al.*, (2005), a fin de determinar la presencia de esterasas asociadas con la tolerancia a permetrina en un población de baja California (México), demostraron que en una dosis discriminante de 172 $\mu\text{g}/\text{mL}$, ocurre un 50% de mortalidad. Los análisis bioquímicos de resistencia indican que existe actividad enzimática que incluye α y β -esterasas, glutathion *S*-transferasa, acetil colinesteras y oxidasas de función múltiple, que están relacionados con respuestas de resistencia.

Cuando un artrópodo entra en contacto con la permetrina, ésta se distribuye por su sistema nervioso provocándole parálisis y muerte por fallo respiratorio. La permetrina en alta concentración (65%) posee un efecto repelente que produce al insecto una sensación muy irritante cuando ésta entra en contacto con sus extremidades. De este modo que los insectos se alejan de la zona de alta concentración (repelencia) y posteriormente mueren por la acción insecticida de la permetrina (eliminación). En estudios comparativos con otros insecticidas se ha constatado que la permetrina necesita menores concentraciones que los demás para producir un mismo efecto plaguicida.

Saavedra (2004), evaluó el efecto de distintas concentraciones de permetrina en laboratorio y casas habitación, así como la influencia del tipo de material de los pabellones impregnados en el control de *Ae. aegypti* (L), en el estado de Nuevo León-México, demostró que concentraciones de permetrina de 1.0, 0.5, y 0.25% (i.a.), fueron suficientemente tóxicas para ocasionar el derribe de los mosquitos en tiempos menores de 5 minutos post-exposición, así mismo ocasionaron la mortalidad del 100% de los

mosquitos, durante las ocho semanas post-impregnación de las telas. El tipo de tela recomendable fue de nylon con orificios de un milímetro de diámetro.

Ha sido sugerido que el espectro de respuesta de un insecto a los piretroides depende de la dosis del insecticida. Altas concentraciones de estos químicos repelen insectos evitando el contacto, o sirven como irritantes de contacto. Con dosis decrecientes, los piretroides actúan como insecticidas de contacto, agentes de derribe e inhibidores de alimentación con varios otros efectos atribuidos a menores dosis sub-letales (Lindsay, 1991). Mas aun, estudios han demostrado que el comportamiento de los mosquitos puede ser afectado por el ingrediente inerte del formulado del insecticida, se ha atribuido que la repelencia producida en mosquitos se debe a estos componentes emulsionables, más que al insecticida por si mismo (Lindsay, 1991).

8.3. Bifentrina

Los piretroides son actualmente el único grupo de insecticidas aprobados por la Organización Mundial de la Salud para tratar mosquiteros, en virtud de su alto poder insecticida a dosis muy bajas y su inocuidad para los humanos. Es un insecticida ampliamente usado en la agricultura, moderadamente tóxico, pero no más que otros piretroides, siendo un buen candidato dentro de los programas de control de mosquitos (Hougard *et al.*,2002). En un período de tiempo corto, los productos químicos piretroides han adquirido mayor importancia en el control del vectores por todo el mundo (WHO, 1995), a pesar de la divulgación creciente de la resistencia a esta clase general de compuestos (Malcolm, 1988).

Los resultados hallados para la bifentrina, reportan que este insecticida, requiere de una dosis 20 veces más alta (250 nmol/cm^2) que las que fueron utilizados por el DDT

y la permetrina, para lograr efectos similares de **irritación** ($\bar{X} \pm DE$: 8.5 ± 0.8 ; $p < 0.05$). En **repelencia**, los resultados reflejan que todas las concentraciones evaluadas tienen el mismo efecto repelente ($\% \bar{X}$ y DE: 19(8) a 27(11), $p < 0.05$), no siendo diferentes estadísticamente. Las pruebas de **toxicidad**, demuestran que concentraciones >0.025 nmol/cm², son suficientes para obtener resultados altamente significativos de derribe, con un KD $>34\%$, mortalidad $>40\%$ ($F = 35.730$, $p = 0.000$), resultados que son altamente significativos. Los datos hallados quedan expuestas como tal, no pudiendo realizar análisis comparativos con pruebas similares, en vista que el diseño modular propuesto por Grieco *et al* (2005) y que fue utilizado en la presente investigación, es de reciente uso en la dosificación de los insecticidas

Ponce (2003), en estudios de susceptibilidad y mecanismos de resistencia en poblaciones de *Ae.aegypti* (L) a insecticidas de mayor uso y alternativos en el estado de Nuevo León-México, determinó en pruebas de susceptibilidad realizadas para piretroides, que las poblaciones son menos susceptibles a la bifentrina y más susceptibles a la deltametrina, lambdacialotrina y permetrina. Bifentrina a una concentración de 0.1%, fue el que presentó TL_{50} y fue el insecticida con el mayor número de poblaciones tolerantes comparadas con la cepa New Orleans. Por último determinaron mediante la técnica de PCR que las poblaciones de Monterrey, Guadalupe y Escobedo no presentan el gen Kdr, el cual confiere resistencia a insecticidas DDT y piretroides; por tanto concluyeron que los vectores del dengue en el área metropolitana de Monterrey presentan resistencia baja a los insecticidas de uso histórico, común y alternativo en el noreste de México.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. El DDT y la permetrina, son los insecticidas que significativamente tienen mayor efecto irritante para las hembras de *Ae. aegypti* (L), a una concentración de 2.5 nmol/cm² ($\bar{X} \pm DE$: 4.3 \pm 2.4 para el DDT y 8.0 \pm 1.4 para la permetrina; $p < 0.05$), por lo que el número promedio de hembras irritadas, son de 4.3 a 8, respectivamente, de un total de 10 hembras sometidas a prueba. En tanto que, la bifentrina requiere de una dosis 20 veces más alta (250 nmol/cm²) para lograr efectos similares a los obtenidos por los otros insecticidas ($\bar{X} \pm DE$: 8.5 \pm 0.8; $p < 0.05$).

2. Los insecticidas DDT, bifentrina y permetrina, producen respuestas repelentes en *Ae. aegypti* (L) en forma similar en todas las concentraciones probadas, con un promedio de 7 a 27% del total de 15 hembras evaluadas (% \bar{X} y DE para DDT: 7(7) a 14(8); permetrina: 9(7) a 15(9) y bifentrina 19(8) a 27(11). Estadísticamente no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) para el porcentaje de la media de respuesta y la media del SAI, en las concentraciones evaluadas.

3. En permetrina y bifentrina, concentraciones >0.025 nmol/cm², son suficientes para obtener efectos KD superiores a 34%, con una mortalidad $>19\%$ (permetrina: KD $>51\%$, mortalidad $>19\%$, $F = 49.648$, $p = 0.000$; bifentrina: KD $>34\%$, mortalidad $>40\%$, $F = 35.730$, $p = 0.000$). En tanto que, el DDT, requiere concentraciones en promedio 10 veces mayor, para lograr efectos KD y mortalidad, similar a los hallados en los otros

insecticidas (para dosis $> 25 \text{ nmol/cm}^2$: KD $>51\%$, mortalidad $>19\%$, $F = 74.438$, $p = 0.000$). Resultados que son altamente significativos para los efectos estudiados.

4. En el efecto KD, existen marcada diferencia significativa entre los insecticidas ($F = 189.298$, $p = 0.000$) y las dosis probadas ($F = 139.428$, $p = 0.000$), por lo que cada producto evaluado, estaría ejerciendo efecto diferente, directamente proporcional a las concentraciones ($F = 5.101$, $p = 0.000$). En la mortalidad (MORT), diferencias significativamente altas existen entre los efectos causados por el DDT(a) y la permetrina(b), sin embargo dichas diferencias no existen cuando se comparan los otros dos insecticidas (bifentrina(b), permetrina(b), $F = 216.409$, $p = 0.000$). En las dosis, las concentraciones 0.025 (a), 2.5 (b) y 25 nmol/cm^2 (c), son diferentes en el efecto de mortalidad, con alta significancia estadística ($F = 77.812$, $p = 0.000$). La interacción entre los insecticidas y las concentraciones, demuestra que los productos evaluados y las dosis guardan estrecha relación en cuanto a los efectos alcanzados, no siendo diferentes estadísticamente ($F = 2.924$, $p = 0.011$).

5. Se hace necesario llevar a cabo investigaciones en otros insecticidas de uso frecuente en salud pública, a fin de determinar las dosis necesarias y adecuadas para el control de vectores. Profundizar las investigaciones, tendientes a determinar la existencia de factores de resistencia en aquellas poblaciones que resulten tolerantes a los insecticidas, es urgente e importante, para la toma de decisiones dentro de los programas de manejo integrado de vectores. La comprensión de los factores biológicos, fisiológicos y etológicos, que condicionan determinadas respuestas en los mosquitos frente a los insecticidas, ayudaría a complementar la información dentro de la ecología vectorial.

10. LITERATURA CITADA

Bang, Y.H. 1985. Implication in the control of malaria vectors with insecticides in tropical countries of Southeast Asia. Part 1. Insecticide resistance. J. Com. Dis. 17: 199-218.

Bisset J.A.; M.M. Rodríguez and L. Cáceres. 2003. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. Revista Cubana de Medicina Tropical. 55(3):191-195.

Bisset J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: Control de la resistencia. Revista Cubana Medicina Tropical 54 (3): 202-219.

Bisset, J.A., L. Diéguez, M.M. Rodríguez, C. Díaz, T. González and R. Vásquez. 1996. Tres combinaciones de esterasas y su relación con la resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera : Culicidae) de Cuba. Revista Cubana Medicina Tropical 48(1): 150-155.

Bondareva N.L., M.M. Artem'ev and G.V. Gracheva. 1986. Susceptibility and irritability caused by insecticides to malaria mosquitoes in the USSR. J. Parasitology. (6): 52-55.

Brengues C., N. Hawkes, F. Chandre, L. Mccarroll, S.Duchon, P. Guillet, S. Manguin, J. Morgan and J. Hemingway. 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. Medical and Veterinary Entomology 17 (1): 87-94.

Brown A.W.A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. Journal American Mosquito Control Association 2: 123-140.

Brown, A.W.A. 1964. Experimental observations governing the choice of test method for determining the DDT-irritability of adult mosquitoes. Bull. Wld. Hlth. Org. 30: 97-111

Bruce-Chwatt, L.J. 1970. Global review of malaria control and eradication by attack on the vector. In: *Conference on Anopheline Biology and Malaria Eradication*. Misc. Pubs. Entomol. Soc. Am. 7: 7-27)

Busvine, J.R. 1964. The significance of DDT-irritability tests on mosquitoes. Bull. Wld. Hlth. Org. 31: 645-656.

Campos J. and C. Andrade. 2001. Suscetibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. Revista de Saúde Pública 35(3): 232-236.

Carpenter, S.J and W.J. La Casse. 1974. Mosquitoes of North America (North of Mexico). University of California Press, Berkley. USA. 360 pp.

Chareonviriyaphap T., A. Prabaripai and M.J. Bangs. 2004. Excito-repellency of deltamethrin on the malaria vectors, *Anopheles minimus*, *Anopheles dirus*, *Anopheles swandiwongporni*, and *Anopheles maculates*, in Thailand. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. 2004, 20(1): 45-54.

Chareonviriyaphap T., A. Prabaripai and S. Sungvornyothin. 2002. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral test. J. vector Ecol. (27): 250-252.

Chareonviriyaphap T., S. Sungvornyothin, S. Ratanatham, and A. Prabaripai. 2001. Pesticide induced behavioral responses of *Anopheles minimus*, a malaria vector in Thailand. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. (17): 13-22.

Chareonviriyaphap, T. and B. Aum-Aong. 2000. An improved excito-repellency escape chamber for behavioral test in mosquitoes. Mekong Malaria Forum (5): 82-85.

Chávez J., J. Vargas y F. Vargas. 2005. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. © Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Rev. Perú. Biol. 12(1): 161-164 (2005)

Chareonviriyaphap, T., D.R. Roberts, R.G. Andre, H.J. Harlan, S. Manguin and M.J. Bangs. 1997. Pesticida avoidance behavior in *Anopheles albimanus*, a malaria vector of Central and Sout America. J. Am. Mosq. Control Assoc. 13: 171-183.

Clark G. 1992. Dengue and dengue hemorrhagia fever. Journal of the Florida Mosquito Control Association, 63(1):15-19.

Coluzzi, M. 1962. An experimental method for determining the irritability of adult mosquitoes to insecticides. WHO/Insecticides/130.

Cullen, J.R. and J. de Zulueta. 1962. Observations on the irritability of mosquitoes to DDT in Uganda. Bull. Wld. Hlth. Org. 27:239-250.

Da Graca, M.L., M.T. Macorís, L. Takaku, V. Camargo, V.C. Busato. 2000. Evaluation of a natural fertilizer infusión as an attractant for *Aedes aegypti* oviposition. J. Am. Mosq. Control Assoc. 16, 297.

Davidson, G. 1953. Experiments on the effect of residual insecticides in houses against *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*. Bull. Entomol. (44) 231-254.

De Zulueta, J. 1962. The irritability of mosquitos to DDT and its importance in malaria eradication. Riv. Malariol. 41:169-178.

Drobozina, V.P., M.M. Artemev, G.V. Kashaeva and R.L. Kuznetsov. 1984. Susceptibility to insecticides (DDT and malathion) and irritability on contact with them of malaria mosquitos of natural populations in the Dagestan USSR. Medit. Parazit. Parazit. Biol. 6: 44-46.

Elizondo, A.E. 2002. *Taxonomía y distribución de los mosquitos (Diptera: Culicidae) de las regiones fisiográficas Llanura Costera del Golfo y Sierra Madre Oriental, del Estado de Nuevo León, México*. Tesis inédita de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 115 pp.

Evans, R.G. 1993. Laboratory evaluation of the irritancy of bendiocard, lambda-cyhalotrin and DDT to *Anopheles gambiae*. J. Am. Mosq. Control Assoc. (9): 285-293.

Fay, R.W. and D.A. Eliason, 1966. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. Mosq News (26): 531-5.

Ferrer A. 2004. Intoxicación por plaguicidas. *Pesticide poisoning*. Unidad de Toxicología Clínica. Hospital Clínico Universitario. Zaragoza, España. Disponible en el sitio de red:

<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol26/sup1/suple9a.html>

Flores A.E., J. Salomón, I. Fernández, G. Ponce, H. Loaiza, S. Lozano, W.G. Brogdon, W.C. Black IV and B. Beaty. 2005. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Quintana Roo, Southern Mexico. J. Am. Mosq. Control. Assoc. (En prensa).

Flores A.E, W.A. Albendaño-Vásquez, I. Fernandez-Salas, M.H. Badii, H. Loayza-Becerra, G. Ponce-García, S. Lozano-Fuentes, W.G. Brogdon, W.C. Black IV and B. Beaty. 2005. Elevated α -esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L) from Baja California, México. Pesticide Biochemistry and Physiology: 82:66-78.

Flores A.E., M.H. Badii y G. Ponce. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. Laboratorio de Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. En Revista Salud Pública y Nutrición, 2(4): octubre-diciembre. Disponible en el sitio de red:

<http://www.uanl.mx/publicaciones/respyn/ii/4/ensayos/pesticidas.html>

Flores A., S. Moreno, R. Rodríguez y H. De la Rosa. 1991. Manifestaciones del impacto ambiental, Modalidad general. Informe no publicado de la empresa de Refrigeración y Equipos Eléctricos e Industriales, S.A. Monterrey, N. L. México.

- Fox I, 1961. Resistance of *Aedes aegypti* to certain chlorinated hydrocarbon and organophosphorus insecticides in Puerto Rico. Bull World Health Organ 24: 489-494
- Fox. I. 1973. Malathion resistance in *Aedes aegypti* (L) from pressure on adults. Mosquito News, 33(2): 161-164.
- Georghiou G.P. and C.E. Taylor. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. Journal Economic Entomology. 70: 319-323.
- Gibly R.L and J.B Sullivan. 2001. Pyrethrins. En: Sullivan JB, Krieger GR, editors. Clinical environmental health and toxic exposures. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins: 867-879.
- Gratz, N.G. 1991. Emergency and control of *Aedes aegypti* as disease vector in urban areas. J. Am. Mosq. Control Assoc. (3):353-365.
- Grieco J.F., N.I. Achee, M.R. Sardelis, K.R. Chauhan and D.R. Roberts. 2005. A novel high-throughput screening system to evaluate the behavioral response of adult mosquitoes to chemicals. J. Am. Mosq. Control. Assoc. (En prensa).
- Harwood, R.F. and M.T. James. 1993. Entomología médica y veterinaria. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Grupo Noriega editores. México D.F. 615 pp.
- Hougard, J.M., S. Duchon, M. Zaim and P. Guillet. 2002. Bifentrin: Useful pyrethroid insecticide for treatment of mosquito nets. J. Med. Entomol. 39(3):526-533.
- Ibáñez S. y H. Gómez. 1995. Los vectores de dengue en México: Una revisión crítica. Salud Pública de Mex. 37(supl): 53-63.
- Kaschef, A.H. 1969. Effects of temperature on the irritability of anopheline mosquitoes due to DDT and DDT-analogues. WHO/VBC/87, 944.
- Kennedy, J.S. 1946. The excitant and repellent effects on mosquitos of sublethal contacts with DDT. Bull. Entomol. Res. 37: 593-607
- Klowden, M.J. 1996. Vector Behavior. In: *The Biology of Disease Vectors*. B.J. Beaty and W.C. Marquardt (Eds.). University Press, Colorado. pp. 34-50.
- Kramer W.L., Mulla M.S. 1979. Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition response of *Culex* mosquitoes to organic infusions. Environ. Entomol. (8):1111-1117.
- Lagunes A. y J.A. Villanueva. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados. México. 264 pp.
- Lauwerys R. 1990. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 3^a ed. Paris: Masson, 563 pp.

- Lines J., J. Myamba and C.F. Curtis. 1987. Experimental hut trials of permethrin-impregnated mosquito nets and eave curtains against malaria vectors in Tanzania. *Med. Vet. Entomol.* 1: 37-51.
- Lindsay S.W., J.H. Adiamah, J.E. Miller and J.R. Armstrong. 1991. Pyrethroid-treated bednet effects on mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia. *Medical and Veter. Entomol.* (5): 477-483.
- Lofgren, C.S. 1970. Ultralow volume applications of concentrate insecticides in medical and veterinary entomology. *Ann. Rev. Entomol.* (15): 321-342.
- Malcolm, C.A. 1988. Current status of insecticide resistance in anophelines. *Parasitol. Today.* 4:S13-S15.
- Mattingly, P.F. 1962. Mosquito behaviour in relation to disease eradication programmes. *Annu. Rev. Entomol.* 7: 419-436.
- Mouchet J, 1967. La résistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* et les especes voisines. *Bull World Health Organ* 36: 569–577.
- Muirhead-Thomson, R.C. 1960. The significance of irritability, behaviouristic avoidance and allied phenomena in malaria eradication. *Bull. Wld. Hlth. Organ.* 22:721-734.
- Nahasashi T., J.M. Frey, K.S. Ginsburg, M.L. Roy. 1992. Sodium and GABA activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. *Toxicol Lett*, 64 (65):429-436.
- Najera J.A. y M. Zaim. 2002. Lucha antivectorial para el control del paludismo: Criterios para guiar la toma de decisiones y procedimientos para el uso sensato de insecticidas. WHO/CDS/WHOPES/2002.5 Rev.1.
- Ordóñez, J.G., R. Mercado, A.E. Flores, I. Fernández. 2001. Use of the sticky ovitraps to estimate dispersal of *Aedes aegypti* in northeastern Mexico. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* (17) 93-97.
- Pell, J.K., M.A. Spinney and K.J. Ward. 1989. Observations on the behavior of adult *Anopheles gambiae* encountering residual deposits of Lambda-cyhalothrin compared with the other major classes. *Conf. Soc. Vector Ecol. Eur. Region.* 18 pp.
- Ponce G. 2003. *Estado de la susceptibilidad y mecanismos de resistencia en Aedes aegypti (L) a insecticidas de mayor uso y alternativos en el estado de Nuevo León.* Tesis Doctoral Dr. Sc. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 83 pp.
- Ree, H.I. and K.P. Loong. 1989. Irritability of *Anopheles farauti*, *Anopheles maculatus* and *Culex quinquefasciatus* to permethrin. *J. Sanit. Zool.* (40): 47-51.

Reiter P., M.A. Amador and N. Colon. 1991. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Ae.aegypti* populations. J. Am Mosq Control Assoc (7):52-55.

Roberts D.R., T. Chareonviriyaphap, H.H. Harlan and P. Hshieh. 1997. Methods of testing and analyzing excito-repellency responses of malaria vectors to insecticides. J. Am. Mosq. Control Assoc. 13(1): 13-17.

Roberts D.R. and R.G. Andre. 1994. Insecticida resistance issues in vectors-borne disease control. Am. J. Trop. Med. Hyg. 50(6) (Suppl.): 21-34.

Roberts, D.R., W.D. Alecrim, P. Hshieh, J.P. Grieco, M. Bangs, R.G. Andre and T. Chareonviriyaphap. 2000. A probability model of vector behavior: Effects of DDT repellency, irritancy, and toxicity in malaria control. J. Vect. Ecol. 25: 48-61.

Roberts D.R. and R.G. Andre. 1994. Insecticide resistance issues in vectors. Am. J. Trop. Med. Hyg. 50 (Suppl.): 21-34.

Roberts, D.R. 1993. Insecticide repellency in malaria vector control: a position paper. VBC Report. No.81131. USAID, Arlington, VA. 72 pp.

Roberts, D.R., W.D. Alecrim, A.M. Tavares and K.M. McNeill. 1984. Influence of physiological condition on the behavioral response of *Anopheles darlingi* to DDT. Mosq. News 4: 357-361.

Rodríguez M.M., J.A. Bisset, C. Díaz y L.A. Soca. 2003. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malathion. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Rev. Cubana Med. Trop. 2003;55(2):105-11.

Rozendaal, J.A., J.P.M. Van Hoof, J. Voorham and B.F.J. Oostburg. 1989. Behavioral responses of *Anopheles darlingi* in Suriname to DDT residues on housewalls. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. 5: 339-350.

Rubio-Palis, Y. 2003. Bioseguridad de mosquiteros tratados con insecticidas piretroides para la prevención y control de la malaria en Venezuela. Boletín de Malariología y Salud Ambiental. Vol. XLIII (1): enero-julio.

Rutledge L.C., N.M. Echana and R.K. Gupta. 1999. Responses of male and female mosquitoes to repellents in the World Health Organization insecticide irritability test system. J. Am. Mosq. Contr. Assoc. (15): 60-64.

Saavedra, K. 2004. *Evaluacion del efecto de pabellones impregnados con permanet ®(Permetrina 55% C.E.), sobre el mosquito Aedes aegypti L. (Diptera: Culicidae)*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León-México. 76 pp.

Shalaby, A.M. 1966. Observations on some responses of *Anopheles culicifacies* to DDT in experimental huts in Gujarat state, India. *Ann. Entomol. Soc. Am.* (59): 938-944.

Sames IV W.J., J.R. JackHayes and J.K. Olson. 1996. Insecticida susceptibility of *Aedes aegypti* (L) and *Aedes albopictus* (Say) in the coger Rio Grande Valley of Texas and Mexico. *J Ame. Mosq. Control Assoc.* 12(3): 487-490.

Sampath, T.R., R.S. Yadav, V.P. Sharma and T. Adak. 1998. Evolution of lambdacyhalothrin-impregnated bednets in malaria endemic area of India. Part 2. Impact on malaria vectors.

Sánchez J.L. 2000. Resistencia a insecticidas. Estructplan: Salud, seguridad y medio ambiente en la industria. Disponible en el sitio de red:
<http://www.estrucplan.com.ar/articulos/verarticulo.asp?IDArticulo=160>.

Soliman, S.A. and L.K. Cutkomp 1963. A comparison of chemoreceptor and whole-fly responses to DDT and parathion. *J. Econ. Entomol.* 56: 492-494.

Sungvornyothin S., T. Chareonviriyaphap, A. Prabaripai, V. Thirakhupt, S. Ratanatham and M.J. Bangs. 2001. Effects of nutritional and physiological status on behavioral avoidance of *Anopheles minimus* (Diptera: Culicidae) to DDT, deltamethrin and lambdacyhalothrin. *Journal of Vector Ecology* 26 (2): 202-215.

Surtees G. 1967. The distribution, density and seasonal prevalence of *Aedes aegypti* in West Africa. *Bull. WHO* (36): 539-540.

Spark, T.C., J.A. Lockwood, R.L. Byford, J.B. Graves and B.R. Leonard. 1989. The role of behavior in insecticide resistance. *Pesticide Sci.* 26: 383-399.

Vargas M. 2002. Uso de ovitrampas en los programas de prevención y control del dengue. *Rev. Col. de MQC de Costa Rica* (2002), 8(5):122-124.

Ware G.W. and D.M. Whitacre. 2004. Introducción a los insecticidas. Extraído de *The Pesticide Book*, 6th ed. Publicado por Meister Pro Information Resources División de Meister Media Worldwide Willoughby, Ohio. EE.UU. Disponible en el sitio de Red:
<http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/W&WinsectSP.htm>

Ware G.W. 2000. *The pesticide book*. 5ta. Edition. Thomson publications. University of Arizona. United States of America. 418 pp.

World Health Organization. 1995. *Vector control for malaria and other mosquito-borne diseases*. Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. Ser. No. 857. 91 pp.

World Health Organization. 1992. *Vector Resistance to Pesticides*. Fifteenth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. Geneva: World Health Organization.

World Health Organization. 1975. *Manual on practical entomology in malaria*. WHO offset Publication, No. 13, Part I-II. Geneva. 191 pp.

Yan, X.W.N., H. Fuming and C. Dazong. 1992. Susceptibility of *Aedes albopictus* (Say) from china to insecticidas and mechanism of DDT resistance. *J. Ame. Mosq. Control Assoc.* 8(4): 394-397.

Zaim M., A. Aitio and N. Nakashima (2000). Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med. Vet. Entomol.* 14:1-5.

11. APÉNDICE

TABLA V

Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de irritación por contacto

Día de prueba: (mm/dd/aa)

Prueba por:

Nombre del insecticida:

Conc. (nm/cm ²)	REP	Control		Tratamiento		CCNT	CM KD		TCNT	TM KD		TEMP C	HUM %
		CNT	CBR	CNT	CBR		Metal	Claro		Metal	Claro		
	1		C1		T1								
	2		C1		T1								
	3		C1		T1								
	4		C1		T1								
	5		C1		T1								
	6		C1		T1								
	1		C2		T2								
	2		C2		T2								
	3		C2		T2								
	4		C2		T2								
	5		C2		T2								
	6		C2		T2								
	1		C3		T3								
	2		C3		T3								
	3		C3		T3								
	4		C3		T3								
	5		C3		T3								
	6		C3		T3								
	1		C4		T4								
	2		C4		T4								
	3		C4		T4								
	4		C4		T4								
	5		C4		T4								
	6		C4		T4								
	1		C5		T5								
	2		C5		T5								
	3		C5		T5								
	4		C5		T5								
	5		C5		T5								
	6		C5		T5								

TABLA VI

Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de repelencia espacial

Día de Prueba: (mm/dd/aa) Hecho por: Nombre del insecticida:

Conc. (nm/cm2)	Prueba (cont # / treat#)	REP	N	CCNT	TCNT	KD CLARO	KD CONT	KD TRAT	TEMP C	HUM %	TIEMPO	GEN/ EDAD	KD ANTES
	C1:T1	1											
	C1:T1	2											
	C1:T1	3											
	C1:T1	4											
	C1:T1	5											
	C1:T1	6											
	C1:T1	7											
	C1:T1	8											
	C1:T1	9											
	C2:T2	1											
	C2:T2	2											
	C2:T2	3											
	C2:T2	4											
	C2:T2	5											
	C2:T2	6											
	C2:T2	7											
	C2:T2	8											
	C2:T2	9											
	C3:T3	1											
	C3:T3	2											
	C3:T3	3											
	C3:T3	4											
	C3:T3	5											
	C3:T3	6											
	C3:T3	7											
	C3:T3	8											
	C3:T3	9											
	C4:T4	1											
	C4:T4	2											
	C4:T4	3											
	C4:T4	4											
	C4:T4	5											
	C4:T4	6											
	C4:T4	7											
	C4:T4	8											
	C4:T4	9											

TABLA VII

Formato de hoja para la captura de datos en las pruebas de toxicidad

Día de prueba: (mm/dd/aa) Hecho por: Nombre del insecticida:

TRT (nmol/cm2)	REP	CONTROL		Tratamiento		C1 HR KD	T1 HR KD	1 HR TEMP	1 HR HUM	TIEMPO INICIO	C24 HR MORT	T24 HR MORT	24 HR TEMP
		CNT	CBR	CNT	CBR								
0.025 nm	1		C1		T1								
	2		C1		T1								
	3		C1		T1								
	4		C1		T1								
	5		C1		T1								
	6		C1		T1								
2.5 nm	1		C2		T2								
	2		C2		T2								
	3		C2		T2								
	4		C2		T2								
	5		C2		T2								
	6		C2		T2								
25 nm	1		C3		T3								
	2		C3		T3								
	3		C3		T3								
	4		C3		T3								
	5		C3		T3								
	6		C3		T3								
250 nm	1		C4		T4								
	2		C4		T4								
	3		C4		T4								
	4		C4		T4								
	5		C4		T4								
	6		C4		T4								
	1		C5		T5								
	2		C5		T5								
	3		C5		T5								
	4		C5		T5								
	5		C5		T5								
	6		C5		T5								

RESUMEN CURRICULAR

Yuri Olivier Ayala Sulca

Candidato para el Grado de
Maestro en Ciencias con Especialidad en Entomología Médica

Tesis: RESPUESTA CONDUCTUAL DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) FRENTE A ADULTICIDAS PIRETROIDES DE USO FRECUENTE EN SALUD PÚBLICA

Campo de Estudio: Entomología Médica – Control de Vectores

Datos Personales: Nacido en PERÚ, en el departamento de Ayacucho, provincia de Huanta, el 27 de septiembre de 1966. Hijo de Alonso Ayala Aponte (†) y Julia Sulca Pimentel.

Educación: Egresado de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, grado obtenido Biólogo con especialidad en Microbiología.

Experiencia Profesional: Maestro a Dedicación Exclusiva en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Ayacucho – PERÚ), desde 1995, docente investigador adscrito al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, desde 1998.